ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. Т.Г. Шевченко
Естественно-географический факультет
Кафедра химии и методики преподавания химии

ДИНАМИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Методическое пособие

Тирасполь, 2014

УДК 577.1 (072.8)

ББК Е072р30

Д 46

Составители:
Т.Е. Панасюк, кандидат технических наук, доцент кафедры химии и МПХ.
В.В. Люленова, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии и МПХ.
О.И.Новикова, специалист кафедры химии и МПХ.

Рецензенты:
Т.В. Щука, кандидат химических наук, доцент.
В.А. Шептицкий, доктор биологических наук, профессор.

Д 46 **Динамическая биохимия**. Методическое пособие / Сост.: Т.Е. Панасюк, В.В. Люленова, О.И.Новикова. – Тирасполь, 2014. – 88 с. (в обл.)

Методическое пособие составлено в соответствие с программой по биохимии для студентов специальности «Лечебное дело» и охватывает все семинарские и лабораторные занятия по данному курсу.

Каждый раздел пособия начинается теоретической частью, необходимой для полного понимания темы, дано клинико-диагнастическое значение предлагаемого биохимического исследования показателей организма человека, описана методика и ход проведения лабораторных опытов, контрольные вопросы и ситуационные задачи, рекомендуемая литература.

Предназначено для выполнения лабораторно-практических занятий по биологической химии студентами медицинского факультета.

Рекомендовано Научно-методическим советом ПГУ им. Т.Г. Шевченко

© Панасюк Т.Е., Люленова В.В., Новикова О.И., составление 2014

ВВЕДЕНИЕ

Главными задачами динамической биохимии является изучение хода и механизмов реакций обмена веществ, в частности преобразований в живых организмах таких биомолекул как углеводы, липиды, белки, нуклеиновые кислоты.

Биоэнергетика – раздел динамической биохимии, изучающий закономерности высвобождения, аккумуляции и потребления энергии в биологических системах. В главе обмен углеводов выяснено превращение углеводов в пищеварительном тракте под влиянием пищеварительных ферментов, а также показаны структуры важнейших углеводов и механизмы анаэробного и аэробного обмена глюкозы. Уделяется внимание нарушениям углеводного обмена (диабет, галактоземия, гликогенозы и др.), которые связанны с наследственными дефектами ферментативных систем.

В главе обмен липидов рассмотрены современные представления о путях окисления и синтеза жирных кислот, образование и использование кетоновых тел и вопросы регуляции биосинтеза и распада жиров. Указывается на диагностическое значение плазменных липопротеинов низкой и высокой плотности.

В главе обмен нуклеотидов представлены данные по процессам переваривания, всасывания и внутриклеточного обмена нуклеопротеинов. Исследуются конечные продукты пуринового обмена и нарушения при подагре.

Рассмотрен биосинтез пиримидиновых нуклеотидов и его нарушения, приведены примеры ингибиторов, противоопухолевых и противовирусных препаратов.

Контроль и закрепление теоретических знаний о механизме биосинтеза нуклеиновых кислот, а также их роли в биосинтезе белков и причинах наследственных болезней рассматриваются в главе матричные биосинтезы

Обмен белков включает динамическое состояние белков в организме, переваривание белков, обмен отдельных аминокислот, обезвреживание аммиака.

Пособие содержит вопросы о классификации, строении, свойствах, механизмах действия гормонов и их применение в клинической практике.

В каждой теме в ходе лабораторных работ изучается методика количественного и качественного определения целого ряда биохимических показателей биологических жидкостей. Пособие содержит контрольные вопросы, задания к итоговым работам по темам и контурные карты метаболических процессов.

Знание динамической биохимии необходимо будущим медикам для выявления нарушений метаболических процессов и правильной диагностики заболеваний.

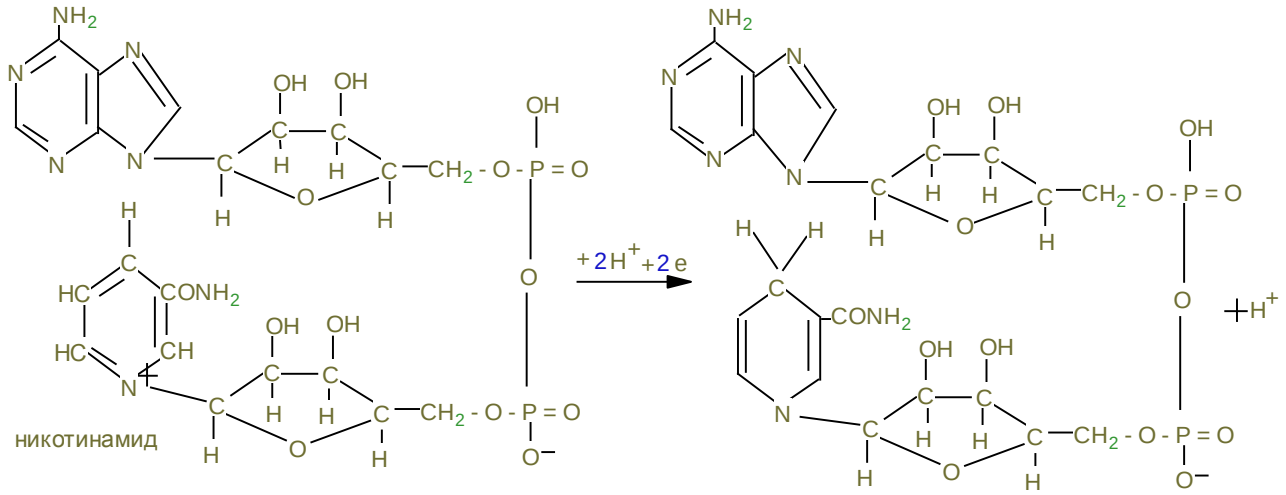
Общее понятие об обмене веществ.
Биологическое окисление

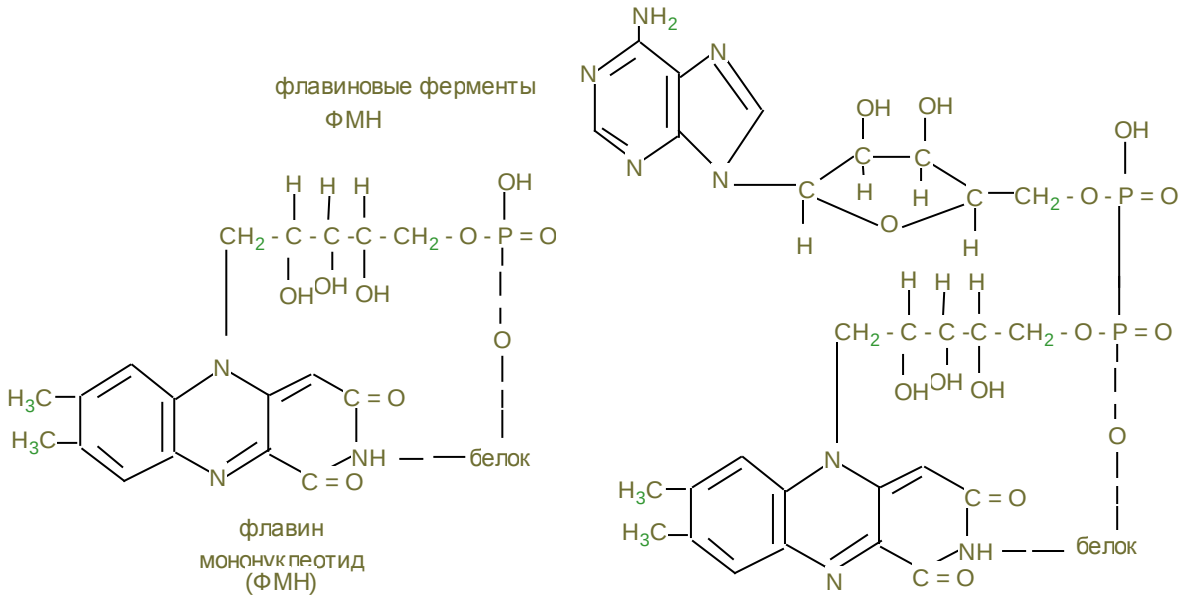
I. <u>Цель изучения:</u> Знать функции метаболизма в организме человека, иметь понятие об особенностях энергетического обмена в организме человека.

Знать сущность окислительного фосфорилирования АДФ и биосинтеза АТФ, изучить токсичность кислорода и антиоксидантные системы.

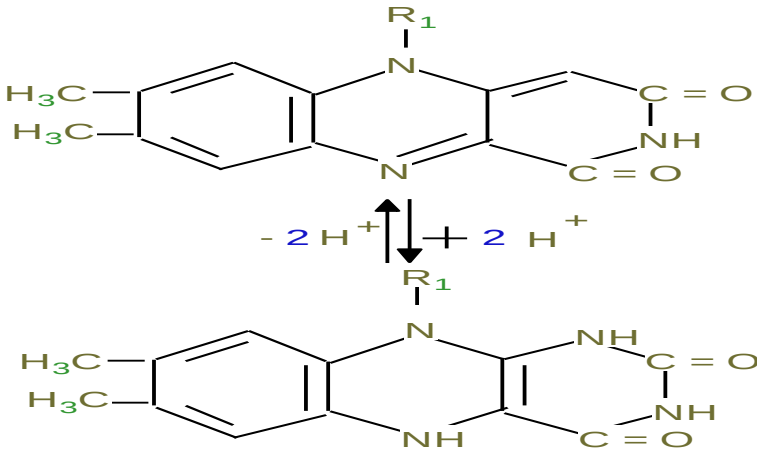
II. <u>Уметь</u> определить каталазное число крови и его клинико-диагностическое значение.

III. <u>Ответить</u> на контрольные вопросы к теме и заполнить контурные карты по структуре НАД-а и флавиновым ферментам (ФМН и ФАД).





Присоединение водорода
происходит в изоаллоксазиновом кольце



IV. Содержание темы

1. Живые организмы находятся в неразрывной связи с окружающей средой, которая осуществляется в процессе обмена веществ и энергии (метаболизм). Функции метаболизма: снабжение организма энергией при расщеплении пищевых веществ – белков, жиров и углеводов в катаболических реакциях; использование энергии для синтеза молекул со специфическими функциями; образование и сборку строительных белков для формирования клеточных компонентов и обновления тканей (анаболические реакции).

2. Основная энергия в процессе метаболических реакций выделяется в реакциях окисления белков (1г – 17 кДж), углеводов (1г – 17 кДж) и жиров (1 г - 39 кДж) в норме употребляемым человеком в соответствии 1:4:1. Среднесуточное употребление этих веществ достаточно в количестве 80 г: 400г: 100г.

3. Замечательной особенностью живого организма является постепенное освобождение энергии химических связей пищевых веществ и накопление её в макроэргических связях (~), высокоэнергетических связях целого ряда метаболитов, например 1,3-дифосфоглицерата, фосфоенолпирувата, креатинфосфата.
Центральное место в ряду макроэргических соединений занимает молекула аденозинтрифосфата (АТФ), которая содержит две макроэргические связи и при гидролизе её на АДФ+H_3PO_4 уровень свободной энергии падает с выделением 30,51 кДж, а при гидролизе АТФ $\rightarrow$ АМФ + H_4PO_7 выделяется 37,4 кДж. Эта энергия используется нашим организмом для произведения механических работ, осмоса, передачи нервных импульсов, активации химических реакций. Частично энергия распада АТФ рассеивается в виде тепла.

4. Основной путь биосинтеза АТФ – окислительное фосфорилирование идет в митохондриях, где в матриксе происходит окисление промежуточных метаболитов – пирувата, глутамата, гидроксипроизводных жирных кислот в результате действия НАД – зависимых дегидрогеназ, где катаболитическим центром является витамин РР, способный присоединить гидрид-ион и восстанавливать кофермент до НАДН + H^+.

5. Во внутренней мембране митохондрий содержатся сложные белковые комплексы, содержащие ряд веществ, расположенных векторно с определенными редокс-потенциалами по мере их возрастания, переносящие электроны от субстрата вплоть до кислорода с общим изменением редокс-потенциала из I комплекса от – 0,32 в до + 0,82 в к кислороду. Эти комплексы переносят протоны (H^+) в межмембранное пространство, создавая в нем электрохимический потенциал ионов водорода $\Delta\mu H^+$.

6. I комплекс – НАДН-дегидрогеназа содержит в качестве кофермента флавинмононуклеотид (ФМН), содержащий рибофлавин (витамин B_2), способный присоединить 2Н ковалентной связью от НАДН + H^+ и при помощи специальных железосерных белков (F_2S_2, Fe_4S_4) переносить H^+ в межмембранное пространство, а электроны (2ē - на низкомолекулярное липофильное вещество убихинон (Q), способное восстанавливаться до Q · H_2, черпая H^+ из матрикса или из II комплекса.

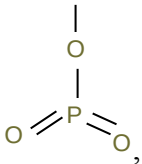
7. Комплекс II – сукцинатдегидрогеназа расположена на границе с матриксом дегидрирует субстраты с помощью кофермента флавинадениндинуклеотида (ФАД), который отщепляет 2Н от янтарной кислоты (сукцината), радикалов жирных кислот, глицерина и переносят $2H^+$ и 2ē тоже на убихинон с образованием Q ·H_2.

8. Q ·H_2, способное к латеральной диффузии, перемещается к комплексу III. В составе комплекса III - Q ·H_2 – дегидрогеназы передает H^+ (протоны) в межмембранное пространство митохондрий, а 2 ē принимают цитохромы ($в_1$, $в_2$, с), которые являются трансэлектроназами, благодаря гемовому железу, способному менять степень окисления с Fe^{3+} + ē → Fe^{2+}.

9. IV комплекс-цитохромоксидаза содержит кроме цитохромов a_1 a_3, отличающихся своей белковой структурой и радикалами гемов еще и атомы меди, способные иметь разную степень окисления и тоже способные переносить электроны уже на O + 2ē → O^{--} в матрикс: Cu^{2+} + ē → Cu^+. Благодаря меди и помощи еще одной петли Q, IV комплекс обладает способностью также переносить протоны в межмембранное пространство и с другой стороны способствовать присоединению $2H^+ + O^{--} \rightarrow H_2O$ -конечного продукта окисления.

10. Между I и III комплексом благодаря разности потенциалов (-0,32в) I и III (~0,4в), а также между III и IV (+0,25в) и IV и O_2 (+0,82в) возникает разность ≈ 0,2 -0,3 в, что позволяет перемещаться электроном вдоль мембраны вплоть до кислорода в матриксе. С другой стороны благодаря переносу протонов в межмембранное пространство происходит его закисление, т.е. pH по сравнению с матриксом уменьшается на ΔpH = 1,4.

11. Большая разница в редокс-потенциалах приводит к падению уровня свободной энергии перемещающихся вдоль мембраны электронов и при переходе от I к III комплексу выделяется 51 кДж, от III к IV – 36 кДж, от IV к 0 – 44 кДж, что достаточно для формирования 3 АТФ и даже для рассеивания некоторого количества тепла. В этом состоит суть сопряжения окисления с биосинтезом АТФ (фосфорилированием АДФ).

12. Движущая сила биосинтеза АТФ обеспечивается созданием протонного потенциала в результате накопления протонов в межмембранном пространства, которые могут вернуться в матрикс только через канал F_0 грибовидной АТФ-синтазы, где проходя через F_0, $2H^+$ отщепляют O^{--} от H_3PO_4, переводя ее в супероксидное состояние 

, а она атакуя АДФ в «шляпке гриба» F_1-частицы синтезирует молекулу АТФ.

13. Принято считать, что если на субстрат действуют NAД-зависимые дегидрогеназы, протоны стимулируют синтез 3 АТФ, если ФАД-зависимые, то при прохождении электронов через 2 энергосоставляющих участка синтезируются 2 АТФ, а в случае действия оксидаз на уровне IV-го комплекса, возможен синтез только 1 АТФ.

14. Некоторые вещества могут переносить протоны из межмембранного пространства через мембрану в матрикс, минуя протонные каналы АТФ- синтазы. В результате этого исчезает электрохимический потенциал и хотя скорость окисления НАДН и $ФАДН_2$ высока, синтез АТФ не идет и энергия выделяется в виде теплоты.

Эти вещества – разобщители дыхания и фосфорилирования: динитрофенол, свободные жирные кислоты бурого жира, гормон тироксин.

15. Дыхательными ядами являются ингибиторы цепи переноса электронов (ЦПЭ), блокирующие определенные этапы этого процесса. Ингибиторы НАДН-дегидрогеназы – ротенон из яда рыб, амитол из группы барбитуратов, ингибитор QH_2 –дегидрогеназы – антимицин А – токсичный антибиотик; ингибиторы цитохромоксидазы – цианид, CO, H_2S. Все они блокируют перенос электронов к кислороду.

16. Необходимый кислород для функционирования ЦПЭ может быть и токсичным, если произойдет утечка 1ē при неполном окислении кофермента $Q + H^+ + 1\bar{e} \rightarrow QH^-$. Тогда O_2 может присоединить ē и превратится в супероксидный ион O_2^-. Постепенное восстановление O_2 идет через ряд токсичных соединений

$$C_2 \xrightarrow{\bar{e}} C_2^- \xrightarrow{2H^+} H_2C_2 \xrightarrow{\bar{e},\ H^+} H_2O + \cdot CH \cdot ,$$

среди них наиболее токсичен ·OH, который образуется из H_2O_2 при встрече с Fe^{2+} (например, гем)

$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH\cdot$.

17. Свободнорадикальное окисление нарушает структуру, во-первых, сопряженной системы двойных связей жирных кислот клеточных мембран, азотистые основания нуклеиновых кислот, некоторые аминокислоты, что ведет к активации протеолитических ферментов, разрушающих поврежденные белки. Это причина многих патологий: болезнь Паркинсона, дистрофия мышц, атеросклероз, развитие опухолей, образование тромбов.

18. В нашем организме существует антиоксидантная система, защищающая клетки от радикального окисления.

1) Супероксиддисмутаза (СОД) превращает супероксидный ион O_2^- в пероксид водорода: $O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$. Это предотвращает утечку электронов дыхательной цепи в митохондриях.

2) Каталаза, в больших количествах, содержащаяся в эритроцитах, переносящих кислород, разрушает пероксид водорода $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$.

3) Глутатионпероксидаза важнейший фермент, разрушающий как пероксид водорода, так и гидроперекиси липидов с помощью глутатиона, содержащего тиоловую группу SH (полную формулу см. в лекции «Структура белков»): $2G – SH + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + G – S – S – G$. Глутатион восстанавливается глутатионредуктазой с коферментом НАДРН + H^+: G - S – S – G + NАДРН + $H^+ \rightarrow 2GSH$ + NАДР$^+$.

4) Антиоксидантами могут быть многие витамины: Е, С, липоевая кислота, β-каротин, флавоноиды (vit. P).

19. Витамин Е содержит – ОН, которая может отдать свой водород на ликвидацию пероксида липида (λОО°) сам же токоферол превращается в неактивную, стабильную форму токоферолхинона.

20. В фагоцитирующих лейкоцитах (гранулоцитах, макрофагах, эозинофилах) образуются активные формы кислорода, инициируя «респираторный взрыв», которые уничтожают чужеродные бактерии. При хроническом дефекте ферментов, образующих активные формы кислорода (в том числе и НО·), больные страдают повышенной восприимчивостью к бактериальной инфекции (грануломатоз).

Лабораторная работа

Определение каталазного числа крови

Биологическая функция каталазы состоит в освобождении клетки от избытка пероксида водорода, образующийся при многих окислительно-восстановительных процессах, как, например, при действии ксантиноксидазы, уриказы, оксидазы аминокислот, диаминооксидазы и при ряде других ферментативных процессов. Образующаяся перекись водорода или расходуется в процессах катализируемых пероксидазой или же разрушается каталазой, причем образующийся кислород снова может быть

использован в окислительных реакциях клетки. Таким образом, каталаза является важным элементом общей окислительно-восстановительной системы клетки. Как и пероксидаза, каталаза представляет собой протеид, содержащий в качестве активной группы железопорфириновый комплекс (содержание в кристаллической каталазы Fe=0,12%).

По некоторым данным в молекуле каталазы наряду с гематиновыми группами содержится и желчно-пигментная группа. Каталаза угнетается NCN, H2S, гидроксиламином. Она неустойчива: разрушается при pH=3. Разложение перекиси водорода при действии каталазы можно представить в виде следующих схем

$$\left[\begin{matrix}\text{каталаза}\\ 4Fe^{3+}\end{matrix}\right] + 2H_2O_2 = \left(\begin{matrix}\text{каталаза}\\ 4Fe^{2+}\end{matrix}\right) + 4H^+ + 2O_2$$

$$\left[\begin{matrix}\text{каталаза}\\ 4Fe^{2+}\end{matrix}\right] + 4H^+ + O_2 = \left[\begin{matrix}\text{каталаза}\\ 4Fe^{3+}\end{matrix}\right] + 2H_2O$$

<u>Суммарно:</u> $2H_2O_2 = O_2 + 2H_2O$

<u>Принцип метода:</u> Активность каталазы определяют по скорости разрушения перекиси водорода. Количество перекиси водорода определяют с помощью перманганатометрического титрования.

$$2KMnO_4 + 5H_2O_2 + 3H_2SO_4 = 2MnSO_4 + K_2SO_4 + 8H_2O + 5O_2$$

Ход работы:

При определении активности каталазы в крови в мерную колбу (100мл) примерно на половину наполняют дистиллированной водой, вносят 0,1мл крови, взятой из пальца. Пипетку промывают несколько раз водой из этой же колбы. Объем доводят до 100 мл дистиллированной водой. Таким образом, получают лизат крови, разведенной в 1000 раз. Для определения активности каталазы, берут 2 колбочки, наливают по 1мл разведенной крови, добавляют по 7 мл дистиллированной воды; в опытную колбу добавляют 2 мл H2O2, а в контрольную 5мл 10%-ной серной кислоты

Действие каталазы в кислой среде прекращается, так как она действует при pH=7,4. Колбу оставляют при комнатной температуре на 30 минут. Затем в опытную колбу прибавляют 5мл 10% раствора H2SO4, а в контрольную 2 мл H2O2. Содержимое каждой колбы титруют 0,1 раствором KMnO4 до розовой окраски, неисчезающей в течение 1 минуты.

Расчет:

Каталазное число рассчитывают по формуле:

КЧ=(А-В) 1,7,

где А-количество мл 0,1н раствора $KMnO_4$, пошедшего на титрование контрольной пробы;

В-количество мл 0,1н раствора КМпО4, пошедшего на титрование опытной пробы; 1,7- количество мг H_2O_2, соответствующие 1мл 0,1н $KMnO_4$.

Норма: КЧ=10-15ед.

Активность каталазы выражается в единицах, показывающих количество мг расщепленного субстрата за 30 мин ферментом из 0,001.

Клинико-диагностическое значение: определение активности каталазы крови имеет значение для диагностики рака, анемии, туберкулеза: при этом активность каталазы снижается.

Контрольные вопросы по теме

1. Что такое метаболизм, катаболизм, анаболизм?
2. Макроэргические соединения. Роль АТФ в организме.
3. Современная теория окислительного фосфорилирования.
4. Что называют дыхательным ансамблем? Его локализация в клетке.
5. Перечислите все ферменты, которые принимают участие в транспорте водорода от окисляемого субстрата на кислород.
6. На каком принципе основано расположение компонентов дыхательной цепи.
7. Строение никотинамидных дегидрогеназ, механизм их участия в биологическом окислении. Напишите формулу НАД.
8. Строение флавопротеинов, механизм их участия в биологическом окислении. Написать формулу ФМН и ФАД.
9. Кофермент Q, его участие в биологическом окислении. Строение цитохромов, их свойства, роль и место в биологическом окислении.
10. Что такое железосерные белки и какова их роль в биологическом окислении?
11. Какие ферменты биоокисления локализируются в цитоплазме? Приведите примеры.
12. Какова последовательность переносчиков протонов и электронов в удлиненной цепи митохондриального окисления?
13. Что называют укороченной цепью митохондриального окисления?
14. Каковы современные представления о механизме сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования?
15. Что называют коэффициентом окислительного фосфорилирования?
16. Что такое разобщители?
17. Какова биологическая роль митохондриального окисления?
18. В каком виде выделяется энергия тканевого дыхания?
19. Что такое пероксимальное окисление? Его особенности.
20. Какие субстраты окисляются в пероксисомах? Напишите их формулы.
21. Что такое «активные» формы кислорода? Как они образуются? Какова их биологическая роль?
22. Понятие об оксидантной и антиоксидантной системах организма.
23. Напишите формулу субстратов: а) полной; б)удлиненной; в) укороченной цепей митохондриального окисления.
24. Что такое «дыхательный контроль»?
25. Напишите реакции, катализируемые каталазой, супероксиддисмутазой, глутатионпероксидазой.

Итоговая работа
по теме «Биологическое окисление»

1

Напишите реакцию окисления НАДН в ЦПЭ. Укажите фермент и кофермент. Напишите формулу рабочей части НАД в окислительной и восстановительной форме.

2

Напишите формулу убихинона в окисленном и восстановленном виде. Назовите фермент дыхательной цепи, катализирующий окисление убихинона.

3

Какие из следующих утверждений правильно описывают механизм окислительного фосфорилирования?

1. Функцией ЦПЭ является перенос протонов через внутреннюю мембрану в митохондриальный матрикс.
2. Энергия электронов переносимых по ЦПЭ, трансформируется в энергию электрохимического потенциала.
3. Однонаправленный транспорт H^+ в межмембранное пространство создает градиент pH.
4. Протонофоры разобщают тканевое дыхание и фосфорилирование.
5. АТФ-аза осуществляет транспорт H^+ в межмембранное пространство.
6. Энергия электрохимического градиента используется для синтеза АТФ.

4

2,4-динитрофенол, который является разобщающим агентом, пытались использовать для борьбы с ожирением.

А. На чем основывался этот выбор?

Б. В настоящее время подобные вещества уже не применяются в качестве лекарственных препаратов, так как известны случаи, когда их применение приводило к смертельному исходу. Почему прием таких препаратов может привести к гибели?

5

Как изменяется теплопродукция органа, если при постоянной интенсивности тканевого дыхания с появлением разобщающего фактора коэффициент P/O снизился с 3 до 1?

6

Выберите предложения, которые правильно характеризуют “микросомальное” окисление.

1. «Микросомальное» окисление происходит в гладком эндоплазматическом ретикулуме печени и других органов, а также в митохондриях коры надпочечников и половых желез.
2. НАДН является донором водорода для реакций «микросомального» окисления.
3. Главные ферменты системы- цитохром P450 и НАДФ- цитохром P450- редуктаза.
4. Для образования гидроксильной группы в модифицируемом гидрофобном веществе используется атом кислорода молекулы воды.
5. Цитохром P450 (атом железа емма) переносит электроны на атом кислорода с образованием молекулы воды.
6. В качестве побочных продуктов образуются активные формы кислорода.

7

Выберите правильные утверждения.

1. Активные формы кислорода (супероксидный анион-радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал) могут образовываться в результате последовательного одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода в ферментативных и не ферментативных реакциях в клетке.
2. Активные формы кислорода инициируют свободнорадикальные процессы в организме, реагируют с нуклеиновыми кислотами, липидами и могут вызывать их повреждение.
3. Витамин Е является важнейшим компонентом системы не ферментативной антиоксидантной защиты клетки.
4. Бактерицидное действие фагоцитов обусловлено активацией ферментов антиоксидантной защиты.

8

Студент за сутки расходует 12570 кДж энергии /3000 ккал, 50% которой используется как тепловая, а 50%-для выполнения химической, механической и других видов работ. Сколько углеводов и жиров должно подвернуться полному распаду в организме для покрытия суточной потребности в энергии, сколько молей АТФ при этом образуется, если считать, что 2/3 энергии обеспечилось за счет распада углеводов, а 1/3 за счет распада жиров?

9

С какими атомами связаны переносимые в процессе тканевого дыхания электроны: в окисляемых субстратах, в НАДН, в $ФАДН_2$, в цитохромах?

10

При отравлении цианидом пострадавших лечат метиленовой синью. Объясните механизм ее действия с учетом того, что цианиды связываются с Fe^{3+}, метиленовая синь способна окислять в крови часть гемоглобина (Fe^{2+}) в метгемоглобин (Fe^{3+}).

11

В чем отличие соединения нуклеотидов в $НАД^+$ и ФАД от соединения нуклеотидов в нуклеиновых кислотах?

12

Что происходит в организме, если наблюдается уменьшение соотношения P:O?

13

В организме человека массой 70 кг содержится 10% жира. В течение скольких дней голодания запасы жира могут обеспечивать энергозатраты организма? При этом необходимо учесть: при распаде 1г жира образуется 45 кДж энергии; суточный расход энергии при голодании составляет 11000кДж.

14

Почему в пьяном состоянии человек может замерзнуть на морозе, не ощущая при этом холода? Чувство холода вызывается сужением кожных сосудов.

15

Ряд бактерий, дрожжей, паразитирующих червей и другие организмы не нуждаются в кислороде. Каким способом эти организмы аккумулируют энергии в АТФ?

16

В сутки человек получил с пищей 2000 ккал. Из этого количества 50% энергии аккумулировалось в АТФ. Вычислите в единицах массы количество АТФ, утилизированное за сутки в организме человека. Количество свободной энергии, необходимой для синтеза АТФ – 11 ккал/моль; относительная молекулярная масса АТФ – 507,19.

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Переваривание углеводов. Анаэробный распад углеводов

I. ***Цель изучения:*** Знать классификацию, строение, физико-химические свойства, биологические функции углеводов. Знать процессы переваривания пищевых углеводов, всасывание моносахаридов, химизм биосинтеза и распада гликогена, процесс анаэробного гликолиза, его биологическое значение, регуляцию гормонами, распада и биосинтеза гликогена.

II. Уметь исследовать перевариваемость углеводов в желудочно - кишечном тракте. Провести обнаружение молочной кислоты и анаэробных дегидрогеназ в мышцах

III. Заполнить контурные карты;

1) Распад гликогена в печени.

2) Биосинтез гликогена в печени.

3) гликолиз в двух частях. Ответы на контурные карты по ходу изложения материала

IV. Содержание темы:

1. Важнейшие функции углеводов – энергетическая (1г – 4,1 ккал), метаболическая (промежуточные метаболиты используются для синтеза веществ других классов), строительная (межклеточный матрикс), защитная (в антителах), регуляторная (гормоны, группы крови).

2. Пищевыми углеводами являются крахмал, сахароза, лактоза, моносахариды.

3. Процесс переваривания начинается в ротовой полости амилолизом крахмала, который продолжается в двенадцатиперстной кишке. Дисахариды гидролизуются соответствующими дисахаридазами в тощей кишке до свободных моноз.

4. Всасывание моносахаридов из кишечника в кровь происходит: а) облегченной диффузией; б) вторичным активным транспортом с Na^+.

5. Потребление глюкозы клетками из кровотока происходит путем облегченной диффузии по градиенту концентрации. Транспортеры глюкозы (ГЛЮТ) обнаружены во всех тканях: ГЛЮТ – 1 обеспечивает поток глюкозы в мозг, ГЛЮТ – 2 транспортирует глюкозу в β - клетки поджелудочной железы, ГЛЮТ – 3 обеспечивает приток глюкозы к клеткам нервной ткани, ГЛЮТ – 5 встречается в клетках тонкого кишечника. Исключение составляют ГЛЮТ – 4, активируемые инсулином, которые переносят глюкозу в мышечную и жировую ткань. Нарушения их работы могут быть причиной инсулинонезависимого диабета.

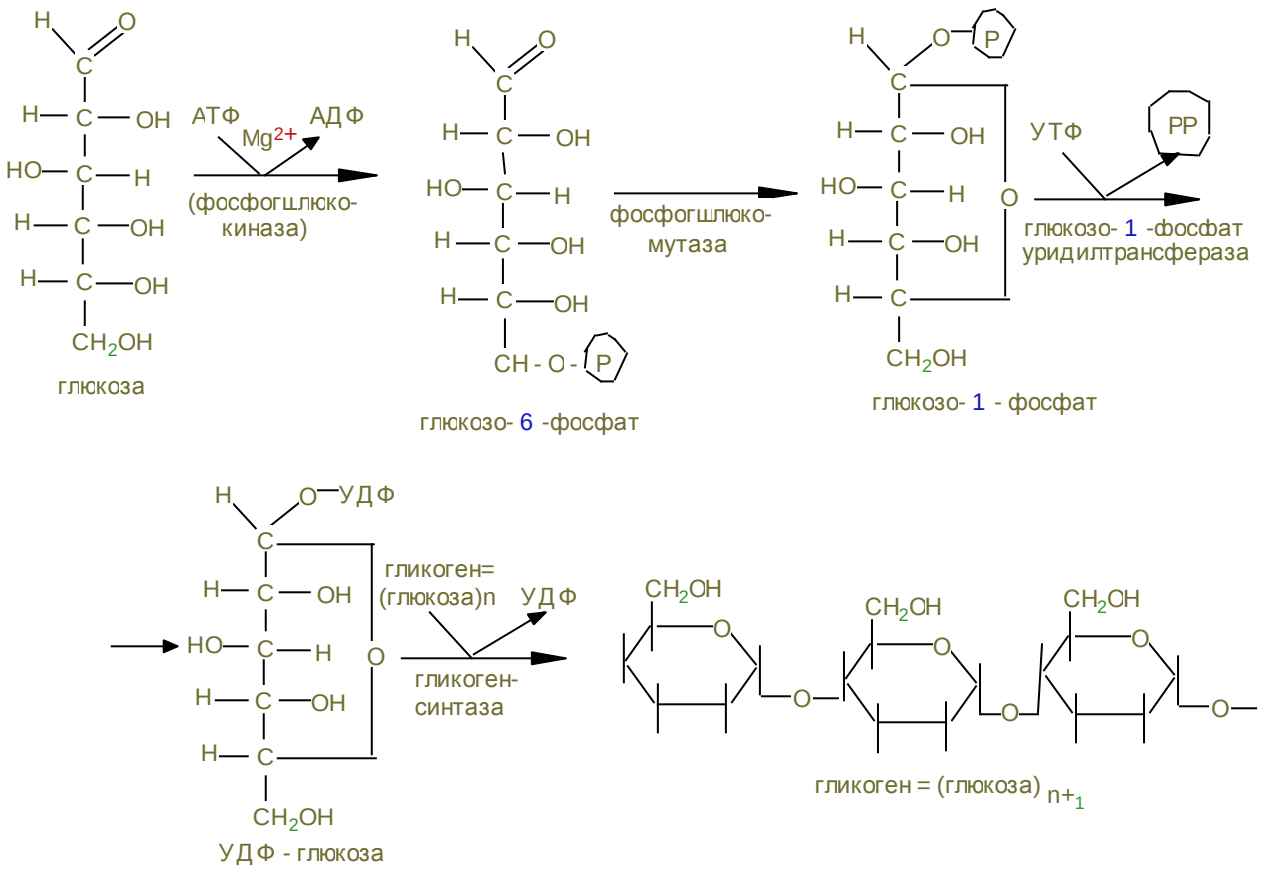
6. Нарушения переваривания и всасывания углеводов связаны с нарушениями в первичной структуре соответствующих ферментов: α- амилазы, лактазы, сахаразы или белков переносчиков.

7. Всасываемые моносахариды в процессе метаболизма сливаются с общим обменом глюкозы – преобладающего продукта переваривания углеводов, содержание которого при нормальном рационе здорового человека составляет 3,3 – 5,5 ммоль/л крови.

8. Внутриклеточный обмен глюкозы начинается с ее фосфорилирования глюкокиназой в печени ($К_м$ = 10 ммоль/л) или гексокиназой в других тканях ($К_м$<0,1 ммоль/л). Продукт реакции – глюкозо-6-фосфат образуются при затрате АТФ, которая активирует глюкозу, открывая несколько метаболических путей превращения глюкозы в гликоген, лактат, $CO_2 + H_2O$, другие монозы.

9. Многие ткани (печень, мышцы и др.) могут создать резерв глюкозы в виде полисахарида гликогена в пищеварительный период через 1 – 2 часа после приема углеводной пищи. Для активации полуацетального гидроксила с целью образовать гликозидную связь, глюкоза-6-фосфат под действием фосфоглюкомутазы превращается в глюкозо-1-фосфат и после активации УТФ в УДФ-глюкозу, которая под действием гликогенсинтазы переносит глюкозный остаток на нередуцирующий конец гликогеновой затравки (праймера).

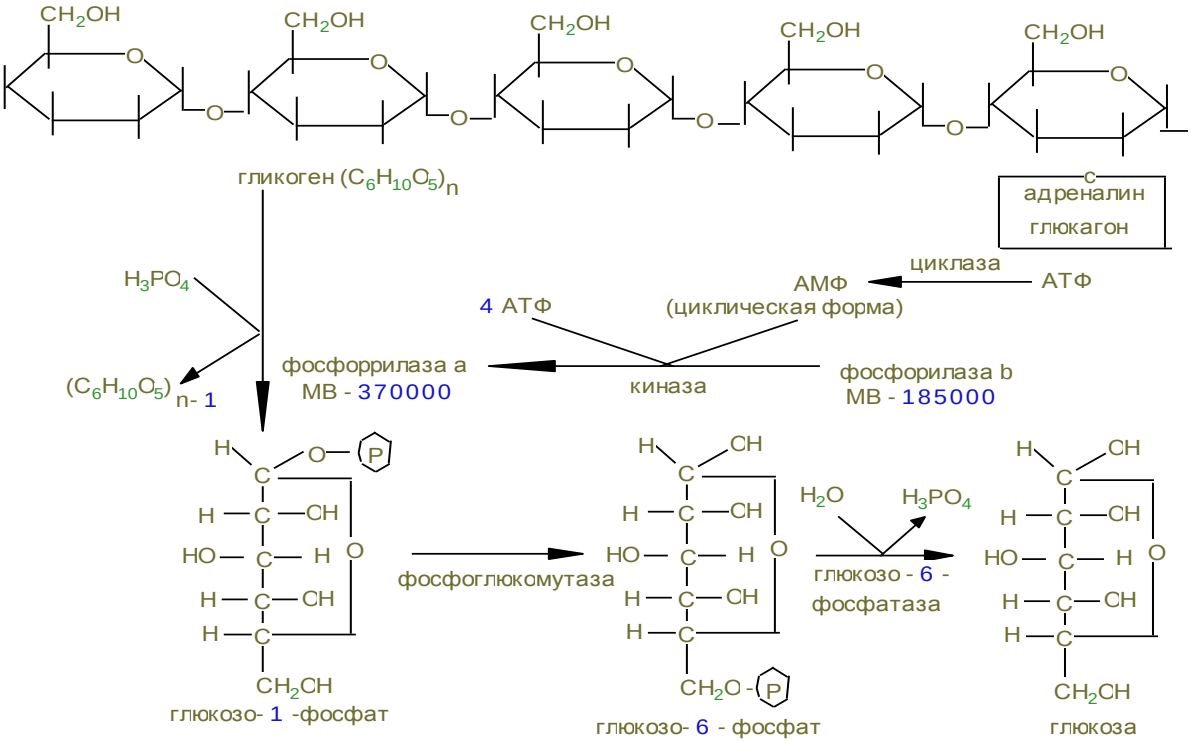
Синтез гликогена в печени



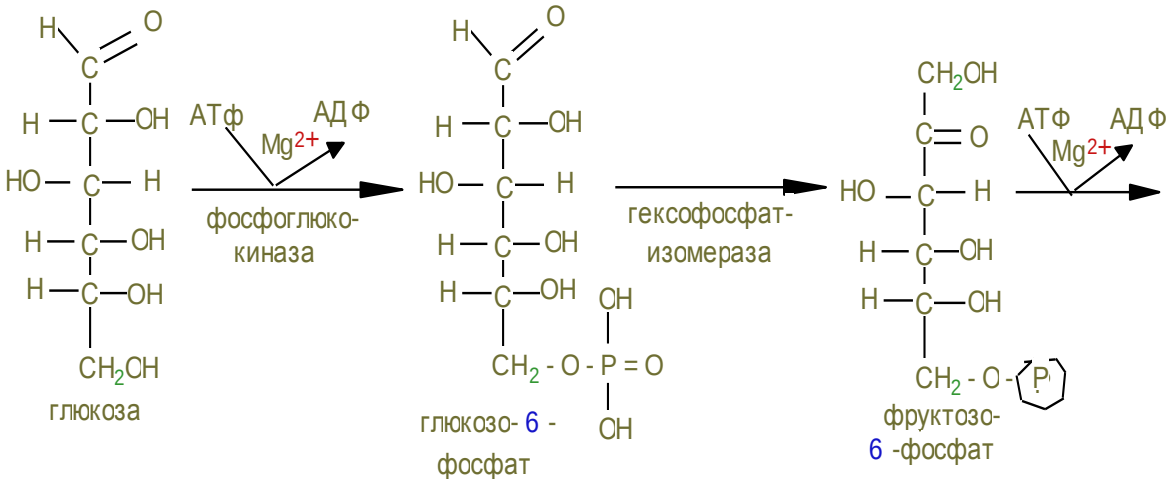
10. «Ветвящий фактор» способствует переносу концевых блоков на внутренний остаток глюкозы с образованием α-1,6гликозидной связи.

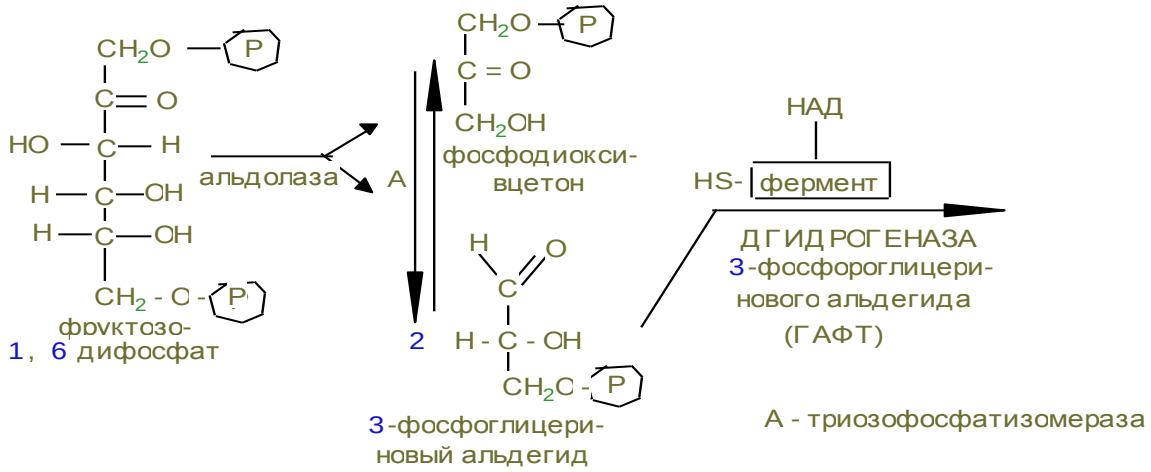
11. В постабсорбтивном периоде в ответ на повышение потребности организма, гликоген распадается фосфоролитическим путем с образованием глюкозо-1-фосфата и превращающегося в глюкозо-6-фосфат и далее фрукто-6-фосфат и фруктозо-1-6-дифосфата.

Распад гликогена в печени



Гликолиз



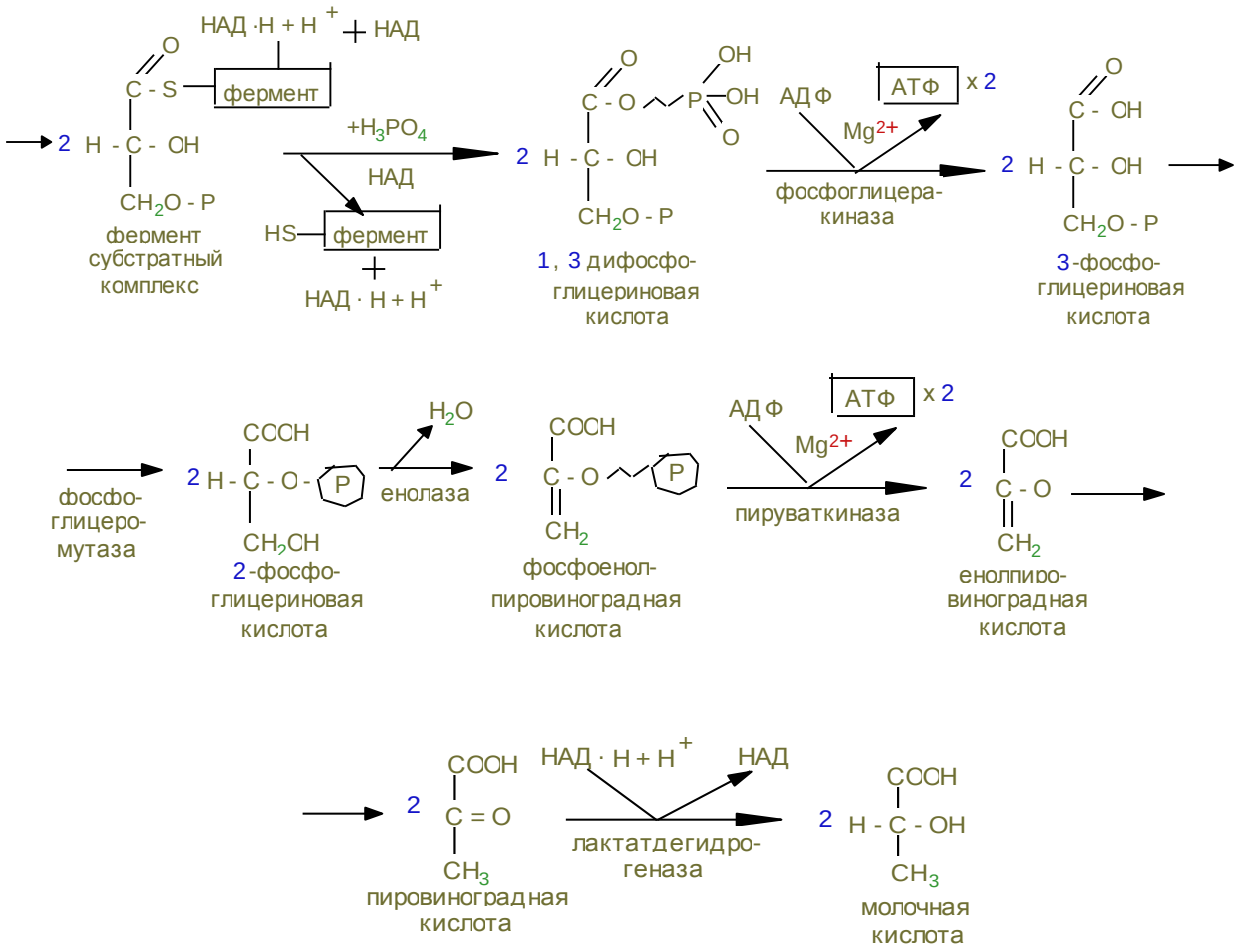


На этом заканчивается активация глюкозы, которая идет с затратой 1 (из гликогена) или 2 молекул АТФ (из свободной глюкозы).

12. Альдолаза расщепляет гексозу на две триозы с образованием 2-х молекул глицеринового альдегида, который окисляется дегидрогеназой в 3-фосфоглицерат.

При этом в анаэробных условиях субстратным фосфорилированием образуется АТФ×2 (учитывая коэффициент 2).

13. В дальнейшем глицериновая кислота превращается в пируват с энергетическим выигрышем 2 молекулы АТФ.



14. В анаэробных условиях восстановленный НАДН + H^+, образованный при окислении глицеринового альдегида восстанавливает ПВК в лактат. Это анаэробный гликолиз, обеспечивающий организм энергией при нехватке кислорода, в первую минуту мышечной работы.

15. Распад гликогена и его синтез одновременно в клетке не идет, а зависит от ритма питания и инсулин/глюкагон – индекса.

При гипергликемии секретируется инсулин, активирующий фосфатазы, отщепляющие остатки фосфорной кислоты от гликогенсинтазы (активирует),
и фосфорилазы (пассивирует).При снижении глюкозы в крови секретируется из α - клеток поджелудочной железы глюкагон, который по аденилат-циклазной системе фосфорилирует фосфорилазу, активируя ее и гликогенсинтазу, которая становится неактивной.

16. Гликогенозы и агликогенозы – проявления недостаточности распада или синтеза гликогена, как результат дефектов соответствующих ферментов.

Лабораторная работа

Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте

Ход работы. Заготавливаем 3 пробирки, добавляя по 1 мл крахмала и 3 пробирки с 1 мл сахарозы. Во все пробирки наливаем ферментные препараты по схеме:

	крахмал	сахароза	слюна	Желуд. сок	панкреатин	индикатор	результат
	1 мл		1 мл			I_2	
	1 мл			1 мл		I_2	
	1 мл				1 мл	I_2	
		1 мл	1 мл			раствор Фелинга	
		1 мл		1 мл		раствор Фелинга	
		1 мл			1 мл	раствор Фелинга	

Пробирки с ферментным препаратом помещаем на 15 минут в термостат. В первых трех пробирках проверяем течение реакции раствором йода. В пробирках с сахарозой – раствором Фелинга. Результаты заносим в таблицу. Делаем вывод о переваривании углеводов в желудочно-кишечном тракте.

Лабораторная работа

Определение молочной кислоты в мышцах

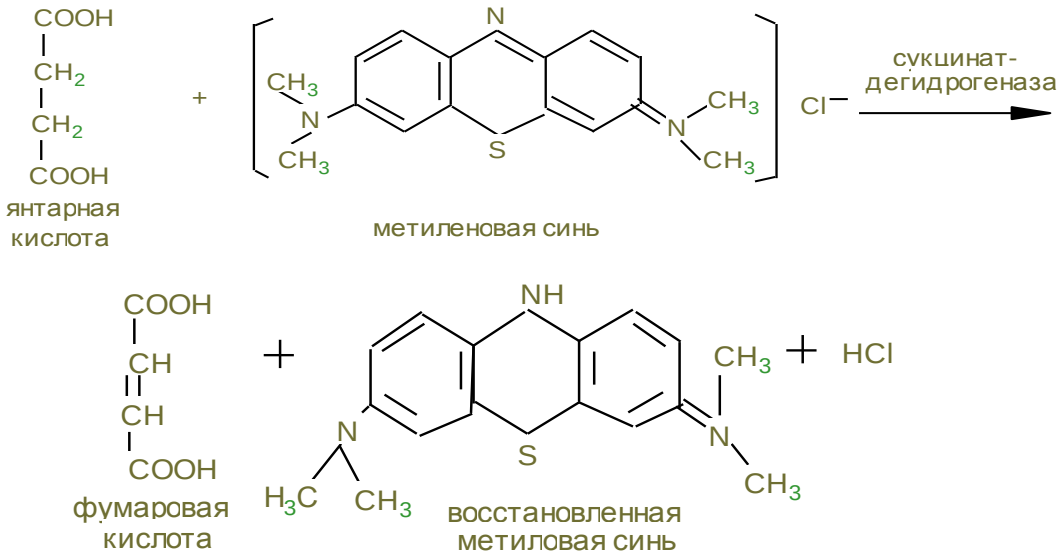
Ход работы. Мышцу животного (1 г) растирают в ступке с толченым песком, добавляют 2-3 мл дистиллированной воды, фильтруют. С фильтром проделывают качественную реакцию на молочную кислоту с реактивом Уфельмана (10 капель 1 % раствора 1% раствора $FeCl_3$ и 10 капель фенола), наблюдают переход окраски от фиолетовой до желто-зеленой, что говорит о присутствии промежуточного продукта расщепления глюкозы – молочной кислоты.

Клинико-диагностическое значение. Реакция Уфельмана – качественная реакция на лактат в любой биологической жидкости.

Открытие дегидрогеназы янтарной кислоты в мышцах

Дегидрогеназа янтарной кислоты относится к анаэробным дегидрогеназам. Анаэробные дегидрогеназы переносят водород от окисляемого вещества на другое, но не кислород. В состав простейшей группировки дегидрогеназ нередко входят витамины.

Дегидрогеназа янтарной кислоты окисляет янтарную кислоту в фумаровую при условии, что имеется соответствующий акцептор водорода. Акцептором водорода может быть метиленовая синь. Дегидрогеназа янтарной кислоты имеет название сукцинатдегидрогеназа.



Ход работы

В 2 пробирки приливают по 1 мл дистиллированной воды и в каждую помещают по 100 мг мышечной кашицы, предварительно промытой водой.

В первую пробирку приливают 2 мл 0,1 н раствора янтарной кислоты, во вторую – 2 мл дистиллированной воды.

В каждую пробирку прибавляют по 2 мл 0,02% раствора метиленовой сини, перемешивают и заливают 3-5 капелями растительного масла.

Обе пробирки помещают в термостат или водяную баню на 30 минут, после чего наблюдают окрашивание.

Контрольные вопросы по теме

1. Определение углеводов.
2. Классификация углеводов.
3. Моносахариды. Определение. Напишите формулы: глюкозы, фруктозы, галактозы, маннозы, дезоксикарбозы.
4. Строение и биологическая роль производных моносахаридов: многоатомных спиртов, альдоновых и альдуроновых кислот, гликозидов, аминосахаридов, сернокислых и фосфорнокислых эфиров, дезоксисахаров.
5. Что такое гомо- и гетерополисахариды? Приведите примеры.
6. Дисахариды. Их биологическая роль. Напишите формулы сахарозы, лактозы, мальтозы. Укажите наличие восстановительных свойств.
7. Полисахариды. Определение. Изобразите фрагмент молекулы амилозы, амилопектина, гликогена, целлюлозы. Биологическая роль этих полисахаридов.

8. Перечислите углеводы, имеющие пищевое значение.
9. Назовите суточные нормы углеводов в питании. Отметьте возрастные особенности.
10. Какие ткани организма особенно остро нуждаются в углеводах как источнике энергии.
11. Назовите ферменты амилолитического действия.
12. Где на протяжении ЖКТ человека происходит переваривание углеводов?
13. Переваривание углеводов: в ротовой полости, кишечнике.
14. Напишите реакции катализируемые амилазой, лактазой, сахаразой, мальтазой.
15. Какой фермент разрывает 1,4 гликозидные связи? 1,6-гликозидные связи?
16. Как происходит всасывание продуктов переваривания углеводов?
17. Наследственные нарушения переваривания углеводов.
18. Что такое анаболизм, катаболизм и метаболизм углеводов.
19. Напишите реакции синтеза гликогена из глюкозы.
20. Напишите схемы основных этапов синтеза гликогена.
21. Объясните роль УТФ в процессе биосинтеза гликогена.
22. Какие органы и ткани наиболее богаты гликогеном и где его меньше всего?
23. Как происходит образование глюкозы из гликогена? Напишите уравнения реакции.

Аэробный распад углеводов

I. Цель изучения:

Знать реакции окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты до ацетил-КоА и его биологического окисления до CO_2 и H_2O в цикле трикарбоновых кислот.

Пентозофосфатный путь окисления глюкозы и его значение.

II. Уметь

провести количественное определение ПВК в моче для диагностики гипоксии.

III. Заполнить контурные карты:

1) Окислительное декарбоксилирование пирувата.

2) Коферменты окислительного декарбоксилирования α-кетокислотой.

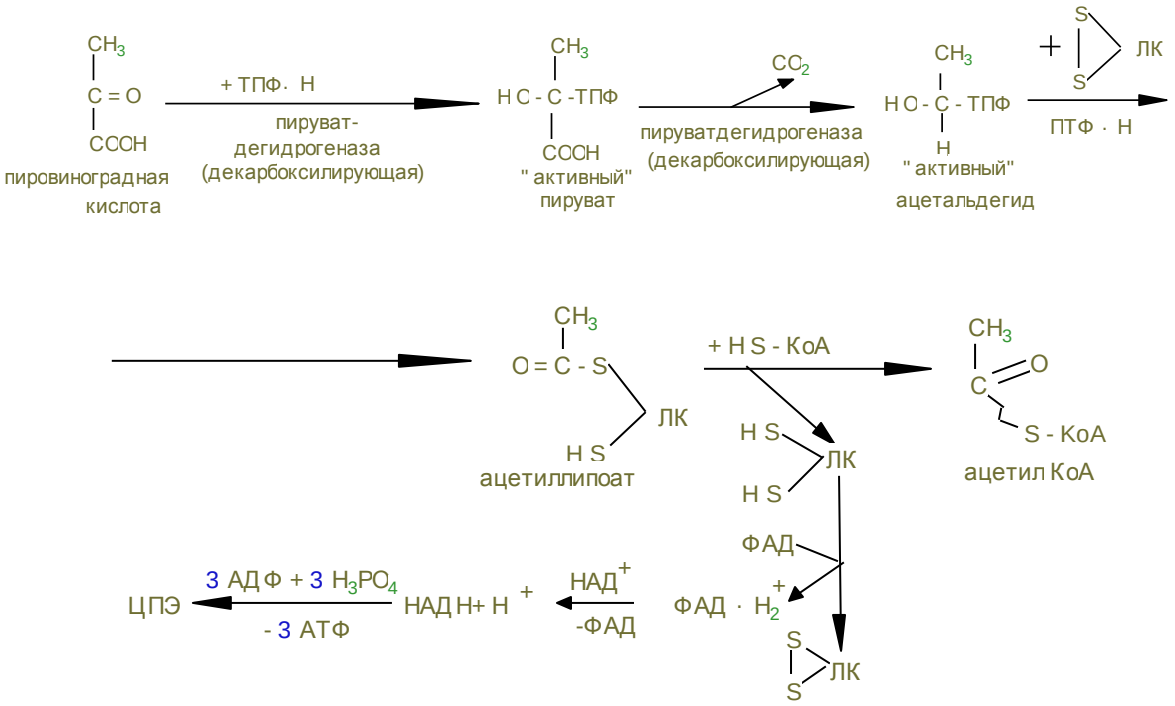
3) Реакция цикла ди- и трикарбоновых кислот.

4) Реакции окислительной стадии пентозного цикла окисления глюкозы.

IV. Ответить на контрольные вопросы

V. Содержание темы

1. Пировиноградная кислота – промежуточный продукт анаэробного гликолиза, в аэробных условиях подвергается действию пируватдегидрогеназного мультиферментного комплекса в митохондриях эукариот.

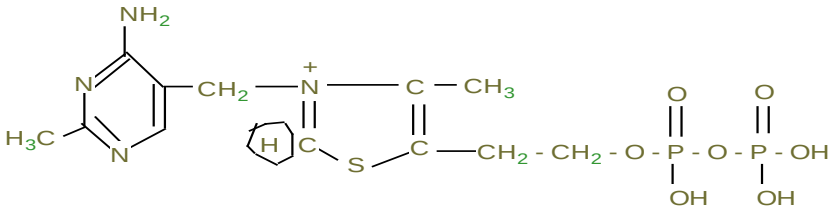


2. В объединенном процессе дегидрирования и декарбоксилирования пирувата участвуют три фермента: пируватдегидрогеназа (декарбоксилирующая) с коферментами – ТПФ и липоевой кислотой; дигидролипоилацетилтрансфераза с коферментом А; дигидролипоилдегидрогеназа с коферментом ФАД, который через НАД открывает ЦПЭ внутренней мембраны митохондрий.

Кофакторы, участвующие в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты:

1. ТПФ
2. Липоевая кислота (липотиамид)
3. Коэнзим А (HS-фермент)
4. НАД Химическая структура ТПФ ТПФ –тиаминпирофосфат – производное витамина B_1

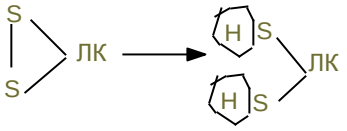
Сокращенно:

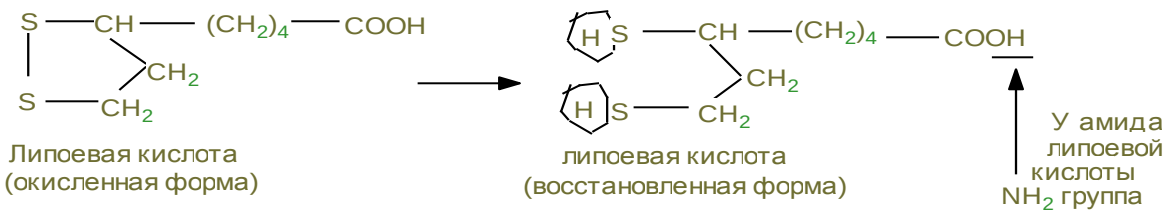


- **Химическая структура амида липоевой кислоты**

Липоевая кислота –дитиооктановая кислота

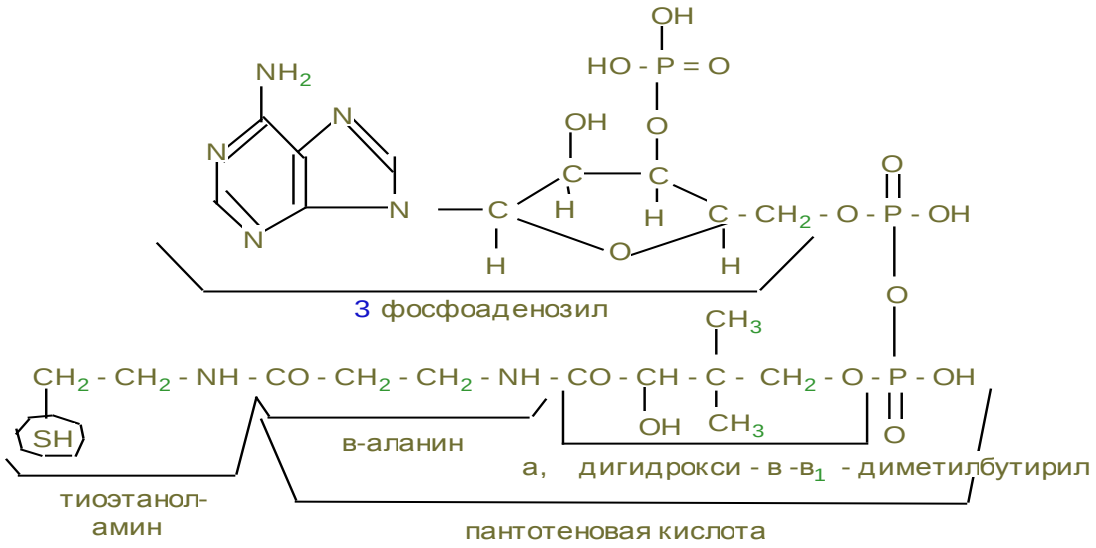
Сокращенно:





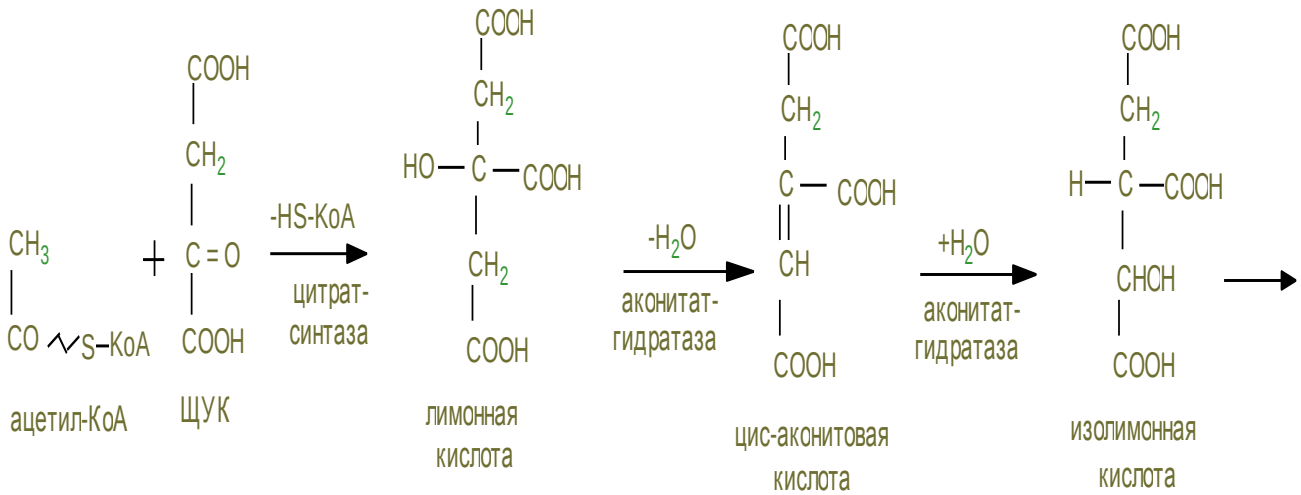
Химическая структура коэнзима А Сокращенно: HS-КоА Коэнзим А состоит из:

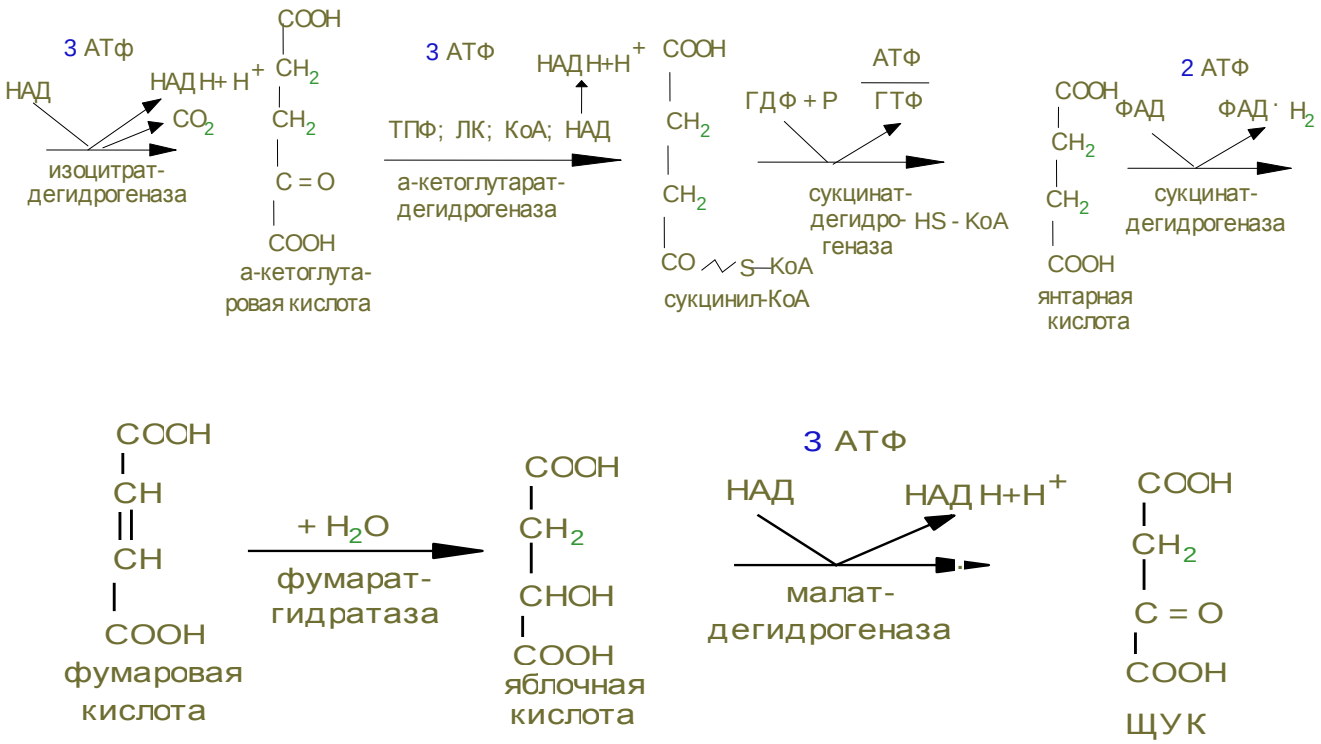
1) - 3′фосфоаденозина;
2) - пантотеновой кислоты (которая состоит из β-аланина и α-γ-дегидрокси-β-$β_1$-диметилбутирила);
3) - тиоэтаноламина с активной SH-группой;
4) - 2 молекулы H_3PO_4.



3. Создается удлиненная дыхательная цепь (ФАД→НАД→ФМН→Q→ цит. с→цит. а→O_2) , в которой образуется 3 молекулы АТФ.

4. Образовавшийся в этом ацетил~КоА завершает общий путь катаболизма окисляясь до CO_2 и H_2O **в цикле ди- и трикарбоновых кислот Кребса.**





5. Этот цикл происходит в матриксе митохондрий, состоит из 8 стадий и является замкнутым, а не линейным, как окислительное декарбоксилирование ПВК.

6. Ключевой кислотой ЦТК является щавелево-уксусная кислота (ЩУК), которая образуется из пирувата в результате карбоксилирования с помощью биотина (vit «Н»). Именно ЩУК за счет энергии макроэргической связи CH_3CO~SKoA присоединяет ее с образованием самой сложной кислоты цикла – лимонной.

7. В дальнейших превращениях цитрат упрощается, подвергаясь четырем дегидрированиям: 1) изоцитрат → α-кетоглутарат НАД$^+$-ом – CO_2; 2) окислительному декарбоксилированию α-кетоглутарата НАД$^+$-ом с одновременной потерей CO_2; 3) сукцинат → фумарат ФАД-ом; 4) малат→ЩУК – НАД-ом. Кроме этого, превращение сукцинил ~ КоА (из α-кетоглутарата) в сукцинат происходит без участия ЦПЭ – субстратным фосфорилированием, где синтезируется 1 АТФ; 5) Таким образом – цикл Кребса – стандартный набор ди- и трикарбоновых кислот, которые при своих последовательных превращениях способствуют полному окислению активной формы уксусной кислоты до $2CO_2$ и $4H_2O$ ($4\times2H^+$+4O=$4H_2O$), но $2H_2O$ используется при гидролизе цитрил КоА и гидратации фумарата. В этих двух реакциях вода является донором водорода, который окисляется в ЦПЭ.

8. ЦТК имеет громадное катаболическое значение, т.к. CH_3CO~SKoA может образоваться не только из глюкозы, но и из жирных кислот, глицерина, аминокислот и каждая молекула окисляясь ведет к синтезу 12АТФ: 3×3=9 (при участии НАД-а), 2- при участии ФАД-а и 1 при субстратном фосфорилировании (сукцинил КоА→ сукцинат).

9. ЦТК имеет и анаболическое значение, т.к. его промежуточные метаболиты могут быть использованы для синтеза заменимых аминокислот (α-кетоглутарат→глу; сукцинат, фумарат→асп; сукцинил-КоА используется для синтеза гема.

10. Для восполнения израсходованных метаболитов существуют анаплеротические реакции их синтеза (ЩУК из пирувата, α-кетоглутарат из глу; фумарат←асп).

11. Регуляция общего пути катаболизма зависит от соотношения АДФ/АТФ и НАДН/НАД$^+$, когда повышается скорость окислительного декарбоксилирования ПВК и ускорение окисления восстановленных эквивалентов в ЦПЭ. Таким образом дыхательный контроль играет важную роль в обеспечении клетки энергией.

12. Гипоэнергетические состояния – результат нарушения процессов использования кислорода: 1) действие ингибиторов и разобщителей в ЦПЭ; 2) железодефицитные анемии; 3) снижение уровня Нв; 4) наследственные дефекты ферментов ЦПЭ и цитратного цикла

Аэробное окисление углеводов

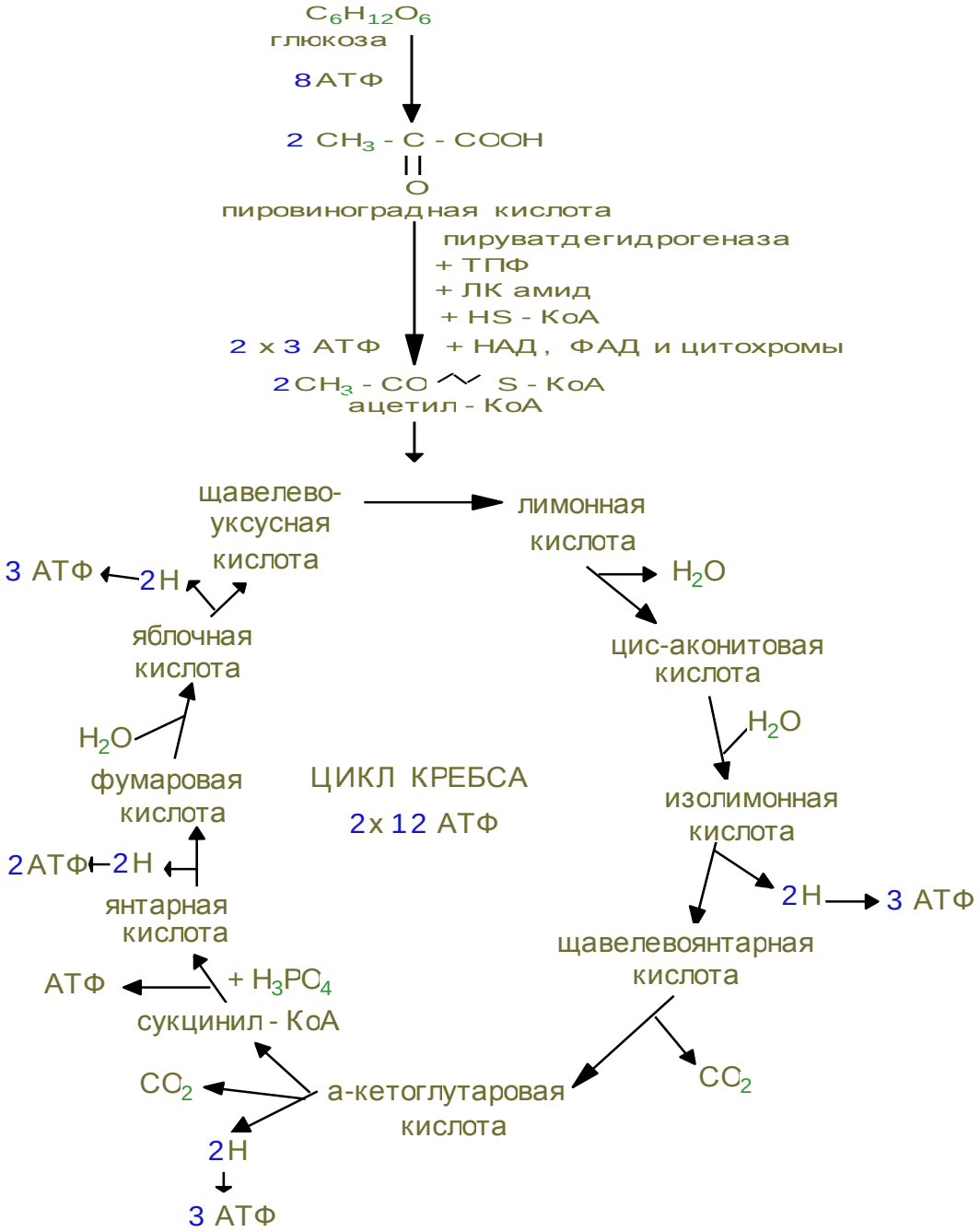
Дихотомический или непрямой путь распада глюкозы состоит из трех стадий:

– распад глюкозы до пировиноградной кислоты («гликолитическая стадия»)

– окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты;

– цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот);

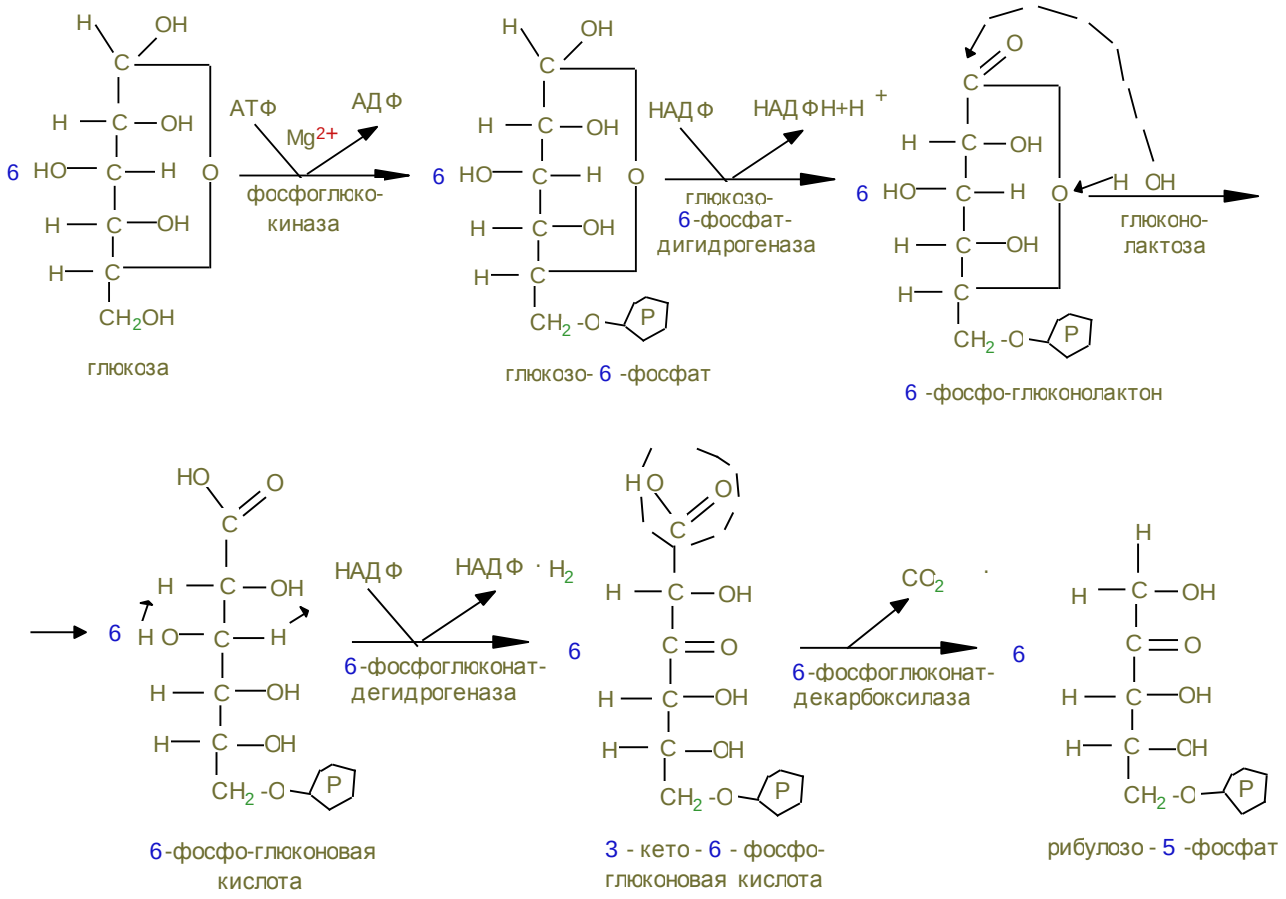
– при полном окислении 1 молекулы глюкозы синтезируется 38 молекул АТФ



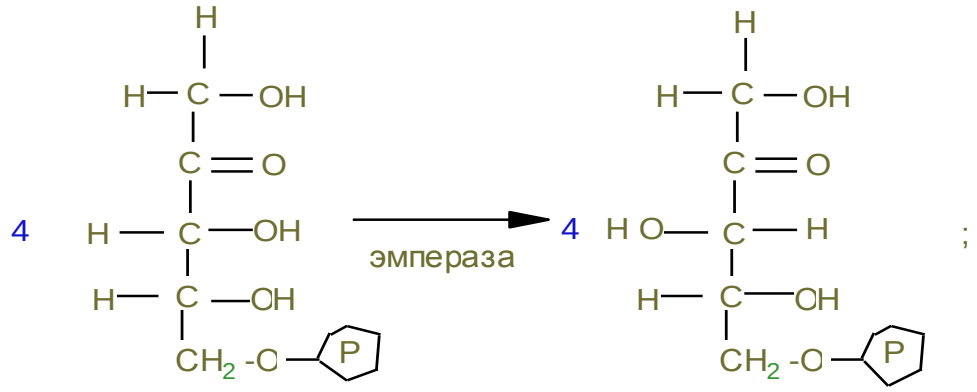
13. Альтернативный путь окисления глюкозо-6-фосфата – пентозофосфатный путь состоит из 2-х фаз – окислительной и неокислительной. И помимо энергетического значения (эритроциты на 10% обеспечивают себя молекулами АТФ), накапливают восстановленные эквиваленты в виде НАДФН+H^+, которые используются для синтеза жирных кислот и холестерина. Жирные кислоты, окисляясь, являются источником для синтеза АТФ. 14. В I-й стадии образуются 2НАДФН+H^+ и образуется CO_2 и пентоза – рибулозо -5 фосфат, используемый для синтеза рибозы и дезоксирибозы.

Пентозный цикл

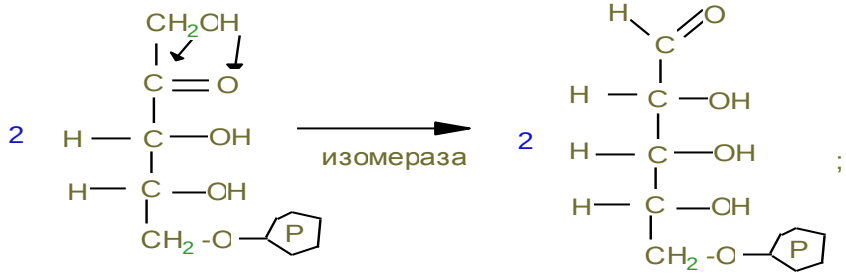
I –стадия – **образование из 6 гексоз (глюкоз) → 6 пентоз**



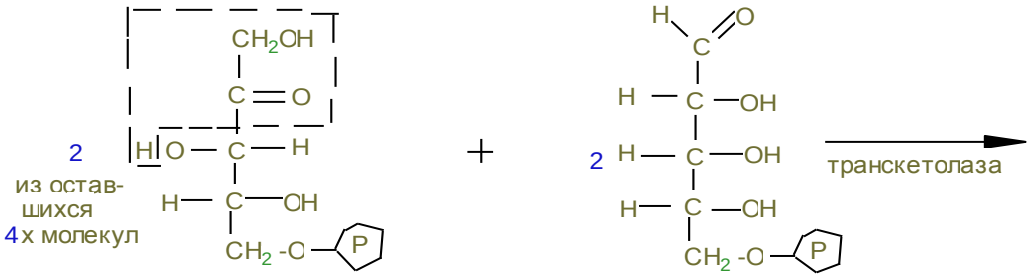
15. Процесс имеет циклический характер, т.к. при образовании $6CO_2$ образуется 6 пентоз, превращающихся в неокислительной (II фазе) в 5 молекул гексоз.



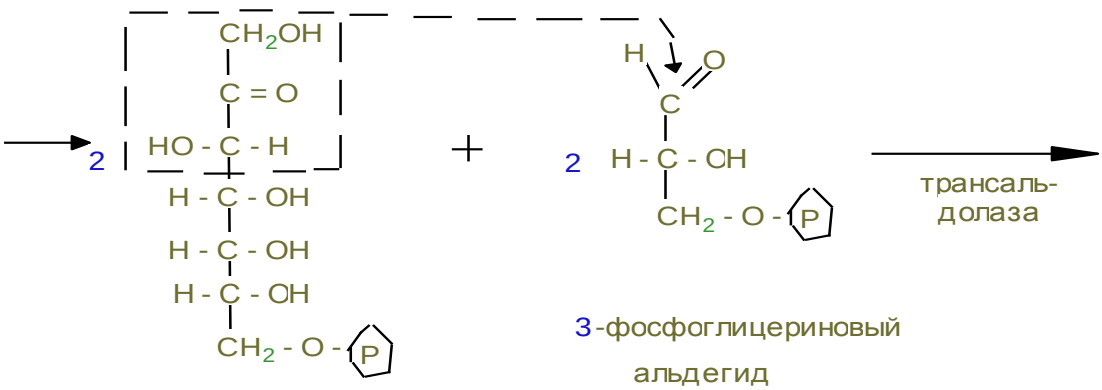
рибулозо - 5 -фосфат ксилулозо- 5 -фосфат



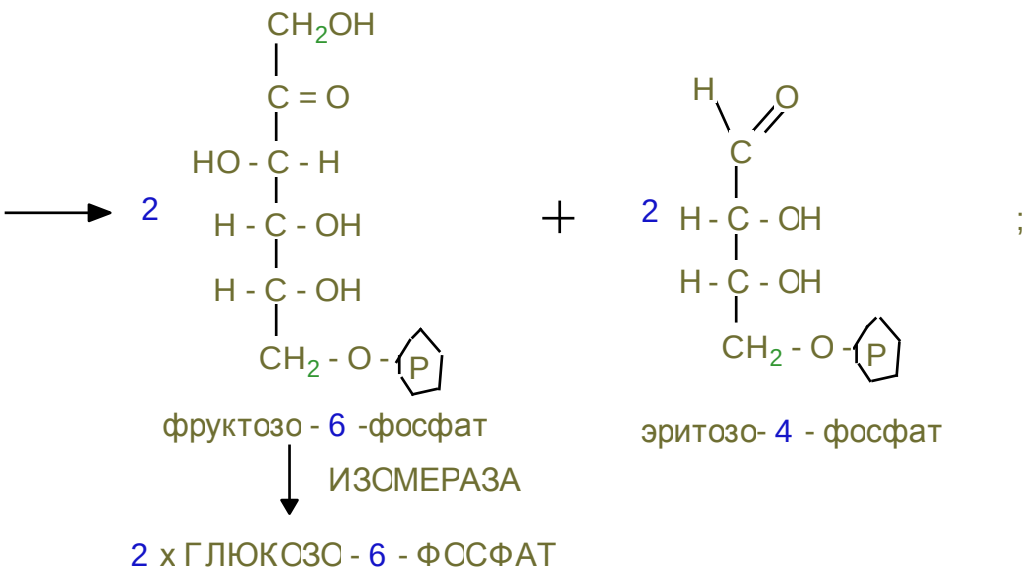
рибулозо - 5 -фосфат рибозо- 5 -фосфат

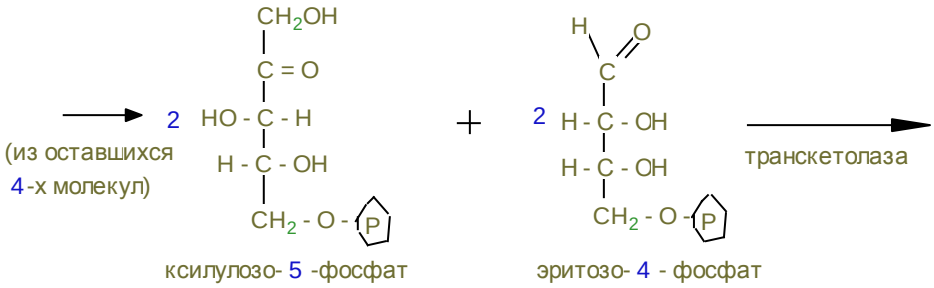


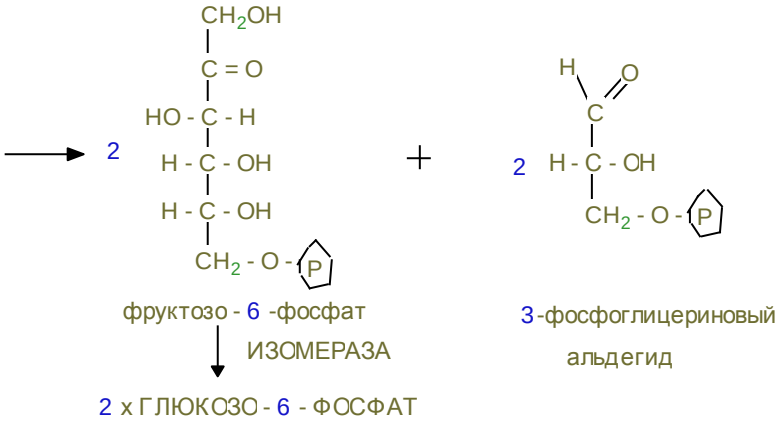
ксилулозо- 5 -фосфат рибозо- 5 -фосфат



сидогептулозо - 7 - фосфат 3-фосфоглицериновый альдегид







16. НАДФН+H^+ предотвращает гемолиз эритроцитов, восстанавливая затраченный глутатион в ликвидации H_2O_2, могущей привести к нарушению мембран эритроцитов.

17. При генетическом дефекте глюкозо6-фосфатдегидрогеназы (дефектный ген особенно распространен в окружении Средиземного моря), количество НАДФН+H^+ уменьшается, ухудшается регенерация окислительного глутатиона, увеличивается количество активных форм O_2. В этом случае – SH гемоглобина окисляются с образованием перекрестных дисульфидных связей и агрегации протомеров гемоглобина с образованием крупных телец Хайнца.

Некоторые лекарства (антибиотики, анальгетики, антипиретики) при своем окислении образуют много H_2O_2 и при недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы проявляется непереносимость их в виде развития гемолитической желтухи.

Лабораторная работа

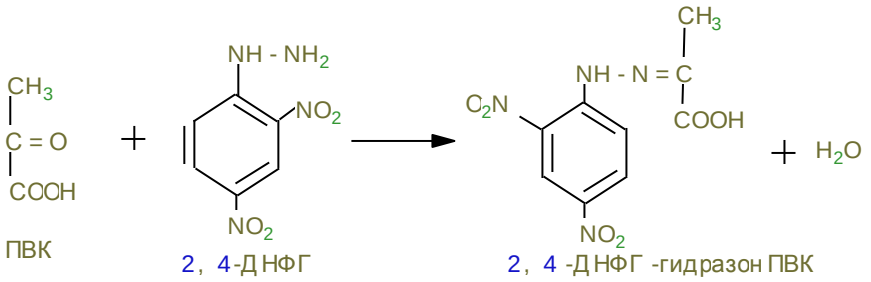
Количественное определение ПВК в моче

В организме человека ПВК образуется в процессе обмена углеводов в качестве промежуточного продукта. В норме в плазме крови содержится 0,8-1,5 мг % ПВК.

При усилении гликолиза происходит накопление пирувата и лактата в крови, что сопровождается обычно изменением кислотно-основного состояния, уменьшением щелочных резервов.

Увеличение содержания лактата и пирувата в крови может наблюдаться также при поражении паренхимы печени (поздние стадии гепатита, цирроз печени) в результате торможения процессов гликонеогенеза в печени. Повышенное количество лактата и пирувата в крови обнаруживается при болезни Гирке чаще всего встречающегося гликогеноза. При авитаминозе и гиповитаминозе B_1 в крови и в других тканях, особенно в мозгу, ПВК накапливается в большом количестве. За сутки с мочой выделяется до 200 мг ПВК.

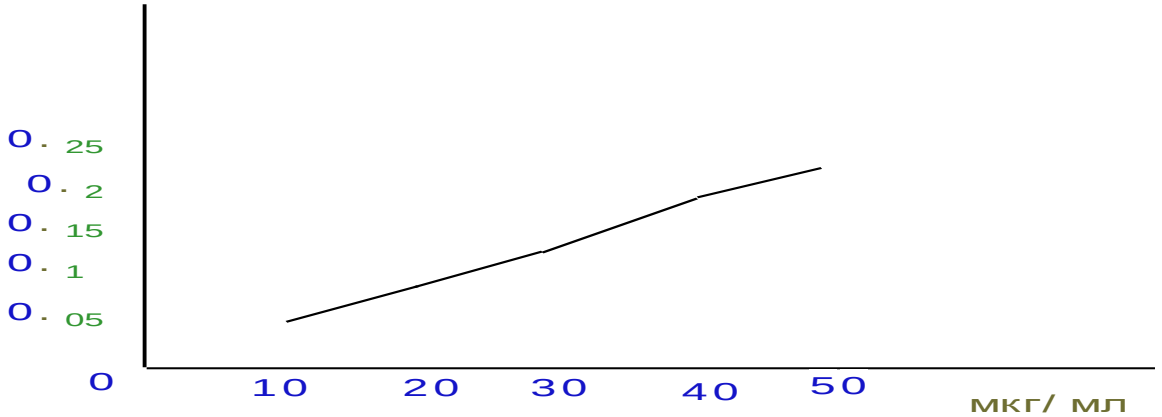
Принцип работы: ПВК с 2,4 – динитрофенилгидразином образует окрашенное соединение 2,4 – динитрофенилгидразон ПВК.



2, 4- ДНФ-гидразин ПВК – желто-оранжевого цвета интенсивность его пропорциональна концентрации ПВК и определяется фотометрически.

Ход работы. Берем 2 пробирки, в контрольную пробирку наливаем по 1 мл воды, в опытные по 1 мл мочи, разбавленной в 2 раза. Затем во все пробирки приливаем по 1 мл 2,5% р-ра КОН, перемешиваем прибавляем по 0,5 мл 1% раствора ДНФГ и оставляем на 15 мин. Фотометруем с синим сфетофильтром.

Расчет. Проводим по калибровочному графику, найденную величину умножают на суточный диурез (1500 мл для мужчин, 1200 у женщин) и получаем количество ПВК в суточной моче.



КДЗ ПВК и лактата:

В крови практически здоровых взрослых людей содержится от 0,0456 ммоль/л (45,6 мкмоль/л, 4 мг/л) – 0,0912 ммоль/л, 8 мг/л) ПВК.

Содержание ПВК увеличивается при гипоксических состояниях, вызванных тяжелыми сердечно-сосудистой, легочной недостаточностью, анемией, остром гепатите, инсулиновой зависимости, сахарном диабете, после введения камфоры, стрихнина и при увеличении физической нагрузки уменьшается до 0,57 ммоль/л и ведет к судорогам.

Увеличение уровня ПВК приводит к B_1-витаминной недостаточности, токсическое действие аспирина вызывает в большой дозе метаболический ацидоз, отравление тяжелыми металлами.

Все факторы, обуславливающие увеличение концентрации ПВК, обычно приводят к увеличению уровня молочной кислоты.

Уровень лактата (МК) в крови увеличивается при гипоксическом состоянии, вызванном развивающимися множественными кровотечениями, острой застойной сердечной недостаточностью.

Особенно много МК накапливается в воспалительных клетках, остром гепатите, инфекционной эпилепсии, увеличении мышечных нагрузок.

Норма составляет 1,0135 ± 0,072 ммоль/л, при выше перечисленных состояниях увеличивается соотношение МК-ПВК, чаще оно составляет 10:1. Норма ПВК составляет 284,2 ммоль/сут или 25 мг/сут.

Контрольные вопросы

1. Напишите уравнение обратной лактатдегидрогеназной реакции, перерисуйте схему цикла Кори.
2. Разберитесь в механизме работы ПДК. Зарисуйте схему процесса.
3. Уясните биохимические механизмы формирования и компенсации кислородной задолжности.
4. Почему после тяжелой физической работы у нетренированных людей появляется одышка?
5. Какие Вы знаете виды декарбоксилирования ПВК? В чем их сущность? В чем сущность механизма пируватдегидрогеназной реакции?
6. Какие коферменты и ферменты участвуют в пируватдегидрогеназной реакции?
7. Почему липоевая кислота является центральным звеном окислительного декарбоксилирования пирувата?
8. Как регулируется ПДК в организме человека?
9. Почему и как по лактату в артериальной и венозной крови можно судить о метаболическом состоянии органа (например мозга)?
10. Какой процесс называют циклом лимонной кислоты или ЦТК? Почему?
11. Какова роль щавелево-уксусной кислоты (ЩУК) в механизме ЦТК? Напишите формулу ЩУК?
12. Каков механизм синтеза ЩУК?
13. Напишите уравнение реакции ЦТК: а) до α – кетоглутаровой к-ты, б) от α – кетоглутаровой кислоты до ЩУК.
14. Напишите итоговое энергетическое уравнение ЦТК.
15. В каких стадиях ЦТК образуется CO_2?
16. Каков механизм окислительного декарбоксилирования α – кетоглутаровой кислоты?
17. Напишите формулы промежуточных метаболитов ЦТК, являющиеся субстратами биологического окисления.
18. Напишите схему окисления в ЦТК, протекающей по укороченной цепи митохондриального окисления.
19. Напишите схему субстратного фосфорилирования, протекающую в ЦТК.
20. Напишите уравнение реакции окислительного фосфорилирования в ЦТК, имеющие: а) Р/0=2, б) Р/0=3.

21. Биологическое значение цикла Кребса (ЦТК).

22. Какие витамины необходимы для протекания реакции ЦТК?

23. Какие промежуточные метаболиты ЦТК используются в процессах синтеза?

24. Какова локализация ферментов ЦТК в клетке?

25. Напишите уравнения реакции окислительной стадии пентозофосфатного пути окисления глюкозы.

26. Какие ферменты и коферменты участвуют в окислительных реакциях?

27. Биологическое окисление, значение пентозофосфатного пути окисления глюкозы.

28. Укажите точку образования НАДФ+H^+ в пентозном пути.

29. Как будет изменяться уровень и артериовенозная разница по лактату к пирувату при гипоксии мозга?

30. Напишите уравнение синтеза лимонной кислоты. Каково энергетическое обеспечение этой реакции?

Нарушения обмена углеводов

Лабораторная работа

Определение содержания глюкозы в крови

I. ***Цель изучения:*** Контроль и закрепление теоретических и практических знаний по обмену углеводов. Помимо рассмотренных на предыдущих занятиях вопросов, *знать* – основные реакции синтеза глюкозы из неуглеводных предшественников (глюконеогенез), челночные механизмы переноса восстановленных эквивалентов в митохондрии, патологические состояния, связанные с нарушениями обмена углеводов.

II. ***Уметь*** определить уровень сахара в крови и использовать состояние гипер- и гипогликемии как диагностический тест при ряде заболеваний, связанных с нарушением функции желез внутренней секреции, печени, почек и др.

III. ***Ответить*** на контрольные вопросы к итоговой работе по теме «Обмен углеводов».

IV. ***Содержание темы*:**

1. Глюконеогенез – процесс синтеза глюкозы из веществ неуглеводной природы. Синтез глюкозы de novo начинается, когда падает уровень глюкозы крови (N-3,3 – 5,5 ммоль/л) в случае использования запасов гликогена в период голодания, интенсивных физических нагрузок, гормональных нарушениях обмена глюкозы.

2. Процесс протекает в основном в печени, менее интенсивно в корковом веществе почек, в слизистой оболочке кишечника. Эти ткани могут обеспечить синтез глюкозы 80-100г в сутки, которая обеспечивает энергетические затраты мозга, эритроцитов, мозгового слоя надпочечников, где не обеспечивают энергией жирные кислоты (мозг) или недостаточен аэробный путь окисления (эритроциты, лишенные митохондрий).

3. Субстратами для глюконеогенеза являются: лактат – продукт анаэробного гликолиза, глицерол, образовавшийся при гидролизе жиров, аминокислоты – результат распада тканевых белков.

4. Большинство реакций глюконеогенеза протекает за счет обратимых реакций гликолиза (см. карточки 1 и 2), однако 3 реакции термодинамически необратимы: образование фосфоенолпирувата (ФЕП), фруктозо-6-фосфата и свободной глюкозы. Эти вещества образуются при действии других ферментов.

5. ФЕП из пирувата образуется в митохондрии, где карбоксилируется до оксалатацетата (ЩУК) витамином «Н» с использованием АТФ (1-я). Процесс идет под действием пируваткарбоксилазы, синтез которой индуцируется кортизолом (стероидным гормоном), активирующим глюконеогенез в печени.

6. Оксалоацитат не способен проходить через митохондриальную мембрану, поэтому восстанавливается в малат (см. реакции ЦТК), который возвращается в цитозоль, где снова окисляется НАД$^+$-ом в ЩУК. В цитозоле под действием фосфоенолпируваткарбоксилазы с участием ГТФ↔АТФ (2-я) оксалоацетат декарбоксилируется (-CO_2) и превращается в ФЕП (фосфоенолпируват).

7. Следующие реакции превращения фосфоенолпирувата катализируются гликолитическими ферментами в обратном направлении через образование 1,3 дифосфосфоглицерата, где затрачивается опять молекула АТФ (3-я) вплоть до фруктозо1,6дифосфата. Здесь идет вторая необратимая реакция под действием фосфатазы с образованием фруктозо6-фосфата и изомерезацией в глюкозо-6 фосфат. Последняя необратимая реакция – потеря H_3PO_4 и образование под действием глюкозо-6фосфатазы чистой глюкозы.

8. Т. о. для синтеза одного моля глюкозы используется 2 моля ПВК и 6 молей АТФ (3×2).

9. Лактат, образовавшийся при интенсивной мышечной работе, с кровью поступает в печень, где превратившись в пируват в результате глюконеогенеза превращаются в глюкозу, которая с кровью поступает в мышцы. Этот цикл – «глюкозно-лактатный» идет при любых состояниях, используется постоянно и называется Циклом Кори.

10. При длительной физической нагрузке, когда идет усиленный липолиз глюконеогенез начинается с глицерина, который сразу преобразуется в глицериновый альдегид и далее через последние 2 необратимые реакции превращается в глюкозу.

11. При распаде тканевых белков до аминокислот, стероидные гормоны индуцирует синтез ферментов, превращающих аминокислоты в щавелевоуксусную кислоту, которая по вышеуказанному механизму, превращается в глюкозу.

12. Челночные механизмы переноса восстановленных эквивалентов в митохондрию существуют для утилизации НАДН+Н$^+$ образованного в аэробном гликолизе при окислении глицеринового альдегида в цитозоле. Митохондриальная мембрана непроницаема для НАДН+Н$^+$, поэтому в цитозоле восстанавливает фосфодигидроксиацетон в липофильный фосфоглицерин, проходящий через мембрану, а в митохондрии идет его окисление но не НАД$^+$-ом, а ФАД-ом, поэтому в энергетическом выигрыше теряется 1 молекула АТФ, чего не происходит в сердечной мышце где работает не глицеро-фосфатный, а малат-аспартатный челнок, связанный с участием аспартата. Это будет рассмотрено в обмене аминокислот.

13. В результате нарушения переваривания углеводов (см. занятие 10), всасывания, патологии ферментов (см. занятие 11) гормональной регуляции, патологически изменяется уровень глюкозы крови, сопровождающейся гипер- или гипогликемией.

14. Гипергликемия возникает при: а) недостаточной продукции инсулина (инсулинзависимый диабет) или понижении его секреции, а также деффектости инсулиновых рецепторов, ускоренном разрушении инсулина (инсулин независимый диабет) характеризующийся полидепсией, полиурией и полифагией. Поздние осложнения диабета будут рассмотрены в главе «Гормоны». б) при повышенной секреции соматропного гормона, аденокортикотропина, который стимулирует синтез кортикоидов. в) при гиперфункции щитовидной железы, усиливающий катаболизм гликогена.

15. Гипогликемия возникает при: а) передозировке инсулина или сульфанилмочевины, активирующей рецепторы инсулина; б) аденоме или карциноме островковых клеток, продуцирующих инсулин; в) нарушении всасывания сахаров и понижение сахарного порога в почках; г) гликогенозах; д) недостаточности надпочечников; д) голодании.

16. Гипоксия нарушает обмен углеводов, т.к. идет анаэробный распад глюкозы и накопление лактата, дефицит АТФ, нарушение работы, Na^+- K^+-АТФ-азы, кальциевой АТФ-азы, повышением перекисного окисления липидов, нарушением мембран и гибелью клеток.

Лабораторная работа

Количественное определение глюкозы в крови глюкозооксидазным методом

Принцип метода.

Метод основан на специфичности действия фермента глюкозооксидазы. Этот фермент окисляет глюкозу в присутствии молекулярного кислорода с образованием глюконолактона, спонтанно гидролизирующегося до глюконовой кислоты. Глюкозооксидаза окисляет глюкозу с образованием пероксида водорода (H_2O_2), который под действием пероксидазы реагирует с 4-аминоантипирином и фенолом. В результате образуется окрашенное в розовый цвет соединение, оптическая плотность которого при 510 нм пропорциональна концентрации глюкозы в образце.

$$\text{глюкоза} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\textit{глюкозооксидаза}} \text{глюконовая кислота} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{4-аминоантипирин} + \text{фенол} \xrightarrow{\textit{пероксидаза}} \text{хинонимин} + 4H_2O$$

Оборудование: КФК, центрифуга, термостат, штативы, пробирки, пипетки, биологический материал, реактивы содержащиеся в рабочем растворе.

Ход работы

	пробирки		
	опытная проба, мл	стандартная проба, мл	холостая проба (H_2O), мл
Сыворотка крови	0,02	--	--
Калибровочный раствор глюкозы (эталон)	---	0,02	---
Рабочий раствор	4	4	4

Пробирки инкубируют в термостате при 37°С 15 минут, затем колориметрируют на КФК при зелёном светофильтре в кюветах с толщиной слоя 5 мм против холостой пробы (H_2O). Розовая окраска устойчива в течение 1 часа после инкубации.

Расчет содержания глюкозы производят по формуле:

$$C = \frac{Eоп}{Eст} \times C\ \text{стандарт},$$

где С – содержание глюкозы в опытной пробе, моль/л;

Eоп – оптическая плотность пробы;

Eст – оптическая плотность калибровочной пробы;

С стандарт – содержание в калибровочном растворе, моль/л.

Нормальные величины:

- новорожденные – 2,8-4,4 ммоль/л
- дети – 3,9 -5,8 ммоль/л
- взрослые **- 3,9 - 6,2 ммоль/л**

Клинико-диагностическое значение

Гипергликемия (ГГК).

Повышение уровня глюкозы в крови обусловлено множеством причин, в соответствии с которыми различают две группы гипергликемии.

1. Инсулярные – связанные с недостаточным содержанием в организме инсулина или обусловленные неэффективностью его действия.

2. Экстраинсулярные (внеинсулярные) – не зависят от влияния инсулина.

Наиболее существенное значение в формировании ГГК имеют следующие процессы: усиленный распад гликогена; повышенный неоглюкогенез; торможение синтеза гликогена; снижение утилизации глюкозы тканями под влиянием гормональных антагонистов инсулина: соматотропина, глюкортикоидов, тироксина, тиреотропина.

Алиментарные гипергликемии отмечают при избыточном поступлении глюкозы в кровь (например, гипергликемия при сахарной нагрузке). «Печеночные» гипергликемии встречаются при диффузных поражениях печени.

Стойкая и выраженная гипергликемия чаще всего сопровождает сахарный диабет. Принято выделять инсулинзависимый сахарный диабет и инсулиннезависимый сахарный диабет, или, соответственно, сахарный диабет I типа и сахарный диабет II типа. Формирование сахарного диабета I типа связано, прежде всего, с нарушениями синтеза и обмена инсулина.

Вторая группа гипергликемий связана, прежде всего, с гиперфункцией эндокринных желез, продуцирующих гормоны – антагонисты инсулина. Она наблюдается при таких заболеваниях, как синдром и болезнь Иценко-Кушинга, акромегалия, тиреотоксикоз, феохромоцитома, глюкоганома.

Уровень глюкозы в крови повышается и при некоторых заболеваниях печени (в частности, у 10-30% больных циррозом печени), гемохроматозе (пигментном циррозе печени, бронзовом диабете).

Гипогликемия (ГПГ) – снижение содержания глюкозы в крови – чаще всего связана с абсолютным или относительным повышением уровня инсулина в крови. Внепанкреатическая гипогликемия отмечается в результате нарушения баланса между выраженностью процессов гликогенолиза и гликонеогенеза в печени при острых и хронических гепатитах, циррозах, острой и подострой дистрофии печени, алкогольной интоксикации, отравлениях мышьяком, фосфором, при длительной механической желтухе, застойной печени, первичном или метастатическом раке печени. Снижение концентрации глюкозы в крови часто наблюдается у больных, страдающих раком пищевода и другими злокачественными опухолями внепанкреатической локализации (фиброма, фибросаркома, нейрома), а также при неукротимой рвоте, анорексии, печеночном диабете, уремии, обильной лактации и глюкозурии у беременных.

Гипогликемия может быть центрального происхождения вследствие перенесенных психических травм, энцефалита, субарахноидального кровоизлияния, опухоли мозга.

Контрольные вопросы

1. Наследственные нарушения переваривания углеводов.

2. Какие виды гиперглюкоземии вам известны?

3. Каковы причины патологической гиперглюкоземии?

4. В чем причина возникновения инсулинзависимого сахарного диабета?

5. Каковы биохимические причины возникновения наследственных заболеваний:

а) гликогенозов?

б) агликогенозов?

в) фруктоземии?

г) галактоземии?

6. Каковы биохимические изменения углеводного обмена при голодании?

7. Принцип метода определения толерантности к глюкозе.

Итоговая работа по теме «Обмен углеводов»

1

1. Напишите формулы углеводов, имеющих пищевое значение. Суточные нормы углеводов в питании. Какие ткани организма особенно остро нуждаются в углеводах, как источнике энергии?

2. Понятие о гликолизе и гликогенолизе. Сходство и отличие. Напишите уравнения реакций активирования углеводов этих процессов.

3. Напишите уравнения обратимой лактатдегидрогеназной реакции и назовите ее значение в цикле Кори.

2

1. Механизм цикла ди- и трикарбоновых кислот.

2. Установите соответствие

Этапы катаболизма глюкозы:

А. фруктозо-1,6-бифосфат→2•1,3-бисфосфоглицерат

Б. пируват→ацетил-КоА

В. фосфоенолпируват→лактат

Г. 3фосфоглицерат→ фосфоенолпируват

Д. глюкоза→глюкозо-6-фосфат

Характеристика:

1. происходит дегидрирование и декарбоксилирование

2. включает субстратное фосфорилирование АДФ

3. сопряжен с синтезом 6 молей АТФ в аэробных условиях

3. Рассчитайте сколько ккал (кДж) энергии в среднем получает человек в сутки за счет утилизации углеводов пищи (500г).

3

1. Моносахариды. Биологическое значение. Напишите формулы глюкозы, фруктозы, рибозы.
2. Что такое глюконеогенез? Напишите уравнения необратимых реакций.
3. Каковы механизмы формирования и компенсации «кислородной задолжности» Почему после тяжелой физической работы у нетренированных людей появляется одышка.

4

1. Назовите ферменты амилолитического действия. Изобразите схемой действие амилазы.
2. Какой фермент и какой кофермент участвует в окислительной реакции гликолиза? Изобразите схему действия этого фермента.
3. При отщеплении аминогруппы аланин превращается в пируват, который включается в процесс гликонеогенеза. Составьте схему синтеза глюкозы из аланина, расположив перечисленные компоненты в необходимой последовательности.

1. ала
2. пируват
3. диоксиацетонфосфат
4. фруктозо-1,6-дифосфат
5. глюкозо-6-фосфат
6. оксалоацетат
7. фруктозо-6-фосфат
8. фосфоенолпируват
9. глицеральдегидфосфат
10. 1,3-дифосфоглицерат
11. 2-фосфоглицерат
12. 3-фосфоглицерат
13. глюкоза

Напишите формулами реакцию, протекающую с затратой энергии ГТФ. Укажите фермент.

5

1. Где на протяжении желудочно-кишечного тракта человека происходит переваривание углеводов? Какой опыт вы проделали в лаборатории?
2. Схема гликолиза и его биологическое значение.
3. Почему и как по лактату и пирувату в артериальной и венозной крови можно судить о метаболическом состоянии мозга?

6

1. Напишите уравнения реакций, характеризующих переваривание углеводов: а) в ротовой полости; б) в кишечнике.
2. Какие вы знаете виды декарбоксилирования пирувата? Назовите соответствующие процессы.
3. Почему из ацетил-КоА нельзя синтезировать глюкозу?

7

1. Как происходит всасывание продуктов переваривания углеводов?
2. В чем сходство и различие между гликолизом и спиртовым брожением? Отличительные реакции изобразите в виде уравнений.
3. Какова роль ЩУК в механизме ЦТК? Механизм синтеза ЩУК.

8

1. Что такое анаболизм, катаболизм и метаболизм углеводов?
2. Ферменты анаэробного гликолиза:

А. фосфофруктокиназа

1. катализирует реакцию с затратой АТФ

Б. пируваткиназа

2. фосфорилирует АДФ

В. оба

3. Катализирует необратимую реакцию

Г. ни один

4. катализирует реакцию дегидрирования

3. Что такое глюконеогенез? Напишите реакции биосинтеза глюкозы из молочной кислоты.

9

1. Написать реакции синтеза гликогена из глюкозы.
2. Что такое эффект Пастера? Дать соответствующее уравнение реакции.
3. Написать уравнения реакции окисления в ЦКТ, протекающей по укороченной цепи митохондриального окисления.

10

1. Транспорт глюкозы в клетке слизистой оболочки кишечника происходит:

А. Через 3-5 ч после приема пищи;

Б. Путем активного транспорта, когда ее концентрация в просвете кишечника меньше, чем в клетках;

В. Путем простой диффузии, если ее концентрация в клетках низкая;

Г. с участием Na^+, K^+ - АТФ-азы.

2. Объясните роль УТФ в биосинтезе гликогена. Дайте соответствующие уравнения реакций.
3. Напишите схему субстратного фосфорилирования ЦТК.

11

1. Какие органы и ткани наиболее богаты гликогеном и где его меньше всего? Гликогенозы.
2. Напишите уравнение окислительного фосфорилирования в ЦТК имеющее: а) р/о= 2, б) р/о = 3. Биологическое значение цикла Кребса.
3. У больного наблюдалась выраженная гипоглюкоземия натощак. При исследовании биоптата печени оказалось, что синтез гликогена из глюкозо-6-фосфата в клетках не происходит. Выберите из перечисленных ниже ферментов те, недостаточная активность которых может быть причиной заболевания:

1. фосфорилаза
2. фруктозодифосфатаза
3. гликогенсинтаза
4. УДФ-глюкопирофосфорилаза
5. пируваткарбоксилаза
6. глюкокиназа
7. глюкозо-6-фосфатаза
8. фосфоглюкомутаза

12

1. Как происходит образование глюкозы из гликогена. Напишите уравнения реакций.
2. Какие витамины необходимы для протекания реакций ЦТК? Напишите формулы.
3. Назовите ферменты глюконеогенеза и реакции, катализируемые ими.

13

1. Выберите ферменты, расщепляющие связь между мономерами:

А. глк-(α 1,4) Глк	1. мальтаза
Б. глк-(β 1,4) Глк	2. изомальтаза
В. глк-(α 1,6) Глк	3. лактаза
Г. глк-(α, β 1,4) Фру	4. сахараза

2. Назовите ферменты амилолитического действия. Напишите уравнения соответствующих реакций.
3. Какие промежуточные метаболиты ЦТК используются в процессах синтеза. Формулы.

14

1. Что энергетически выгоднее для организма: окисление одной молекулы свободной глюкозы или окисление одного глюкозного остатка до CO_2 и H_2O? Почему?
2. Один спортсмен пробежал на соревнованиях дистанцию 100 м, другой – 5000 м. У кого из них выше содержание молочной кислоты в крови?
3. Челночные механизмы переноса водорода из цитозоля в митохондрии (глицерофосфатный челночный механизм), понятия о других механизмах.

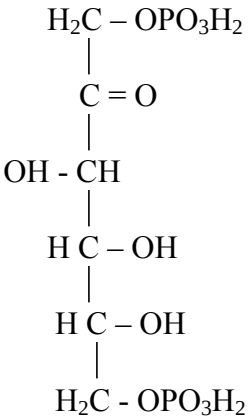
15

1. Выберите один неправильный ответ. Крахмал:

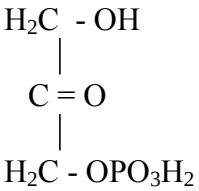
А. Построен из остатков глюкозы;
Б. Содержит мономеры, связанные α-1,6-гликозидной связью;
В. Имеет линейное расположение мономеров;
Г. Поступает в организм в составе растительной пищи;
Д. Является формой депонирования глюкозы в клетках растений.

2. При изучении гликолиза в эксперименте в качестве субстрата использовали глюкозу, меченную в положении ′С. Определите, в каком положении окажется метка в соединениях, формулы которых приведены ниже:

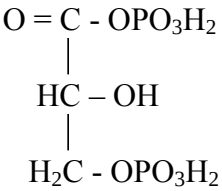
1.



2.



3.



3. Будет ли протекать глюконеогенез, если в клетке цитратный цикл и ЦПЭ полностью ингибированы? Ответ поясните. Для этого:

А. напишите схему глюконеогенеза;
Б. укажите скорость каких реакций этого процесса будет снижена и почему.

ОБМЕН ЖИРОВ

Цель изучения:

I. **<u>Знать</u>** классификацию, строение, физико–химические свойства, биологические функции жиров. Знать процессы переваривания и всасывания жиров, реакции β-окисления и биосинтеза жирных кислот, образование и использование кетоновых тел, регуляцию биосинтеза и распада жиров.

II.

<u>Уметь</u> определять содержание триглицеридов в сыворотке крови и обнаружить кетоновые тела в биологических жидкостях.

III. **<u>Заполнить контурные карты:</u>**

1) Важнейшие жирные кислоты

Насыщенные жирные кислоты

Общая формула насыщенных кислот $C_nH_{2n+1}COOH$

Пальмитиновая: $C_{15}H_{31}COOH$ или $CH_3(CH_2)_{14}COOH$

Стеариновая: $C_{17}H_{35}COOH$ или $CH_3(CH_2)_{16}COOH$

Ненасыщенные жирные кислоты

Производные стеариновой кислоты: олеиновая, линолевая, линоленовая.

Олеиновая (с одной двойной связью Δ 9-10):

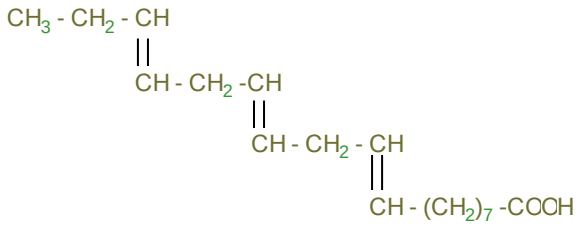
$C_{17}H_{33}COOH$ или $CH_3 – (CH_2)_7 – CH = CH – (CH_2)_7$- COOH

Линолевая (с двумя двойными связями Δ 9-10; Δ 12-13):

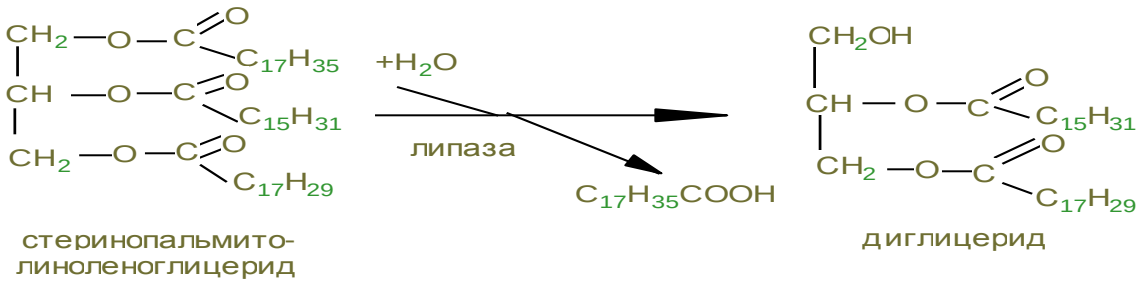
$C_{17}H_{31}COOH$ или $CH_3 – (CH_2)_4 – CH = CH – CH_2 – CH = CH$ - $(CH_2)_7$- COOH

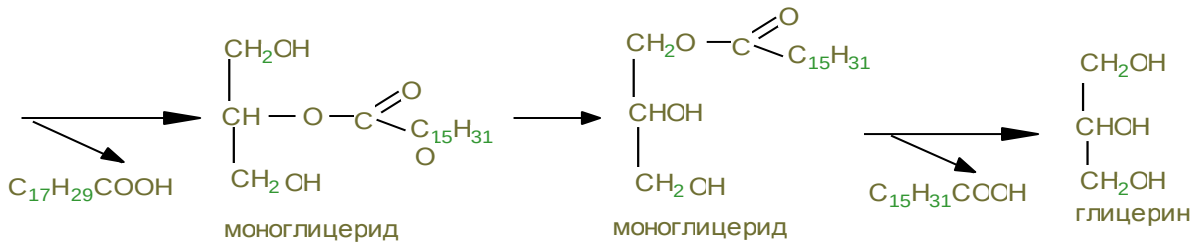
Линоленовая (с тремя двойными связями Δ 9-10; Δ 12-13; Δ 15-16):

$C_{17}H_{29}COOH$ или



2) Гидролиз триглицеридов

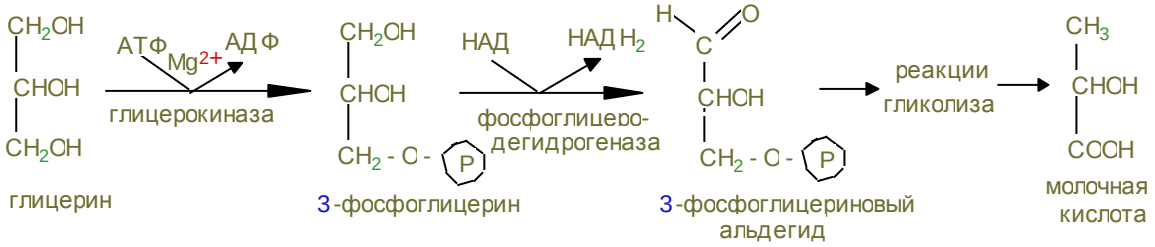




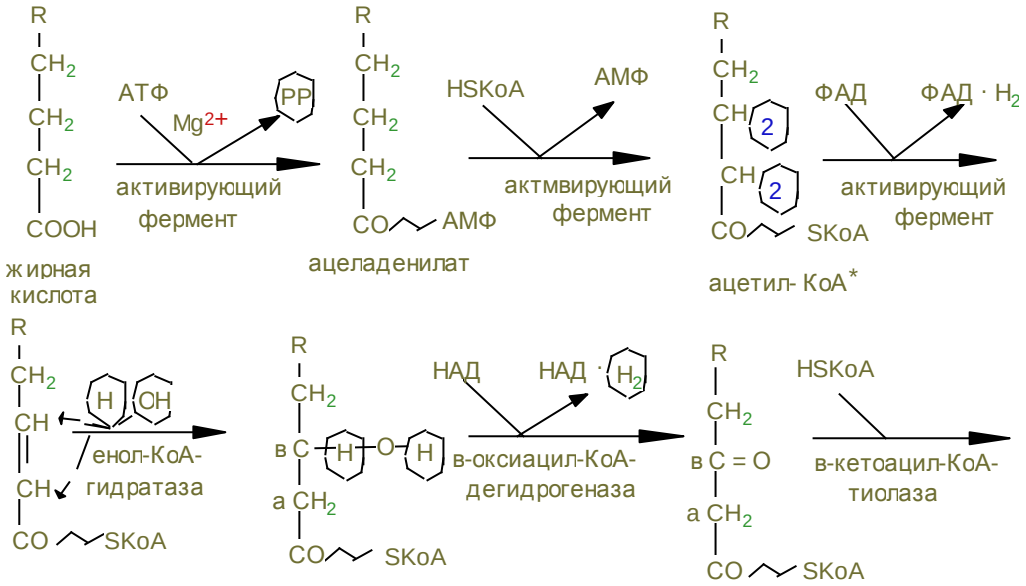
+ R –COOH

Жирные кислоты: $C_{17}H_{35}COOH$ *стеариновая;* $C_{15}H_{31}COOH$ *пальмитиновая;* $C_{17}H_{29}COOH$ *линоленовая.*

3) Распад глицерина

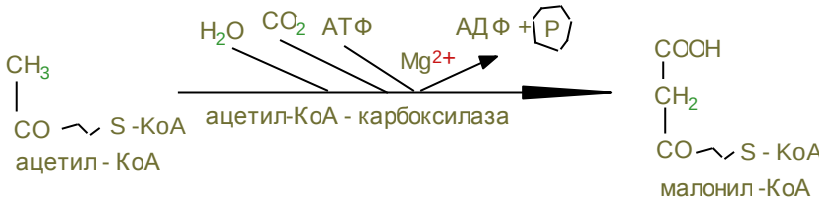


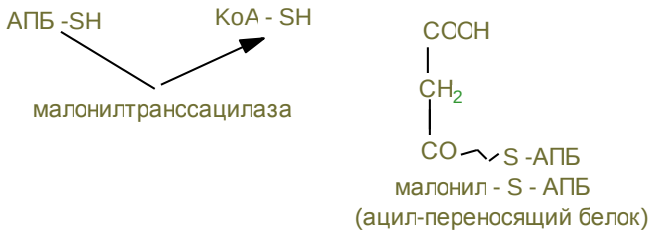
4) β-окисление жирных кислот



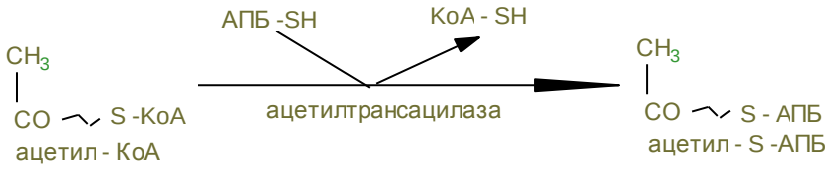
5) Биосинтез жирных кислот

1.

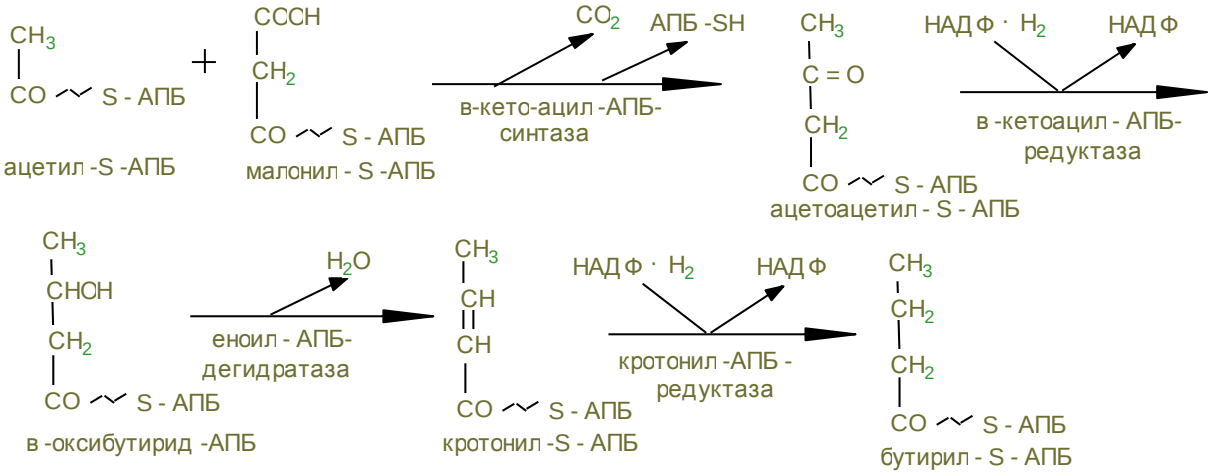




2.

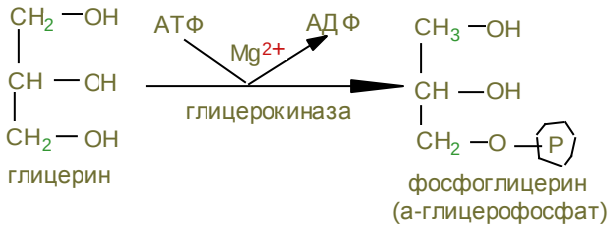


3.



6) Биосинтез триглицеридов

- Активирование глицерина:

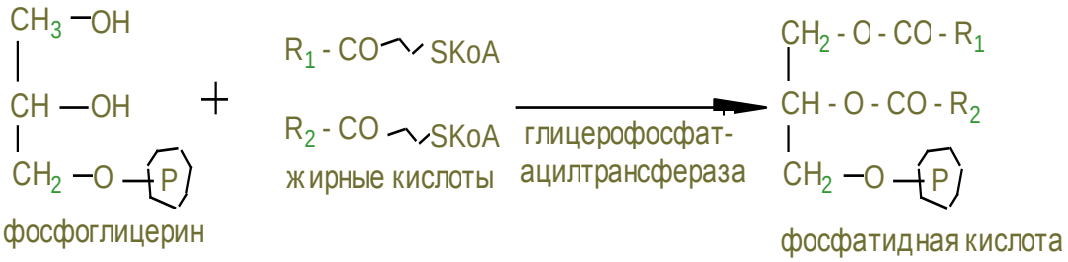


- Активирование жирных кислот:

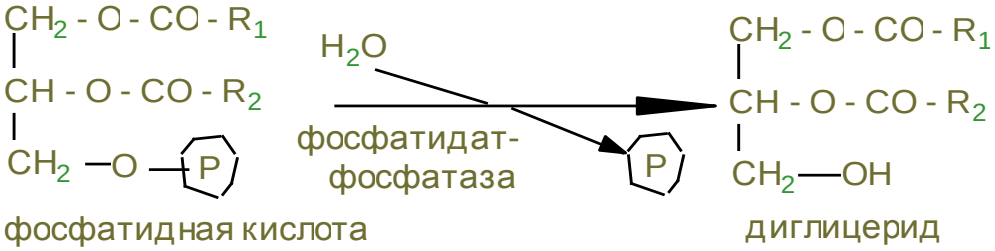
$$R - COOH + HSKoA \xrightarrow{\text{специфический фермент}} R - CO \sim SKoA$$

жирная кислота АЦИЛ КоА активная жирная к-та

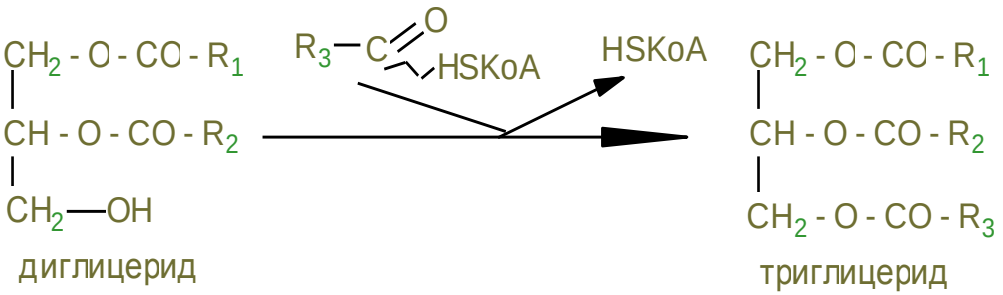
- Образование фосфатидной кислоты (конденсация фосфоглицерина и АЦИЛ КоА):



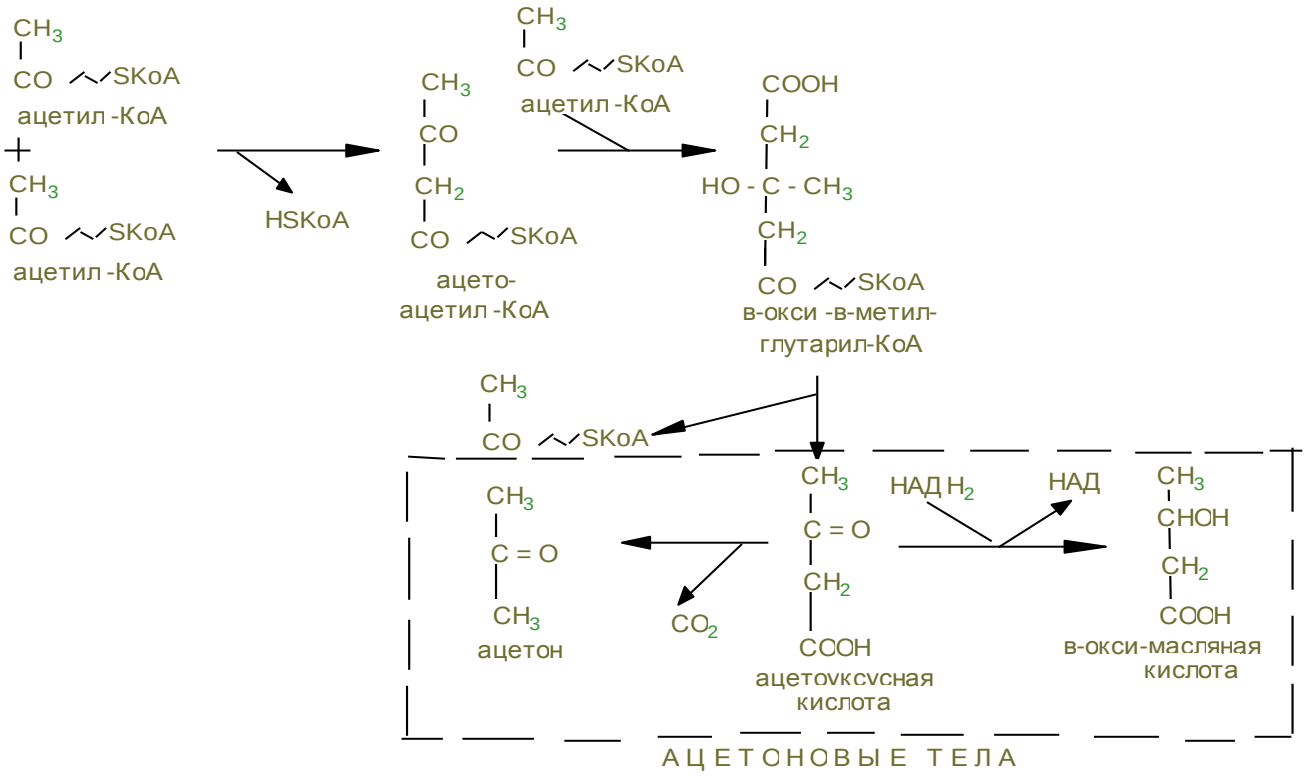
- Отщепление фосфорной кислоты → образование диглицерида:



- Присоединение третьей жирной кислоты → образование триглицерида



7) Синтез кетоновых тел



IV. <u>Содержание темы:</u>

1. Процесс переваривания липидов у взрослых людей происходит в верхних отделах тонкого кишечника.

2. В процессе переваривания и всасывания липидов важную роль играют парные желчные кислоты и панкреатическая липаза.

3. Из всосавшихся компонентов липидов в стенке кишечника синтезируются специфические для данного организма жиры.

4. Ресинтезированные в эпителиальных клетках триацилглицеролы и фосфолипиды, а также поступивший в клетки холестерин образует вместе с белками комплексы – хиломикроны и ЛОНП (липопротеины очень низкой плотности), диффундирующие в лимфатическую систему, а из нее в кровяное русло.

5. Изучение строения и значение плазменных липопротеинов ЛОНП, липопротеинов низкой плотности ЛНП, липопротеинов высокой плотности ЛВП.

6. Распад глицерина происходит в цитозоле до глицеринового альдегида и далее по гликолитическому пути до лактата в анаэробных условиях и до CO_2 и H_2O через ПВК → ацетил~koA, который в аэробных условиях «сгорает» в ЦТК. Одновременно он является сырьем для глюконеогенеза.

7. β-окисление высших, жирных кислот происходит в митохондриях.

8. Пусковой реакцией β-окисления является активирование жирной кислоты путем образования ацетил~koA.

9. Карнитин переносит в митохондриальный матрикс активированные жирные кислоты с длинной цепью.

10. Один цикл β-окисления включает в себя реакции, приводящие к отщеплению от жирной кислоты двухуглеродного фрагмента в виде ацетил~koA.

11. В каждом цикле β-окисления происходит две реакции дегидрирования, сопряженные с митохондриальной ЦПЭ и синтезом 5 молекул АТФ.

12. Образовавшийся ацетил~koA подвергается окислению в ЦТК (12АТФ).

13. Энергетический эффект окисления жирной кислоты зависит от ее длины (n- число С) и составляет [5(n/2-1) + n/2×12]-2, т.к. 2АТФ используется для активации жирной кислоты.

14. Синтез жирных кислот происходит из ацетил~koA.

15. Ацетил~koA не может диффундировать в цитозоль. В роли переносчика вступает цитрат, который в цитозоле расщепляется на ЩУК и ацетил~koA цитратлиазой.

16. Синтез жирных кислот происходит при участии мультиэнзимного комплекса – синтетазы высших жирных кислот (СВЖК), где промежуточные продукты ковалентно связаны с сульфидрильными группами ацетилпереносящего белка (АПБ)

17. Активированным донором для растущей цепи жирных кислот служит малонил koA.

18. После конденсации малонил koA с ацетил~koA, идут реакции, обратные β-окислению, где роль восстановителя играет НАДФН+H^+.

19. Элонгация цепи жирных кислот останавливается на стадии образования пальмитата. Дальнейшая элонгация осуществляется другими ферментными системами в митохондриальном матриксе.

20. Биосинтез жиров из глицерина и жирных кислот происходит в печени через фосфатидную кислоту. В жировой ткани, где отсутствует глицерол-киназа, жирные кислоты присоединяются сразу к фосфоглицерину, образовавшемуся из фосфоглицеральдегида-метаболита глюкозы, переносимой ГЛЮТ-4 из плазмы крови под действием инсулина.

21. При отсутствии инсулина, гормоны адреналин и глюкагон по аденилатциклазной системе активируют гормон-чувствительную липазу и стимулируют липолиз в жировой ткани.

22. Инсулин, индуцируя синтез фосфодиэстеразы, оказывает противоположное действие адреналину и глюкагону действие на липолиз. В абсорбтивный период активирует ферменты гликолиза, в результате дефосфорилирования, индуцирует синтез пальмитатсинтазы, активирует ЛП-липазу, в конечном итоге – интенсифицирует биосинтез жиров из углеводов.

23. Нарушения обмена липидов связаны с избыточным накоплением жира в адипозитах (ожирение), нарушением всасывания (стеаторея), дефектами апобелков транспортных форм липидов (Апо-В-48, протеины СII, Е), эндокринными заболеваниями (диабет, гипотиреоз, синдром Иценко-Кушинга.

Лабораторная работа

Определение концентрации триглицеридов в сыворотке крови

Цель занятия:

Закрепление теоретических знаний и приобретение навыков самостоятельной работы.

Знать:

1. Патология жирового обмена.
2. Роль триглицеридов.
3. Понятие о гиперлипопротеидемии.
4. Регуляция липидного обмена.

Уметь:

1. Работать с КФК.
2. Выполнить методику определения содержания триглицеридов в сыворотке крови ферментативным методом.

Принцип метода

Триглицериды в пробе определяются с помощью каскада реакций, описанных ниже, которые приводят к образованию окрашенного комплекса, количество которого может быть измерено спектрофотометрически.

$$\text{триглицериды} + H_2O \xrightarrow{\textit{липаза}} \text{глицерол} + \text{жирные кислоты}$$

$$\text{глицерол} + \text{АТФ} \xrightarrow{\textit{глицерол}\ \textit{киназа}} \text{глицерол-3-ф} + \text{АДФ}$$

$$\text{глицерол-3-ф} + O_2 \xrightarrow{\textit{Г-З-Ф-оксидаза}} \text{дигидрооксиацетон-ф} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-аминоантипирин} + \text{4-хлорфенол} \xrightarrow{\textit{пероксидаза}} \text{хинонеимин} + 4H_2O$$

Реактивы: основной реагент, стандарт триглицеридов С тг = 2,44 ммоль/л.

Приготовление реагента: реагент и стандарт поставляются в готовом к употреблению виде.

Ход работы 1. Доведите реагент до комнатной температуры.

2. Внесите пипеткой в маркированные пробирки (примечание 1).

	Контроль	Стандарт (Ст)	Образец (О)
Стандарт	___	0,05 мл	___
Образец	___	____	0,05 мл
Реагент	5 мл	5 мл	5 мл

3. Тщательно смешайте, инкубируйте пробирки 15 мин при комнатной температуре (16-25 ^{o}C).

4. Учитывайте абсорбцию (Е) стандарта и образца при 490 нм по отношению к контролю. Цвет стабилен минимум в течение 2 часов.

Концентрация триглицеридов в образце вычисляется по следующей формуле:

$$C_{\text{триглицеридов}} = \frac{Eon}{Ecm} \text{ x Сст, где}$$

$C_{тр}$ – концентрация триглицеридов в сыворотке крови; Eon – экстинкция опытной пробы;

Ест – экстинкция стандартной пробы; Сст – концентрация стандартного раствора в моль/л.

Клинико-диагностическое значение Гипертриглицеридемия бывает физиологическая, алиментарная, эмоциональная. Определение уровня триглицеридов имеет наибольшее значение для типирования гиперлипидемии. Симптоматические гипертриглицеридемии отмечаются при вирусом гепатите, панкреатитах, нефротическом синдроме, гипертонии, атеросклерозе, остром инфаркте миокарда, при гипотиреозе, сахарном диабете, подагре, при алкоголизме.

Нормы (в моль/м):

Возраст	мужчины	женщины
16 -19 лет	0,45 -1,84	0,45 – 1,45
20 -29 лет	0,5 – 1,9	0,45 – 1,45
30 -39 лет	0,55 – 2,1	0,43 – 1,81

Кетоновые тела. Реакция образования йодоформа

1.В щелочной среде йод взаимодействует с ацетоном, образуя йодоформ, который обнаруживают по характерному запаху и иногда – по появлению мути, возникающей вследствие плохой растворимости йодоформа в воде:

$$CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_3 + 3I_2 + 4NaOH \rightarrow 3H_2O + 3NaI + CHI_3 + CH_3COONa$$

Для выполнения реакции в пробирку к 3 мл мочи добавляют по 5 капель реактива Люголя и 10% гидроксида натрия. Содержимое пробирки перемешивают и отмечают результат.

2. В щелочной среде кетоновые тела дают с нитропрусидом натрия оранжево-красную окраску. Уравнение химической реакции следующее:

$$CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_3 + Na_2[Fe(CN)_5NO] + 2NaOH \rightarrow H_2O + Na_4[Fe(CN)_5NO{=}CHCOCH_3]$$

При добавлении к реакционной смеси концентрированной уксусной кислоты образуется соединение, окрашенное в темно-красный цвет. Уравнение реакции:

$$Na_4[Fe(CN)_5NO{=}CHCOCH_3]+CH_3COOH\rightarrow$$

$$\rightarrow Na_3[Fe(CN)_5NOCH_2COCH_3]+CH_3COONa$$

Клинико-диагностическое значение

При внутриклеточном дефиците глюкозы происходит избыточное образование кетоновых тел. Это наблюдается при сахарном диабете, а также при малоуглеводной диете, богатой жирами, при длительном голодании (более 2-5 суток). Если в норме за сутки с мочой выводится около 40 мг кетоновых тел, то при сахарном диабете содержание ацетоновых тел в суточной порции мочи может доходить до 10-50 г и более.

Контрольные вопросы по теме

1. Какая химическая связь характерна для нейтральных жиров?
2. Какую роль в организме выполняют липиды?
3. Какова биологическая роль ненасыщенных жирных кислот?
4. Где происходит процесс переваривания липидов и какие ферменты в этом участвуют?
5. Какую роль в процессах переваривания и всасывания выполняют желчные кислоты?

6. Что понимают под названием «транспортные формы липидов»?

7. Чем отличается процесс переваривания липидов от переваривания углеводов?

8. Как используются продукты переваривания липидов после всасывания?

9. На каком клеточном уровне происходит процесс окисления высших жирных кислот?

10. Какую роль в процессе окисления жирных кислот выполняет карнитин? Напишите их взаимодействие.

11. Напишите реакцию активации жирных кислот.

12. Чем отличается процесс окисления ненасыщенных жирных кислот от насыщенных?

13. Напишите химизм реакции образования свободной ацетоуксусной кислоты и какова ее дальнейшая утилизация?

14. Что входит в понятие ацетоновые тела, напишите химизм образования их.

15. При каких метаболических нарушениях наблюдается ацетонурия?

16. Напишите химизм образования малонил-КоА. Для чего он используется?

Напишите процесс синтеза масляной кислоты.

17. Напишите процесс удлинения углеродной цепи бутирил-АПБ.

18. Посчитайте сколько молекул малонил-КоА необходимо для синтеза стеариновой кислоты.

19. Сколько молекул восстановленных коферментов НАДФ $H+H^+$ необходимо для синтеза стеариновой кислоты?

Обмен жироподобных веществ

(Холестерин и фосфатиды)

I. ***Цель изучения:*** знать классификацию, строение, функции холестерола и фосфатидов, понятия о их синтезе, участие в обмене веществ, транспортных формах, молекулярных причинных патологий метаболизма этих веществ.

II. Уметь определить содержание ЛНП в сыворотке крови, как основного донора холестерина в клетки; познакомиться с выявлением фосфолипаз в дуоденальном содержимом, проделать качественную реакцию на наличие желчных кислот в желчи.

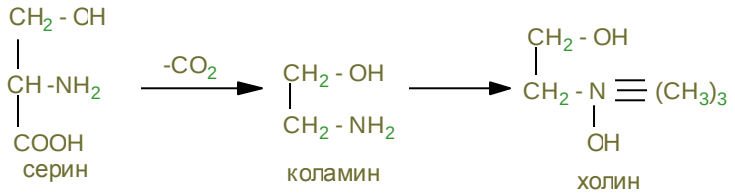
III. Заполнить контурные карты:
1) классификация фосфатидов; 2) химия фосфатидов; 3) распад лецитина;
4) биосинтез лецитина; 5) стерины и стериды; 6) биосинтез холестерина; 7) желчные кислоты.

IV. Ответить на контрольные вопросы к занятию.

V. Содержание темы:

1. Фосфолипиды, имея в своем составе полярные и неполярные компоненты, являются идеальными структурными единицами мембран.

Азотистые основания, входящие в состав фосфатидов (схема)

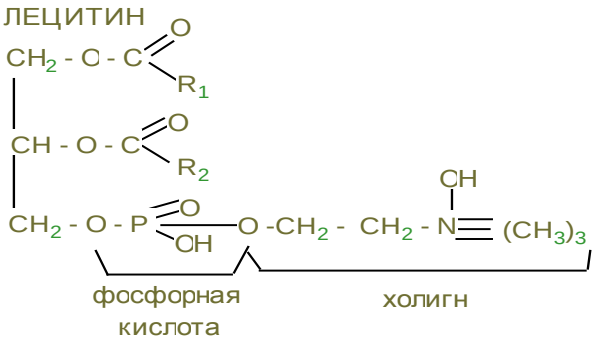


Фосфатиды всегда содержат жирные кислоты и фосфорную кислоту, но отличаются по азотистому основанию и спирту:

название фосфатидов	азотистые основания	спирт
лецитины (холинфосфатиды)	холин	глицерин
кефалины (этаноламинфосфатиды)	этаноламин=коламин	глицерин
серинфосфатиды	серин	глицерин
ацетальфосфатиды	этаноламин или холин (или серин)	глицерин
сфингомиелины	холин	сфингозин
инозитфосфатиды	этаноламин	инозит

Химия фосфатидов

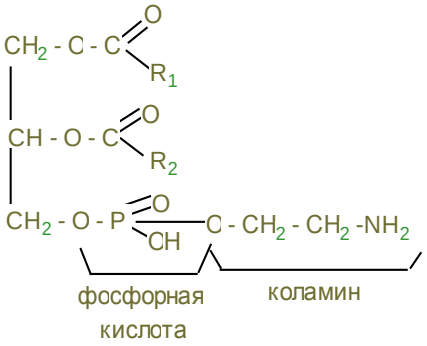
ЛЕЦИТИН



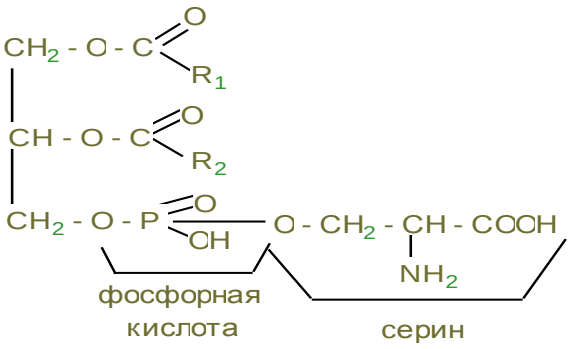
R_1 -насыщенная жирная кислота

R_2 - ненасыщенная жирная кислота

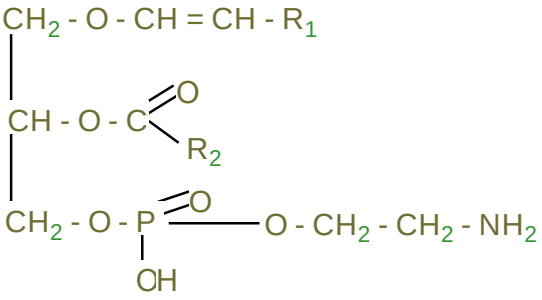
КЕФАЛИН



СЕРИНОФОСФАТИД

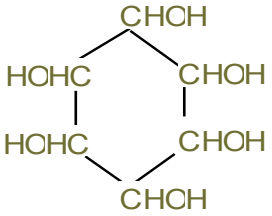


АЦЕТАЛЬФОСФАТИД



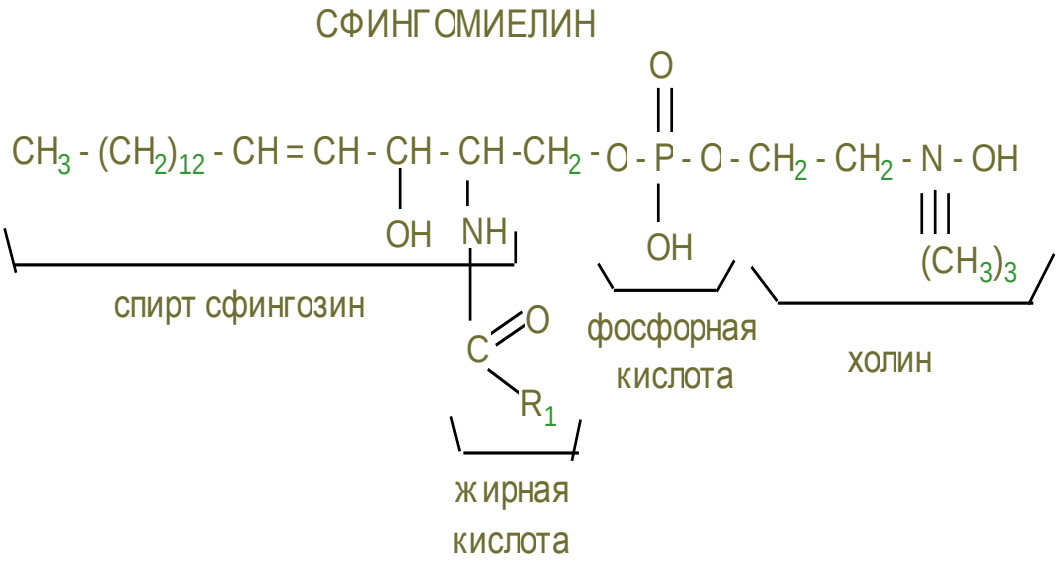
ИНОЗИТФОСФАТИД

структурные компоненты

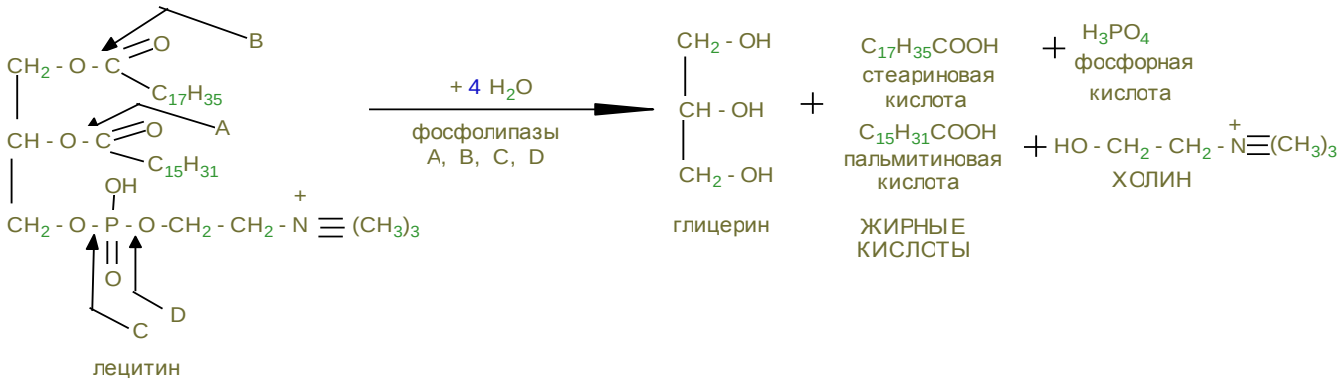


инозит
(шестиатомный спирт)

H_3PO_4
жирная кислота
коламин
глицерин
и др.



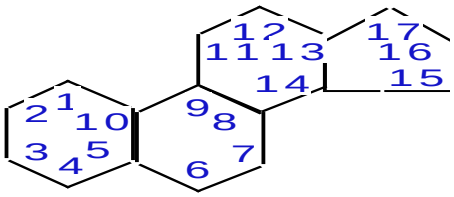
2. **При переваривании фосфолипидов,** кроме жирных кислот и глицерина образуются специфические аминоспирты и фосфорная кислота в результате действия фосфолипаз.



3. Эфиры холестерина тоже гидролизуются холестеролэстеразами до холестерина и жирных кислот.

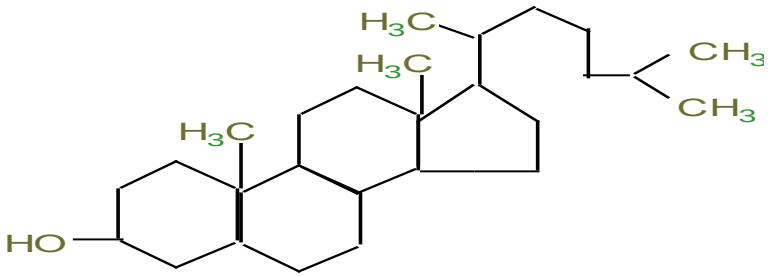
Химия стеринов и стеридов

Стериды – это сложные эфиры циклических спиртов стеринов и высших жирных кислот.
Стерины - циклические спирты, производные циклопентанопергидрофенантрена.



К группе стеринов относятся:

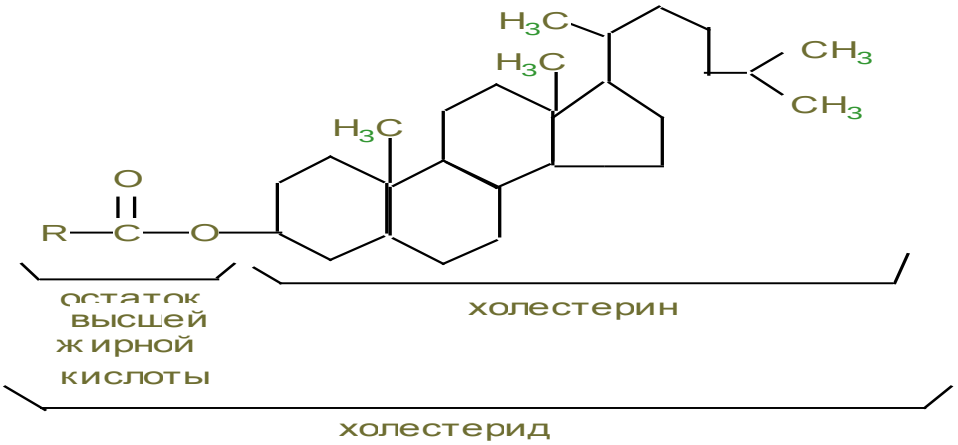
1. холестерин;
2. провитаминв D;



холестерин

3. гормона кора надпочечников;
4. половые гормоны;
5. желчные кислоты.

Стерид:



4. Из продуктов гидролиза образуются смешанные мицеллы, где с помощью солей желчных кислот образуется полярная оболочка, а гидрофобные хвосты погружаются во внутрь мицеллы и в таком виде всасываются вместе жирорастворимыми витаминами (A, D, E и K) в клетки слизистой оболочки тонкого кишечника.

5. В клетках слизистой оболочки кишечника кроме ресинтеза жиров моноглицеридным путем (см. прошлое занятие), под действием ацилхолестеролацилтрансферазы (АХАТ) синтезируются и эфиры холестерина, которые с жирами, витаминами и фосфолипидами образуют хиломикроны и липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП), они покрываются белковой оболочкой (B-48), синтезированной на шероховатом эндоплазматической ретикулуме и в таком виде поступают в кровь.

6. При дефекте апобелков (B-48 – в кишечнике, B-100 – в печени) переферических апобелков C-II (активирующих липопротеинлипазу, расщепляющую триглицериды липопротеинов), E – (контактирующий с рецепторами липопротеинов) ведет к гипертриглицеролемии (содержание триглицеридов в крови повышена, при норме =165 мг/дл) и накоплению капелек жира в клетках кишечника или жировому перерождению печени.

7. Липопротеины, потерявшие основную часть жира, обогащенные холестерином, отдают свои периферические белки снова на липопротеины высокой плотности (ЛВП), откуда они их получили при своем созревании и превращаются в липопротеины низкой плотности (ЛНП), в которых содержание холестерина ≈50%, а остальное - триглицериды (ТГ), фосфолипиды (ФЛ) и белковая оболочка – B-100.

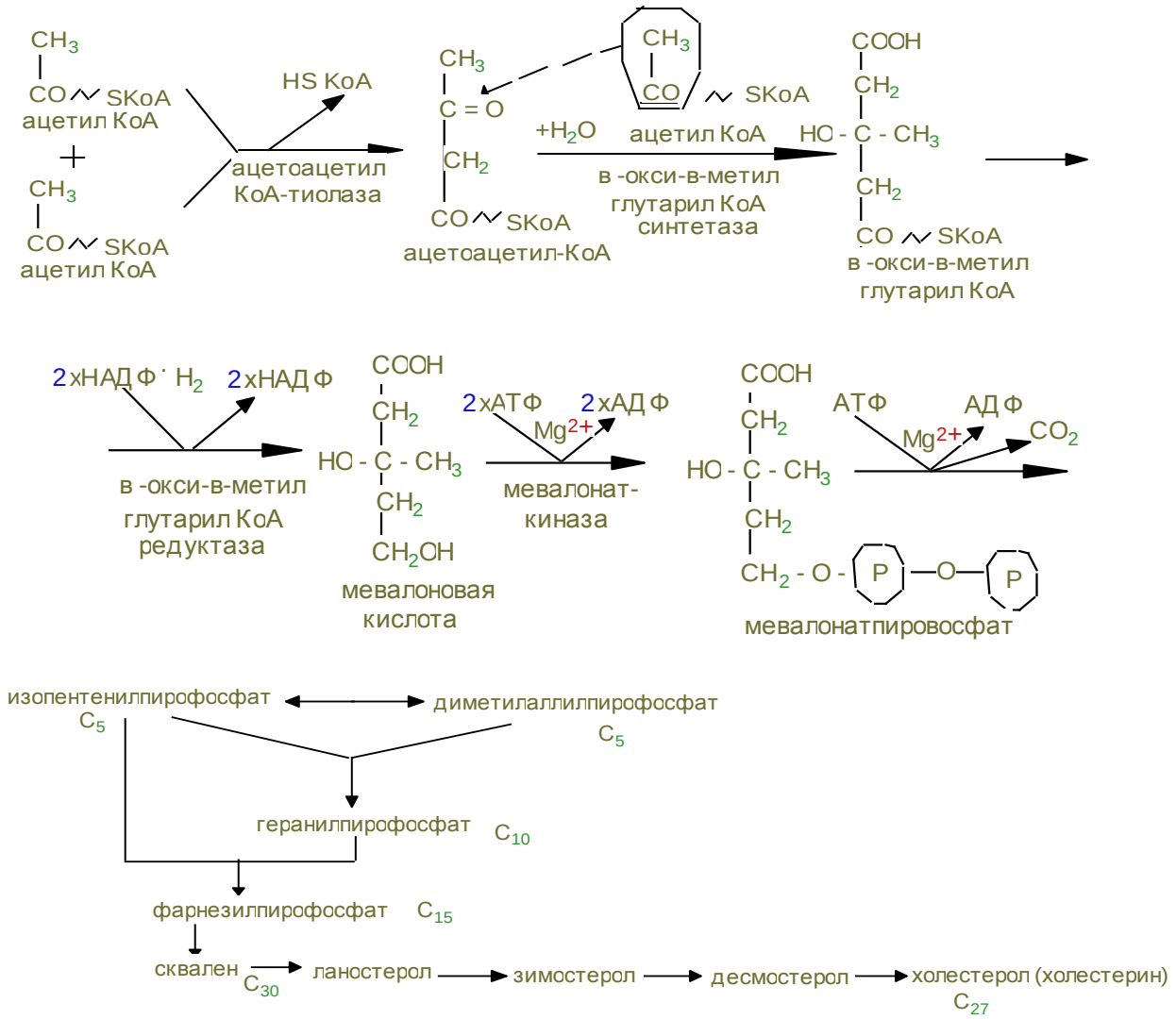
8. Апопротеин B-100 взаимодействует с рецепторами ЛПНП и холестерин попадает в клетки, где может быть использован при образовании мембран (особенно миелиновых оболочек нервов) для синтеза желчных кислот 0,5-0,7 г в сутки (в гепатоцитах), стероидных гормонов (≈40 мг), витамина D_3 (~10 мг).

9. Рецепторы ЛНП, сложные белки, синтезируются в ЭР и аппарате Гольджи, эксионируются на поверхности клетки в ямках, окаймленных белком клатрином.

В образовавшую эндосому H^+ - АТФ-азой заканчиваются протоны, понижается pH и рецепторы отделяются от ЛНП, ЛНП попадают в лизосомы, где гидролизуется все, кроме холестерина.

10. В печень поступает холестерин пищевой (экзогенный), но кроме этого при его недостаточности, синтезируется эндогенный ~ 1г в сутки.

Биосинтез холестерина

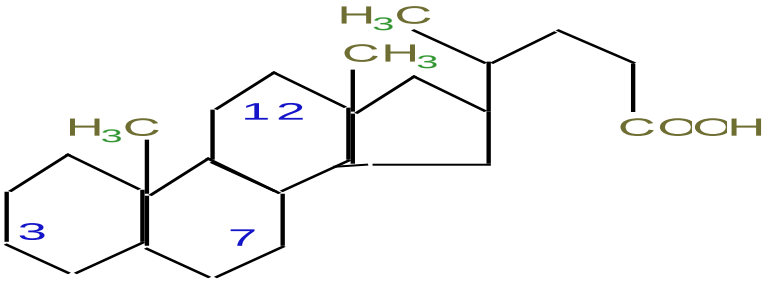


Регуляторным ферментом является ГМГ – редуктаза, которая активируется инсулином (дефосфорилированием) и ингибируется глюкагоном и адреналином, которые ведут к фосфорилированию редуктазы. Кроме того, избыточное количество экзогенного холестерина ингибирует синтез эндогенного холестерина.

11. В печени холестерин под действием гидроксилаз вводятся дополнительно атомы кислорода в циклопентанпергидрофенантреновое ядро в положении 7, (хенодоксихолевая кислота) и 12 (холевая кислота).

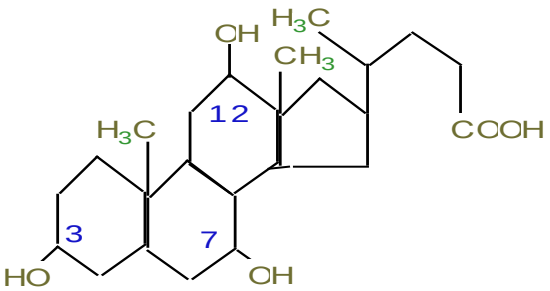
Желчные кислоты участвуют в переваривании липидов, способствуя:

1. Эмульгированию жира;
2. Активированию липазы поджелудочного сока;
3. Всасыванию жирных кислот.

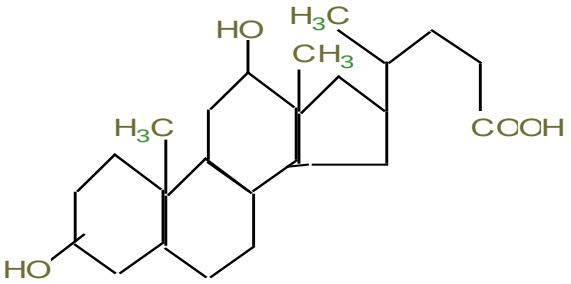


холановая кислота

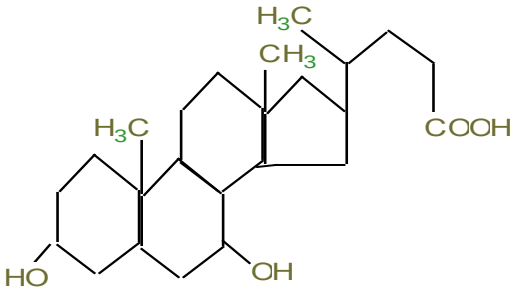
Желчные кислоты – это производные холановой кислоты.



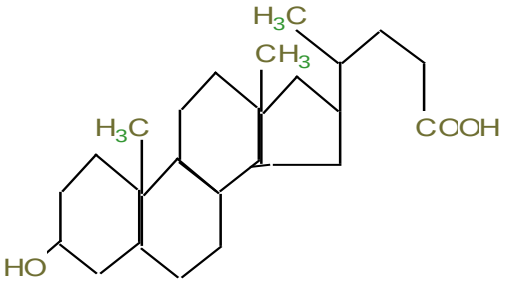
холевая кислота
(3, 7, 12 -дигидроксихолановая)



дезоксихолевая кислота
(3, 12 -тригидроксихолановая)



хенодезоксихолевая
(3, 7 - дигидроксихолановая)



литохолевая кислота
(3-гидроксихолановая)

Конъюганты этих первичных желчных кислот с глицином и таурином дают соответствующие соли – отличные детергенты, помогающие с выделяющейся желчью эмульгированию жиров в дуоденуме.

12. Около 95% желчных кислот, попавших в кишечник, возвращается в печень через воротную вену, которые снова, по мере поступления жиров в 12-перстную кишку секретируются вместе с желчью: за сутки 2-4 г их повторно используются 6-8 раз.

Этот путь называют энтерогепатической циркуляцией. Часть желчных (первичных) кислот в кишечнике под действием бактерий превращается во вторичные – дезоксихолевую и литохолевую. С фекалиями ежедневно выносятся желчные кислоты (0,5 - 0,7г) и холестерин из желчи (0,5 - 0,7г).

13. Регуляторный фермент синтеза желчных кислот (7-α-гидроксилаза) регулируется холестерином, который индуцирует транскрипцию фермента; также действуют и тироидные гормоны, а эстрогены репрессируют синтез желчных кислот.

14. Холестерин, желчные кислоты, фосфатиды, желчные пигменты должны находиться в определенной пропорции, при нарушении которой холестерин начинает осаждаться, пропитывается билирубином, солями Са и образует камни. У большинства больных желчнокаменной болезнью активность ГМГ – редуктазы повышена, а 7-гидроксилазы понижена, что приводит к увеличению холестерина и уменьшению количества желчных кислот. Хенодезоксихолевая кислота может растворять камни, но процесс долог.

15. Концентрация холестерола в крови не должна превышать 5,2 ммоль/л, однако, кроме гиперхолестиролемии большое значение в патологии обмена холестерина имеет соотношение ЛНП/ЛВП, т.к. ЛВП в противоположность ЛНП, являющихся донорами холестерина, собирают холестерин от других липопротеинов и периферических тканей, являются акцепторами холестерина и переносчиками его в печень.

Эту роль выполняет фермент лецитинхолестеролацилтрансфераза, (ЛХАТ) и апобелок А-I, активирующий фермент. Эти белки находятся на поверхности ЛВП и эстерефицируют – ОН холестерина, переведя его в эфиры, которые гидрофобны и погружаются вовнутрь ядра ЛВП, освобождая поверхность для новых молекул холестерина.

Таким образом, ЛВП оказывают антиатерогенное действие на организм, а атерогенные факторы – ЛНП и ЛОНП.

16. ЛНП захватываются макрофагами, которые расщепляют липиды, кроме холестерола, а при большом их содержании, холестерол может откладываться в коже, сухожилиях и в стенках артерии, образуя атеросклеротические бляшки.

17. Атеросклероз – полигенная болезнь, результат многих пичин: гиперхолестеролемией, мутации в гене в ЛНП – рецепторе, белке В-100, и других липопротеинов, увеличение коэффициента атерогенности (ЛНП/ЛВП)>3, модификаций ЛПНП под действием токсичных форм кислорода. Наиболее частые осложнения атеросклероза – ИБС, которая может привести к инфаркту.

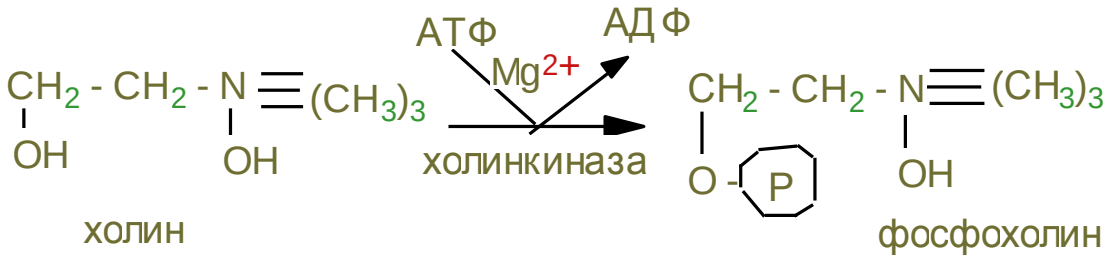
18. Лечение гиперхолестеролемии направлены на снижение содержания холестерина в крови: диетотерапия, лечебная физкультура, лекарственная терапия.

19. Статины ингибируют синтез холестерина; витамин Е тормозит ПОЛ; ω-3 жирные кислоты синтезируют простациклин, тормозящий агрегацию тромбоцитов; никотиновая кислота повышает уровень ЛВП; фибраты активируют липопротеинлипазу; тироксин стимулирует синтез желчных кислот из холестерина; небольшие дозы этанола увеличивают синтез ЛВП.

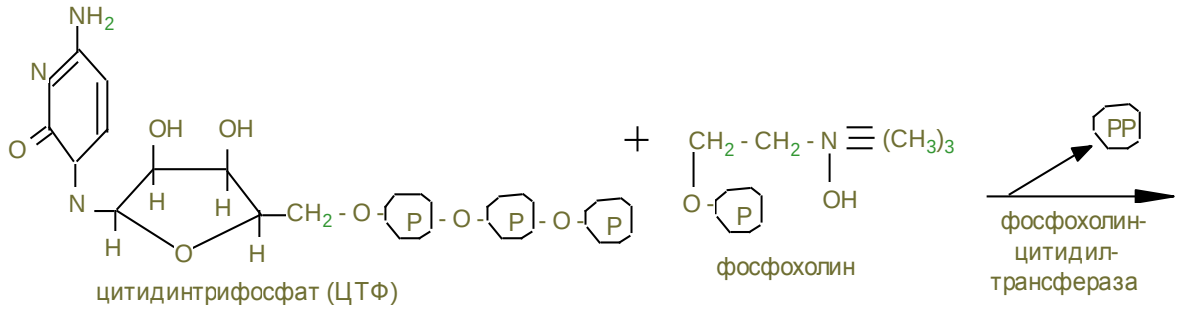
20. Обратите внимание на синтез лецитина, как представителя фосфатидов – компонентов мембран. ЦТФ – активатор аминоспиртов, наподобие УТФ – активатора глюкозы в биосинтезе гликогена.

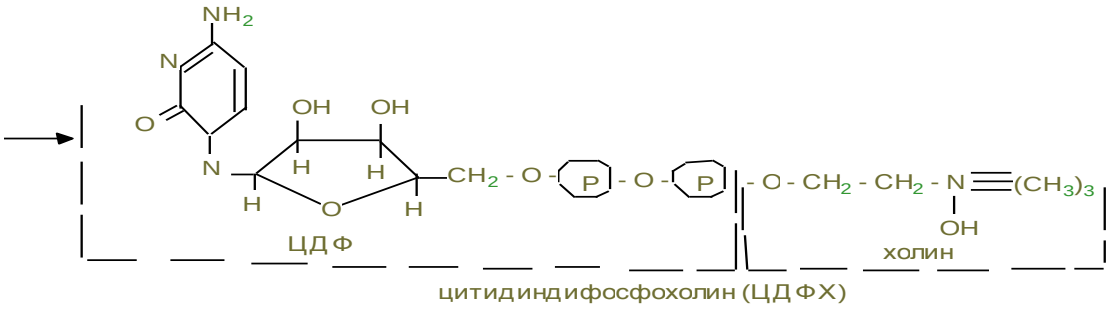
Биосинтез лецитина

- **Активация холина с образованием фосфохолина**

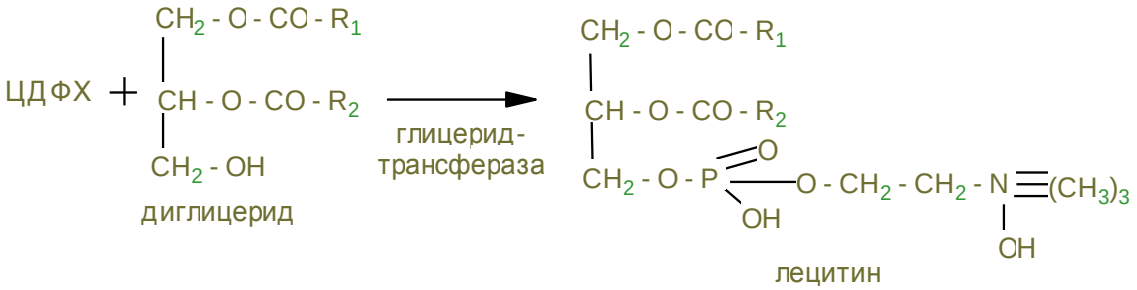


Дальнейшая активация с образованием ЦДФХолина





- Взаимодействие «активного» холина (ЦДФХ) и диглицерида с образованием лецитина



21. Так как фосфолипиды участвуют в образовании липопротеинов, нарушение их синтеза ведет к жировому гепатозу, респираторному дистресс – синдрому, накоплению гликолипидов при понижении активности ферментов расщепления гликолипидов.

Лабораторная работа

Определение содержания β-липопротеинов сыворотки крови турбидиметрическим методом

Принцип метода. В присутствие $CaCl_2$ и гепарина нарушается коллоидная устойчивость белков сыворотки крови. В связи с этим осаждают почти чистые β-липопротеиды. Интенсивность помутнения раствора, определяемая фотометрических, пропорциональна содержанию β-липопротеидов.

Ход работы. В сухую пробирку наливают 0,2 мл сыворотки, добавляют 2 мл 0,025М раствора $CaCl_2$. Содержимое пробирки перемешивают встряхиванием и измеряют светопоглощение (E_1) против воды при 60 нм (красный светофильтр) в кювете с толщиной слоя 0,05 см.

Затем вновь переливают пробу в пробирку, добавляют 0,05 мл 1% гепарина перемешивают встряхиванием и точно через 5 минут измеряют светопоглощение (E_2).

<u>Расчет</u>.

Содержание β-липопротеинов: $(E_2-E_1)\cdot 100$у.е.

Норма: у здоровых людей содержание β-липопротеинов натощак равно 35-55 у.е.

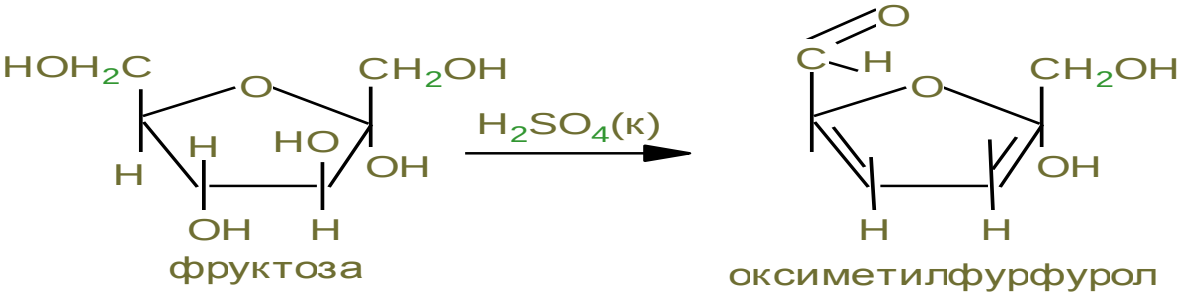
<u>Клинико-диагностическое значение</u>

Увеличение содержания β-липопротеинов наиболее часто встречающееся в липограмме отклонение от нормы. Он наблюдается при атеросклерозе, механической желтухе, некоторых видах острого гепатита, диабете и других заболеваниях. Повышение уровня липопротеинов в крови тесно связано с гиперхолестеринемией, поскольку холестерин входит в состав главным образом β-липопротеинов. Определение уровня β-липопротеинов имеет значение не только при гиперликемических состояниях, но и как функциональная печеночная работа.

Качественная реакция на желчные кислоты (реакция Петтенкффера)

Принцип работы. При взаимодействие кислот с оксиметилфурфуролом появляется красно-фиолетовое окрашивание. Реакция обусловлена образованием окрашенных продуктов конденсации желчных кислот с оксиметилфурфуролом.

Фурфурол образуется из фруктозы (сахарозы) при взаимодействии концентрированной кислоты.



Ход работы

На сухую чашку Петри или часовое стекло наносят 2 капли желчи, 2 капли 20% раствора сахарозы и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. После этого добавляют 7 капель концентрированной серной кислоты и снова перемешивают стеклянной палочкой.

Через несколько минут наблюдается развитие красной окраски, которая при стоянии переходит в красно-фиолетовую.

Действие фосфолипаз поджелудочного сока

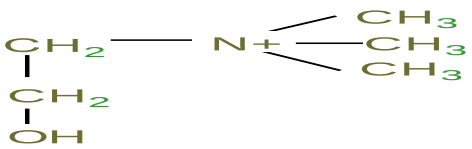
Принцип метода: Об активности фосфолипаз поджелудочного сока судят по появлению свободной фосфорной кислоты, способной образовать желтый осадок при нагнревании с молибдатом аммония.

$H_3PO_4+12(NH_4)_2MoO_4+21HNO_3 \rightarrow (NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3+21NH_4NO_3+12H_2O$

Фосфорномолибденовокислый аммоний

Ход работы. В 2 пробирки наливают по 5 капель суспензии яичного желтка. В 1 пробирку добавляют 2 капли панкреатина, во 2(контрольную) – 2 капли H_2O. Обе пробирки ставят в термостат на 30 минут при температуре 38°С. Потом в обе пробирки добавляют по 5 капель молибденового реактива и нагревают на плпмнени горелки. Охлаждают под краном. Наблюдают изменение окраски. Делают вывод.

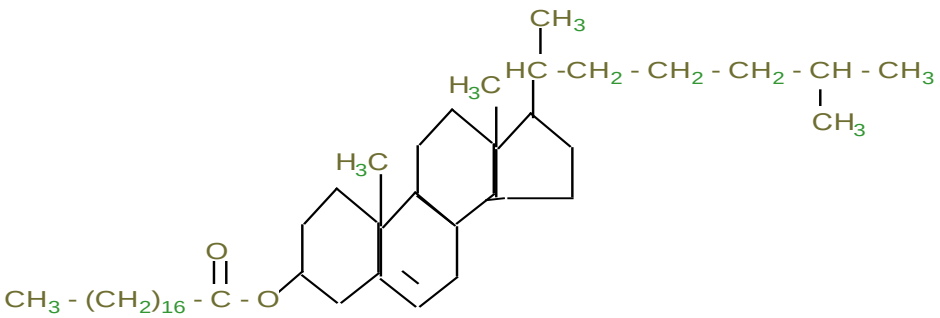
Контрольные вопросы



1) Укажите, как называется данное химическое соединение:

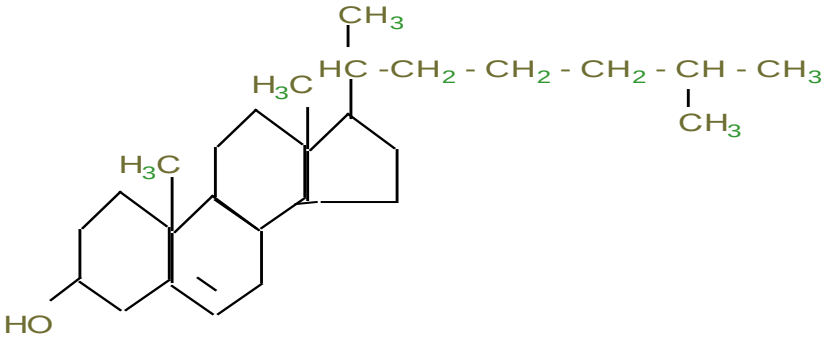
а) холестерон
б) холистерид
в) холин
г) капростерин
д) циклопентанпергидрофенантрен

2) Как называется данное химическое соединение?



3) Как называется данное химическое соединение?

4) Назовите данное соединение?



5) Укажите, какие химические вещества входят в состав α-лецитина: серин, холин, коламин, стеариновая кислота,пальмитиновая кислота, линолевая кислота, линоленовая кислота, олеиновая кислота.

6) Укажите, какие химические соединения входят в состав кефалинов: пальмитиновая кислота, стеариновая кислота, олеиновая кислота, линолевая кислота, холин, серин, коламин, этаноламин.

7) Напишите строение α-лицитина, холестерина.

8) Напишите формулу эфира, образованного при взаимодействии холестерина и стеариновой кислот.

9) К какой группе фосфолипидов относятся кефалин и серинфосфатиды?

10) В какие ткани входят в больших количествах определение сфингомиелины?

11) Перечислите названия фосфатидов неглицеридов.

12) Объясните использование количественного определения фосфолипидов в медицинской практике.

13) Напишите формулу фосфолипида, в состав которого входит холин. Назовите его.

14) В состав каких фосфолипидов входит этаноламин (коламин)? Напишите его формулу.

15) Напишите реакции расщепления ацил-стероидов

16) Напишите реакции расщепления лецитина.

17) Напишите реакции расщепления стеарилстерида.

18) Какую роль выполняет α- и β – липопротеиды?

19) Какие желчные кислоты имеются в желчи, какова их химическая природа?

20) Какие виды фосфолипидов Вы знаете?

21) Какие связи гидролизует фосфолипаза А?

22) Какая фосфолипаза гидролизует эфирную связь между фосфорной кислотой и глицерином в фосфоролипиде?

23) как всасываются продукты расщепления стеридов?

24) Укажите, какое химическое соединение является исходным продуктом для синтеза холина.

25) Укажите, сколько молекул нужно для синтеза холина.

26) Напишите реакцию активации холина до образования: фосфохолина, цитидинфосфохолина.

27) Напишите реакцию взаимодействия диглицерида с цитидинфосфохолином с образованием лецитина.

28) Напишите реакцию образования коламина (этаноламина).

29) Напишите реакцию метилирования коламина с образованием холина.

30) Какие исходные продукты нужны для синтеза холестерина?

31) Напишите химизм реакции синтеза холина.

32) Какое значение в медицинской практике имеет определение общих липидов крови?

Итоговая работа по теме «Обмен липидов»

1

1. Какая химическая связь характерна для нейтральных жиров?

2. Напишите формулу холина.

3. В норме после приема с пищей большого количества углеводов увеличивается активность ЛП-липазы в жировой ткани. Покажите связь между обменом жиров и углеводов, построив из предложенных процессов, правильную последовательность событий.

1. Ускорение синтеза жиров в печени.
2. Увеличение концентрации глюкозы в крови.
3. Ускорение синтеза ЛОНП.
4. Увеличение утилизации глюкозы клетками печени.
5. Увеличение концентрации инсулина в крови.
6. Увеличение концентрации инсулина в жировой ткани.
7. Увеличение скорости синтеза жиров в жировой ткани.

2

1. Переваривание липидов. Ферменты.

2. Из представленных ниже метаболитов постройте схему кетоновых тел в организме человека (1 2 …). Укажите названия ферментов над стрелками.

1. Ацетоацил-КоА
2. Ацетоацетат
3. Ацетил-КоА
4. β-гидрокси-β –метилглутарил-КоА
5. Ацетон
6. β-гидроксибутират

3. Приведите формулу пальмитата холестерина. Биологическая роль транспортных форм холестерина. Холестеринемия.

3

1. Какие последствия может иметь нарушения всасывания жиров?

1. Стеаторея 2. Гиповитаминоз Д 3. Гиповитаминоз К 4. Ухудшение зрения в темноте (куриная слепота) 5. Гиповитаминоз РР 6. Нарушение синтеза насыщенных жирных кислот 7. Уменьшение содержания арахидоновой кислоты в тканях.

2. Сколько молекул АТФ синтезируется в процессе распада глицерина в анаэробных и аэробных условиях?

3. Биосинтез холестерина. У кого он более интенсивен: у вегетарианцев или у остальных?

4

1. Распад глицерина. Сходство и различие с распадом глюкозы.

2. На каком клеточном уровне происходит окисление жирных кислот.

3. В печени часть неэтифицированного холестерина идет на образование желчных кислот.

А. Покажите, какие желчные кислоты образуются в клетках печени и какие превращения с ними происходят в кишечнике.

Б. Что такое энтерогепатическая циркуляция? Все ли молекулы первичных желчных кислот возвращаются в печень в неизменном виде?

В. Как влияет конъюгация с глицерином и таурином на амфифильные свойства желчных кислот? Ответ проиллюстрируйте на примере холевой и таурохолевой кислот.

Г. Перечислите функции желчных кислот в организме. К каким нарушениям обмена веществ ведет снижение секреции желчных кислот в желчь или прекращение поступления желчи в кишечник?

5

1. Напишите уравнение реакции активации жирной кислоты.

2. Напишите уравнение реакции расщепления ацил-стеридов.

3. Посчитайте, сколько молекул восстановленного НАД-а образуется при окисления пальмитиновой кислоты.

6

1. Напишите по одной формуле триглицеринов, характерных для:

А. Твердого животного жира

Б. Растительного жира.

2. При интенсивной физической нагрузке в течение 30 минут в крови экспериментальных животных определяли концентрацию жирных кислот. Для случаев А и Б укажите, где эта величина больше.

А. В крови, питающей жирную ткань (артериальной), или в крови, оттекающей от нее (венозной). Напишите реакции обмена жиров, которая в этих условиях в жировой ткани являются первичной артериовенозной разницы.

Б. В крови, питающей миокард (артериальной), или в крови, отекающей от него (венозной). Объясните ответ.

3. У пациента натощак была исследована сыворотка крови. Сыворотка имела молочный цвет; на ее поверхности, при помещении на холод всплыли белые жирные хлопья. Содержание триглицеридов составило 8 моль/л. Укажите возможные причины заболевания, признаки которых описаны.

1. Недостаточная активность ЛП-липазы 2. Недостаточная активность панкреатической липазы 3. Дефект аполипопротеинов в составе хиломикронов
4. Дефект аполипротеинов в составе ЛВП 5. Недостаточное поступление витаминов А, Е, Д, К.

7

1. Подберите к каждому типу липидов и их производных соответствующую функцию.

1. Триацилглицериды
2. Жирные кислоты
3. Сфингомиелины
4. Простагландины
5. Таурохолевая кислота
6. Витамин Е
7. Витамин К.

А. Источники энергии, структурные компоненты других липидов:

Б. Запасная форма источника энергии

В. Структурный компонент мембран

Г. Регуляторы тонуса гладкой мускулатуры

Д. Антигеморрагический фактор

Е. Эмульгатор Р. Антиоксидант.

2. Выберите доноры водорода, необходимые для синтеза жирных кислот в организме человека:

1. ФАДН 2. НАДН 3. Аскорбиновая кислот 4. НАДФ 5. ОН

3. А. Яд некоторых змей содержит фосфолипазу A_2. Если к цельной крови добавить небольшое количество яда, то быстро наступает гемолиз. Напишите реакцию, которая будет происходить под действием фермента – компонента яда. Объясните причину гемолиза в данном случае.

Б. Будет ли изменятся структура сфингомиелина под действием этого фермента?

8

1. Напишите реакции окисления стеариновой кислоты до пальмитиновой.

2. Напишите реакции биосинтеза ацетилхолина.

3. Какое количество моль АТФ образуется при полном окислении:

А. 2 моль ацетоацетата

Б. 1 моль β-гидроксибутирата?

9

1. Напишите химизм образования малонил коА´. Для чего он используется?

2. Какие виды фосфолипаз вы знаете? Напишите уравнения реакций расщепления лецитина.

3. Что входит в понятие «ацетоновые тела», изобразите химизм образования их. Диагностическое значение определения ацетоновых тел.

10

1. Распад триглицеридов. Роль парных желчных кислот.

2. Транспортные формы липопротеинов и их диагностическое значение.

3. Схема превращения глюкозы в холестерин.

11

1. Изобразите химизм синтеза животного жира триглицерида.

2. Напишите уравнение реакции взаимодействия диглицерида с цитидинофосфохолином с образованием лецитина.

3. Сколько молекул восстановленного кофермента НАДФ Н+ H^+ необходимо для синтеза пальмитиновой кислоты?

12

1. Изобразите уравнение реакций удлинения углеродной цепи бутирил-АПБ до капроновой кислоты.

2. Химизм биосинтеза холестерина. Регуляция процесса.

3. Для каждого типа липопротеинов подберите соответствующий состав.

1. АВП А. 90% триглицеридов и 2% белков

2. хиломикроны Б. 50% эфиров холестерина и холестерина

3. ЛНП В. 50% белков и 20% эфира холестерина и холестерина

4. ЛОНП Г. 10% белков и 50-55% триацилглицеринов

13

1. Напишите уравнение реакции образования свободной ацетилуксусной кислоты и какова ее дальнейшая судьба.

2. В стационар поступил юноша с симптомами ишемической болезни сердца в результате атеросклероза. В ходе обследования обнаружилось, что у больного липопротеины содержат малоактивный фермент лецитинхолестеролацилрансферазу (ЛХАТ).

А. Напишите уравнение, которое катализирует ЛХАТ.

Б. Какие фракции липопротеинов богаты ЛХАТ%

В. Почему недостаточность ЛХАТ может привести к развитию атеросклероза?

3. Приблизительно одна треть жиров, полученных с пищей, должна быть растительного происхождения. Подтвердите это, дав ответы на следующие вопросы:

А. Назовите известные вам незаменимые факторы питания, которые содержатся в растительных маслах.

Б. Синтез каких регуляторных молекул производных липидов будет нарушен при недостатке этих факторов?

В. Какие функции выполняют в организме эти производные липидов?

14

1. Какие исходные продукты нужны для синтеза холестерина? Биологическая роль холестерина.

2. Напишите химизм реакций синтеза животного жира.

3. Опишите судьбу глицерина. Может ли он использоваться для синтеза глюкозы?

15

1. У человека, длительно не употреблявшего жиров, но получавшего достаточное количество углеводов и белков, обнаружены дерматит, плохое заживление ран, ухудшение зрения, снижена половая функция. При назначении терапевтической диеты, содержащей рыбий жир, симптомы исчезли. Выберите возможные причины нарушения обмена:

1. Недостаток пальмитиновой кислоты

2. Недостаток линолевой кислоты

3. Недостаток олеиновой кислоты

4. Недостаточное поступление витаминов А, Д, Е, К

5. Недостаточное поступление витаминов Н, РР

6. Низкая калорийность диеты.

2. *А*. Рассчитайте, сколько молекул АТФ образуется при окислении одной молекулы стеариновой кислоты до CO_2 и H_2O.

Б. Если окисляется линолевая кислота, то на сколько молекул АТФ образуется меньше?

3. Из представленных ниже компонентов составьте схему синтеза фосфотидилхолина:

1. этиноламин, 2. Фосфоэтаноламин

3. ЦДФ-этаноламин 4. фосфатидилэтаноламин, 5. фосфатидилхолин.

Обмен нуклеотидов

Цель изучения:

I. <u>Знать теоретически</u>

а) основные данные по процессам переваривания (разнообразие нуклеаз, понятие о рестриктазах), всасывания и внутриклеточного обмена нуклеопротеинов, нуклеиновых кислот и азотистых оснований нуклеотидов, б) образование конечных продуктов пуринового и пиримидинового обмена и нарушения при подагре, в) биосинтез пиримидиновых нуклеотидов и его нарушения (оротацидурия), г) понятие о механизме биосинтеза пуриновых нуклеотидов,
д) примеры ингибиторов, противоопухолевых и противовирусных препаратов.

II. <u>Уметь</u> определить содержание мочевой кислоты в моче, как конечного продукта обмена пуриновых оснований.

III. <u>Ответить</u> на прилагаемые к занятию 15 вопросов и упражнений по данной теме.

IV. <u>Содержание темы:</u>

1. Роль нуклеотидов: а) субстраты синтеза ДНК и РНК; б) цикл АТФ-АДФ- универсальный механизм трансформации энергии; в) УТФ активирует монозы при синтезе полисахаридов, ЦТФ активирует синтез фосфатидов, ГТФ участвует в биосинтезе полипептидов на рибосоме; г) УДФ – глюкуронид, ФАФС участвуют в детоксикации ксенобиотиков; д) АМФ – компонент НАД-а, ФАД-а, ФМН, кофермента А; е) ц-АМФ и ц-ГМФ – вторичные посредники гормонального сигнала.

2. НК, поступающие с пищей под действием нуклеаз панкреаса гидролизуются постепенно с образованием фосфатов пентоз и азотистых оснований, однако они не являются незаменимыми пищевыми факторами, т.к. могут синтезироваться в различных клетках организма из простых предшественников de novo.

3. В клетках тканей азотистые основания, содержащие – NH_2 (цитозин, аденин, гуанин) во-первых, подвергается гидролитическому дезаминированию, превращаясь соответственно в урацил, гипоксантин и ксантин.

4. Пиримидиновые ядра восстанавливаются по двойной связи кольца лактамной формы, после чего происходит раскрытие кольца с образованием CO_2, NH_3, β-аланина из урацила и β-аминоизомасляной кислоты из тимина.

5. Конечные продукты (CO_2, NH_3) выводятся из организма либо утилизируются в других метаболических процессах (аминирование, карбоксилирование, биосинтез карнитина, ансерина, пантотеновой кислоты).

6. Пуриновые основания после дезаминирования окисляются ксантиноксидазой до мочевой кислоты в результате появления атомов кислорода у C_2, и C_8. Т.о. мочевая кислота – 2,6,8 –тригидроксипурин – конечный продукт распада пуриновых оснований.

7. Мочевая кислота – труднорастворима, слабо диссоциирует по N_8, образуя ураты, в крови циркулирует в комплексе с альбумином, (N- 3-7мг/дл) ежесуточно выводится через почки от 0,4 до 0,7г.

8. Гиперурикемия ведет к подагре – отложению кристаллов уратов в суставных хрящах, синовиальной оболочке, подкожной клетчатке с образованием подагрических узлов или тофусов, в результате возникают повторяющиеся приступы острого воспаления суставов. Подагра может развиться и при болезни Гирке (недостаточности глюкозо-6-фосфатазы) как ответ на усиленный синтез пуринов при интенсивном пентозном пути распада глюкозы. Синдром Леша-Нихана – тяжелая форма гиперурикемии в результате дефекта фермента, обеспечивающего повторное связывание нераспавшихся пуринов в нуклеотиды. Болезнь обнаруживается у мальчиков появлением тофусов, неврологических расстройств, склонностью к нанесению себе увечий (укусы губ, языка, пальцев).

9. Основными препаратами лечения гиперурикемии являются повышающие растворимость мочевой кислоты (уродан) и основной ингибитор ксантиноксидазы – аллопуринол, конкурирующий со структурой гипоксантина.

10. Пиримидиновые нуклеотиды синтезируются в цитозоле из простых предшественников: глн (источник NH_3), CO_2 и асп до оротовой кислоты, после чего она

пересаживается на хорошо активированную рибозу в результате чего после декарбоксилирования образуется УМФ. При дефекте гена, кодирующего эти 2 последние реакции, оротовая кислота накапливается и в больших количествах (> 1 г/сутки при N синтеза ~ 600 мг) выводится с мочой (оротацидурия), что влечет за собой пиримидиновый голод. При этом применяется заместительная терапия уридином (до 1г/сутки).

11. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов включает в себя восстановление рибозы тиоредоксином (доноры водорода – 2 SH – группы) и метилированием дУМФ N^5-CH_2 – N^{10} – тетрагидрофолатом.

12. N^5, N^{10} – H_4 фолат, а также N^{10}- формил H_4 – фолат являются источниками C_2 и C_8 при синтезе пуринов, где участвуют глн для N_3 и N_9, гли (для C_4, C_5 и N_7) CO_2 (для C_6) и асп (для N_1). Реакции идут последовательно сразу на хорошо активированной рибозе, формируя сначала имидазольный, а потом и пиримидиновый цикл.

13. Исходным нуклеотидом для АМФ и ГМФ является ИМФ, который аминируется соответственно по C_6 до АМФ и через ксантозин-5'монофосфат до ГМФ.

14. Аналоги тимидина (азидотимидин, 5-I-дезоксиуридин) 6-меркаптопурин ингибируют биосинтез нуклеотидов, являясь антивирусными препаратами. Аналоги фолиевой кислоты – метотрексат, аминоптерин, а также 5-фторурацил-противоопухолевые препараты, останавливающие репликацию.

Контрольные вопросы по теме «Обмен нуклеотидов»

1. В каком виде поступают в организм НК с продуктами питания?
2. Что происходит с нуклеопротеидами в желудке в процессе переваривания?
3. Объясните механизм, укажите роль ферментов и соляной кислоты.
4. Какой химический процесс лежит в основе переваривания в желудочно-кишечном тракте?
5. Напишите схему превращения пиримидиновых оснований в клетках (по пути расщепления до конечных продуктов).
6. Напишите формулы конечных продуктов катаболизма пуриновых и пиримидиновых оснований.
7. Напишите схему образования мочевой кислоты.
8. Нарушение какого обмена приводит к развитию подагры?
9. Какие аминокислоты участвуют в синтезе:

А) пуриновых мононуклеотидлов;

Б) пиримидиновых мононуклеотидов?

10. Напишите схему синтеза пиримидиновых оснований. Укажите источники атомов углерода и азота в цикле пиримидина.
11. Как происходит синтез пиримидиновых мононуклеотидов из оротидинмонофосфата?
12. Напишите реакции синтеза ортидинмонофосфата.
13. Объясните схему синтеза пуриновых оснований. Укажите источники атомов углерода и азота в цикле пурина.
14. Напишите формулу инозиновой кислоты, укажите происхождение атомов пуринового ядра.
15. Как происходит синтез пуриновых мононуклеотидов из инозиновой кислоты?
16. Автономная саморегуляция синтеза мононуклеотидов.

Лабораторная работа

Определение мочевой кислоты в моче

Принцип метода: Метод основан на осаждении мочевой кислоты в виде кислого мочекислого аммония, которые после растворения оттитровывается перманганатом калия.

Ход работы. В колбу вносят 10 мл мочи, 1-2 мл 25%-ного раствора аммиака и 5 г сернокислого аммония. Содержимое колбы взбалтывают для растворения сульфата аммония. Через 15 минут отфильтровывают образовавшийся осадок кислого мочекислого аммония. Колбу, в которой производилось осаждение, дважды промывают 2-3 мл 10%-ного раствора сернокислого аммония, сливая каждый раз промывные воды на фильтр.

Затем фильтр с осадком помещают в чистую колбу, прибавляют в нее 50 мл горячей воды и 5 мл 10%-ного раствора серной кислоты. Содержимое колбы титруют 0,02 Н раствором перманганата калия до появления слабо розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд.

По результатам титрования вычисляют суточное выделение мочевой кислоты, учитывая, что 1 мл 0,02 Н раствора перманганата калия окисляет 1,5 мг мочевой кислоты.

Расчет ведут по формуле:

$$\frac{a \cdot 1{,}5 \cdot 1500}{168 \cdot 10} = a \cdot 1{,}34,$$

где a – количество мл 0,02 Н раствора перманганата калия, пошедшего на титрование пробы; 1,5 – количество мочевой кислоты, соответствующего 1 мл 0,02 Н раствора перманганата калия; 1500- суточный диурез; 168 –молекулярная масса мочевой кислоты; 10 – объем пробы.

Норма: 1,6 – 4,2 ммоль/сутки.

Диагностическое значение анализа.

Определение мочевой кислоты в моче используют для оценки состояния пуринового обмена. Увеличение выведения мочевой кислоты (при беспуриновой диете) свидетельствует об усилении процесса распада тканей. Уменьшение экскреции мочевой кислоты может наблюдаться при задержке мочевой кислоты в организме (приступ подагры).

Норма в сыворотке крови:

мужчины (20-29 лет) - 240-510 мкмоль/л или 0,24-0,51 ммоль/л;

женщины (20-29 лет) – 170-410 мкмоль/л или 0,17- 0,41 ммоль/л;

в сыворотке ~ 5 мг/100 мл, в ед. СИ мг/100 мл · 59,5 мкмоль/л.

Матричные биосинтезы в организме человека

I. ***Цель занятия:*** Контроль и закрепление теоретических знаний о механизме биосинтеза нуклеиновых кислот, а также их роль в биосинтезе белков. Понятие о полиморфизме белков, причина наследственных болезней.

II. ***Исходный уровень знаний:***

1) Химическая природа и физико-химические свойства нуклеиновых кислот.

2) Белки и их структура.

III. Ответы на контрольные вопросы по данной теме.

IV. Решить упражнения, 15 карточек, прилагаемых к данной теме.

V. ***Содержание темы:***

1. Структура ДНК и РНК – способ «записи информации», обеспечивающий формирование в организме информационных потоков, где она воспроизводится. Это происходит в результате репликации, транскрипции и трансляции, т.е. биосинтезе ДНК, РНК и белков. Т.к. эти полимеры состоят из нескольких видов мономеров (соответственно 4- для ДНК, 4-для РНК и 20 – для белков) биосинтезы должны быть матричными, т.е. происходить на матрицах, где соблюдается определенный порядок мономеров, описывающий первичную структуру молекул, от которой зависит пространственная структура, свойства и их функции в организме.

2. Репликация – удвоение молекул ДНК, где матрицей являются материнские молекулы раскрученной под действием топоизомераз и хеликазы двойной нити ДНК. На них синтезируются сначала праймеры (затравки) под действием полимеразы α и в свою очередь дочерние цепи в направлении 5→3. δ- полимераза синтезирует лидирующую цепь непрерывно, ε – полимераза фрагментарно отстающую цепь. После удаления праймеров с отстающей цепи, заполнение брешей происходит под действием β- полимеразы. ДНК- лигаза связывает фрагменты Оказаки в единую цепь.

3. Сырьем для синтеза ДНК являются d АТФ, d ГТФ, d ТТФ и d УТФ одновременно они обеспечивают энергией этот процесс, т.к. полимеразы разрушают вторую макроэргическую связь трифосфатов в результате нуклеофильной атаки – ОН при C_3-конце на α- фосфат трифосфата.

4. После завершения репликации происходит метилирование аденина в –ГАТЦ – последовательностях с образованием N_6 – метиладенина. Однако до появления этих групп возможна репарация для исправления ошибок.

5. Система репарации ошибок репликации состоит из комплекса белков; mut-s узнает место ошибки (по C_6 – NH_2 аденину), mut-H присоединяется к метиллированному ГАТЦ, ближайшему к ошибке; mut- L выщепляет поврежденную часть, после чего β-полимераза заполняет брешь и ДНК – лигаза соединяет синтезированный участок с основной цепью.

6. Транскрипция – биосинтез РНК на матричной цепи ДНК по комплементарному механизму, переписывает информацию записанную в ДНК для образования м-РНК, т-РНК, р-РНК.

7. Полимераза I синтезирует пре- рРНК, II – пре-м-РНК, III- пре-т-РНК.

8. Инициация репликации происходит в результате присоединения белка -ТАТА – фактора к промотору, что облегчает присоединение к стартовой точке РНК – полимеразы и раскручивание одного витка спирали ДНК.

9. Рост РНК- вой цепи сначала предопределяет образование временной гибридной спирали (около 12 нуклеотидов), РНК – полимераза II двигается в направлении от 3' к 5'- концу до сайтов терминации.

10. Первичные транскрипты претерпевают процессинг, а именно: 1) присоединение к 5'- концу аномального, метилированного по N_7 гуанина (кэпа) для защиты м-РНК от цитозольных нуклеаз и присоединения ее к рибосоме; 2) полиаденилирование с 3'- конца, обеспечивающее выход м-РНК из ядра и сохраняющее ее целостность; 3) сплайсинг – вырезание некодирующих участков (интронов) и сшивания кодирующих (экзонов).

11. Информация заложенная в ДНК, а потом в РНК экспрессируется в процессе биосинтеза белка согласно основному постулату молекулярной генетике (↑ДНК ↔↑РНК → белок ---→ белок, причем последняя пунктирная стрелка имеет место в случае участия белков – шаперонов в формировании пространственной структуры белков.

12. Биологический код – способ перевода четырех значений нуклеотидной записи информации в двадцатизначную аминокислотную последовательность, обладающий триплетностью, комплементарностью, вырожденностью, неперекрываемостью, универсальностью и специфичностью.

13. Белок – синтезирующая система включает в себя активируемые АТФ и присоединенные к т-РНК под действием АРС-аз аминокислот, рибосомы, при работе использующие энергию ГТФ, м- РНК, которая присоединяется к малой субъединице рибосомы (40-S), белковые факторы инициации, элонгации (роста) и терминации, а также ионы Mg^{++}.

14. Инициирующий кодон в м- РНК – АУГ приводит к включению мет – $тРНК^{мет}$ в пептидильный центр 60S – частицы транслирующей рибосомы.

15. После ввода следующей аа – тРНК по очередности кодонов в м –РНК, под действием пептидилтранферазы большой частицы рибосомы происходит образование –СО – NH- за счет разрыва макроэргической связи у ~ С – мет и присоединения ее к свободной – NH_2 включении аминокислоты.

16. Рост полипептидной цепи заканчивается, когда скользящая рибосома достигает терминирующих триплетов УАГ, УАА или УГА. В данном случае действуют факторы терминации, освобождающие синтезированную полипептидную цепь от т-РНК и рибосомы.

17. Пострансляционная модификация белка заключается в частном протеолизе, формировании пространственной структуры, присоединения небелковых групп.

18. Регуляция биосинтеза белка индукцией или репрессией происходит на генном уровне ДНК генами-регуляторами, действием дальних перед промотором областей энхастером (усилителей) или сайленсеров (тушителей) экспрессии, амплификацией (увеличение копий в определенных условиях).

19. В результате перемещения генов между хромосомами происходит генетическая рекомбинация, обеспечивающая образование полиморфных белков, которые могут быть и результатом генетической изменчивости в результате молекулярных мутаций, сопутствующих биологической эволюции.

20. Наследственные болезни – результат дефектов в генотипе, предрасположенность к которым в настоящее время можно

обнаружить, используя современные технологии (полимеразная цепная реакция, использование рестриктаз и изучение полиморфизма длины рестракционных фрагментов). Конкретные примеры наследственных болезней рассматриваются в соответствующих разделах (гликогенозы, энзимопатии, нарушения обмена аминокислот и т.д.).

Контрольные вопросы по теме

1. Что понимают под матричным биосинтезом белков и НК?
2. Дайте краткую характеристику основных этапов биосинтеза белка.
3. Объясните значение терминов и механизмы транскрипция и трансляция.
4. Из чего и как происходит биосинтез ДНК? (Основные этапы).
5. Из чего и как происходит биосинтез РНК? (Основные этапы).
6. Что такое генетический код, что такое ген, цистрон, оперон, антикодон?
7. Где в клетке осуществляется биосинтез белка? Какова роль НК (ДНК и РНК), участвующих в этом процессе, какова роль рибосом в биосинтезе белка?
8. Дайте объяснение стадиям биосинтеза: инициации, элонгации, терминации, формирование высших уровней структуры белка.
9. Механизм активации аминокислот в процессе биосинтеза белка. Написать реакцию.
10. Особенности строения транспортных РНК.
11. Роль аминоцил т-РНК-синтетаз в реализации генетического кода.
12. Строение и роль рибосом в биосинтезе белка.
13. Как осуществляется процесс трансляции?
14. Механизм инициации в ходе трансляции. Какая аминокислота может быть инициирующей?
15. Какие стадии можно выделить в процессе инициации биосинтеза белка на рибосоме?
16. Что представляет собой процесс элонгации?
17. Как происходит терминация (окончание) синтеза полипептидной цепи?
18. Как осуществляется регуляция биосинтеза белка по типу репрессии?
19. Как осуществляется регуляция биосинтеза белка по типу индукции?
20. Какие вещества могут служить индукторами биосинтеза белков?
21. как осуществляется регуляция белка гормонами?
22. Кодирующий участок информационной РНК 3´(УАЦ-5´). Какая аминокислота при биосинтезе белка будет включаться в полипептидную цепь и какое биологически активное вещество (укажите его действие) может образоваться из этой аминокислоты при ее декарбоксилировании.

Контрольные упражнения по теме.

1

А. ДНК-полимераза β 1. удаляет праймеры

Б. ДНК-лигаза 2. участвует в образовании репликативной вилки

В. Оба 3. Входит в состав репликативного комплекса

Г. Ни один 4. Сшивает фрагменты Оказаки

2

Репликация происходит: А. в ядре клетки;

Б. один раз за время клеточного цикла;

В. с использованием рибонуклеозидтрифосфатов;

Г. при участии репликативного комплекса;

Д. с затратой энергии α NTP.

3

А. ДНК-полимераза β

Б. ДНК –полимераза δ

В. Обе

Г. Ни одна

1.катализирует образование 3´-5´- фосфодиэфирной связи

2. участвует в синтезе праймара

3. катализирует непрерывный синтез лидирующей цепи

4. удаляет праймеры

4

Выберите ферменты репликации, участвующие в образовании 3´-5´- фосфодиэфирной связи

А. ДНК- полимераза δ
Б. ДНК лигаза
В. ДНК-полимераза α
Г. ДНК -хелиааза
Д. ДНК-полимераза β

5

А. ДНК-полимераза β
Б. ДНК- лигаза
В. эндонуклеаза
Г. ДНК –интерстаза
Д. –ДНК- N гликозидаза

1. достраивает поврежденную нуклеотидную цепь
2. гидролитически удаляет поврежденное основание
3. катализирует образование N-гликозидной связи

6

А. ДНК-инсертаза
Б. ДНК –N-гликозидаза
В. Оба
Г. Ни один

1. Активность не зависит от клеточного цикла
2. Гидролизует N-гликозидную связь
3. Присоединяет к дезоксирибозе азотистое основание
4. Гидролизует 3´-5´- фосфодиэфирной связи

7

Выберите правильное описание свойств мРНК, поступающей из ядра в цитоплазму:

1. Является полным транскриптом соответствующих генов.
2. Имеет более короткую полинуклеотидную цепь, чем первичный транскрипт гена.
3. При молекулярной гибридизации с ядерной ДНК дает совершенные гибриды.
4. При гибридизации не дает совершенных гибридов.

8

Выберите положения, правильно характеризующие свойства биологического кода:

1. Каждому кодону соответствует только одна аминокислота.
2. Одну аминокислоту могут кодировать несколько триплеров.
3. Смысл кодонов одинаков для всех видов живых организмов на Земле.
4. Каждой аминокислоте соответствует только один кодон.
5. Кодоны мРНК скатываются в направлении от 5´- к 3´- к концу.

9

Укажите для процесса трансляции:

А. матрицу;
Б. субстраты; В. источники энергии;
Г. алапторные молекулы;
Д. частицы, являющиеся местом синтеза;
Е. локализацию в клетке

10

1. Перечислите структурные компоненты лактозного оперона E.coli.
2. Опишите последовательность событий после внесения лактозы в среду.
3. Опишите последовательность событий после исчерпания лактозы в среде.
4. какие преимущества микроорганизмы получают от этого механизма регуляции.

Динамическое состояние белков в организме. Переваривание белков в ЖКТ

Цель изучения: I. Знать центральное место обмена белков – как части единого обмена веществ в организме. Знать процессы переваривания белков в желудочно – кишечном тракте, виды протеолитических ферментов, всасывания структурных компонентов белков.

II. Уметь определять виды кислотности желудочного сока с их интерпретацией. Для диагностики заболеваний уметь определить патологические компоненты желудочного сока.

III. Ответить на контрольные вопросы к данной теме.

IV. Исходный уровень знаний: кислотные индикаторы (неорганическая химия).

V. Содержание темы:

1. Организм человека располагает незначительными резервами белков (белки плазмы крови, печени и мышц), тканевые белки имеют период полураспада от нескольких минут до нескольких месяцев, поэтому он должен постоянно пополняться белками, особенно животного происхождения, которые содержат сбалансированный набор незаменимых аминокислот.

2. Все белки тела подвергаются постоянному распаду и синтезу, т.е. находятся в динамическом равновесии. Точным критерием состояния обмена белков является азотистый баланс. У здорового человека он равен нулю, т.е. азот, содержащийся в белках, принимаемый с пищей (N белка ~ 100г/сутки) равен содержанию азота в азотсодержащих веществах, выводимых в виде конечных продуктов обмена из организма. При патологиях (голоде, болезни) он становится отрицательным, при росте или реабилитации больного – он положителен.

3. При отсутствии белка в пище человек теряет ~ 25г белка (азота – 4г). Это – коэффициент изнашивания. Белковое голодание приводит к 1) голодным отекам (использовании альбуминов плазмы крови в роли источников аминокислот), 2) анемии (нехватка аминокислот для синтеза гемоглобина), 3) жировое перерождение печени (недостаточный синтез апо-белков для транспортных форм липидов, образованных в печени), 4) плохое переваривание пищи (недостаточный синтез протеолитических ферментов).

4. Переваривание или гидролиз пептидных связей белка во-первых идет в желудке (в ротовой полости белки подвергаются только механической деструкции и набуханию) под действием пепсина, который образуется из пепсиногена под действием соляной кислоты.

5. Соляная кислота образуется в результате гормональной регуляции (гастрин, гистамин) из протонов, образующихся при диссоциации угольной кислоты и ионов хлора, поступающих из плазмы в обмен на гидрокарбонатный ион угольной кислоты.

6. Роль соляной кислоты: а) вызывает частичный протеолиз неактивного пепсиногена в активный пепсин; б) денатурирует поступающие белки, отщепляя небелковые компоненты; в) создает кислотность (~ 0,5% раствор) при которой достигается максимальная активность пепсина; г) проявляет антибактериальную активность.

7. Определение кислотности желудочного сока (N свободной 20-40 ммоль/л; связанной 10-20 ммоль/л; общей 40-60 ммоль/л) и патологических компонентов – молочной кислоты и крови имеет клинико – диагностическое значение для определения разных видов гастрита, язвы или даже рака желудка.

8. Пепсин – эндопептидаза, катализирующая гидролиз пептидных связей перед ароматическими и дикарбоновыми аминокислотами. Образовавшиеся крупные пентоны поступают с пищевым комком в двенадцатиперстную кишку, где под действием секретина создается щелочная среда (за счет гидрокарбонатов плазмы).

9. У детей грудного возраста соляной кислоты недостаточно и в желудке имеется реннин, вызывающий частичный гидролиз казеина, в результате образуется нерастворимый сгусток, задерживающий выход молока из желудка и его переваривание.

10. Панкреас синтезирует трипсиноген, химотрипсин, проэластазу, прокарбоксипептидазу, которые переходят в активные формы, образуя трипсин (частичный протеолиз под действием гормона местного действия – энтеропептидазы), он в свою очередь активирует остальные ферменты.

11. Трипсин гидролизует пептидные связи после диаминокислот, химотрипсин – после ароматических аминокислот, карбокиспептидаза отщепляет С – концевую аминокислоту, эластаза связь ала-гли.

12. В тонком кишечнике под действием ферментов пристеночного пищеварения – аминопептидазы и дипептидаз, отщепляются аминокислоты с N-конца и под действием дипептидаз образуются свободные аминокислоты.

13. Аминокислоты проходят через клеточные мембраны соответствующими белками - переносчиками (в почках) вторично – активным транспортом с Na^+ (в воротную вену), γ – глутаминным циклом из крови в клетки для внутриклеточного использования.

Лабораторная работа

Исследование желудочного сока. Определение кислотности желудочного сока (общей, свободной и связной HCl)

Принцип метода. Кислотность желудочного сока выражается количеством моль гидроксида натрия, необходимого для нейтрализации 1 л (1000 мл) желудочного сока. Различают следующие виды кислотности желудочного сока:

1. свободная HCl;
2. связанная HCl (кислореагирующие хлористоводородные соли белков и других слабых оснований);
3. общая кислотность (свободная и связанная HCl, а также кислые фосфорнокислые соли и органические кислоты).

Свободную и связанную соляную кислоту определяют путем титрования желудочного сока 0,1 М NaOH в присутствии индикатора диметиламиноазобензола, имеющего зону перехода окраски в кислой среде (pH=3-4). В качестве индикатора при определении общей кислотности используют фенолфталеин (зона перехода окраски фенолфталеина лежит в слабощелочной среде).

Ход работы. Отмеривают в колбочку 5 мл профильтрованного желудочного сока и прибавляют по 1-2 капли индикаторов (парадиметиламиноазобензола и фенолфталеина). Если желудочный сок содержит свободную HCl, получается красное окрашивание, если нет- оранжевое. При получении красной окраски содержимое колбочки титруют 0,1 М NaOH до оранжевого цвета. Записывают результаты и продолжают титровать до розовой окраски, которая держится 30-60 сек.

Производят расчет кислотности по формуле:

$$A = \frac{x \cdot 0{,}1}{0{,}005} = 20 \cdot x,$$

где

А – кислотность (мммоль/л);

х – результат титрования (мл);

0,1 – молярность раствора NaOH;

0,005 – объем пробы желудочного сока.

При расчете свободной HCl «х» соответствует титрованию от красного до оранжевого цвета, если цвет оранжевый – свободная кислотность отсутствует. При определении связанной PCl «х» соответствует переходу от оранжевого до желтого цвета.

При определении общей кислотности «х» равен количеству мл NaOH, ушедшему на титрование желудочного сока от начала титрования до розового окрашивания.

Норма: свободная HCl -20-40 ммоль/л; связанная – 2-15 ммоль/л; общая кислотность 40-60 ммоль/л.

Клинико-диагностическое значение анализа. Значительные изменения кислотности желудочного сока могут наблюдаться при заболеваниях желудка. При язвенной болезни желудка и гиретацидном гастрите происходит увеличение свободной соляной кислоты и общей кислотности.

Уменьшение свободной HCl и общей кислотности свидетельствует о гипоацидном гастрите. При раке желудка в желудочном содержимом может полностью отсутствовать соляная кислота (ахлоргидрия).

Обнаружение молочной кислоты (реакция Уфельмана)

Принцип метода. Молочная кислота с фенолятом железа (III) образует лактат железа, имеющий желто-зеленую окраску.

Ход работы. К 20 каплям 1% раствора фенола добавляют 102 капли 1% $FeCl_3$, т.е. получают фенолят железа, окрашенный в фиолетовый цвет. В данную смесь по каплям приливают желудочный сок. Регистрируют изменение окраски.

Норма: в норме реакция Уфельмана отрицательная.

Клинико-диагностическое значение анализа. Накопление молочной кислоты в желудочном содержимом характерно для рака желудка. Реакция возможна только в отсутствии свободной HCl.

Реакция на кровь с бензидином (кровь в желудочном соке – при изъявлении слизистой оболочки стенки желудка)

А) В пробирку наливают 1 мл желудочного сока, добавляют 4-5 капель 0,2% спиртового раствора бензидина и 5 капель 1% раствора перекиси водорода.

Б) Наблюдают окраску. Результаты записывают в таблицу.

В) При наличии крови в соке развивается синее окрашивание – продукт окисления бензидина.

Контрольные вопросы по теме

1. Дайте общее определение обмена веществ. Назовите основные этапы обмена.
2. Роль белков в жизнедеятельности организма.
3. Объясните динамическое состояние белков в организме.
4. Роль белков в питании. Норма белков в питании, в зависимости от таких факторов она может варьировать?
5. Что такое «коэффициент изнашивания»? Чему он равен?
6. Что такое азотистый баланс? Каким он может быть и почему? Что такое «квашиоркор»?
7. Каково Ваше представление о биологической ценности белка? Назовите заменимые и незаменимые аминокислоты. Приведите формулы.
8. Что такое биологический минимум белка? Чему он равен?
9. Каким превращениям подвергаются белки в желудочно-кишечном тракте? Биологическое значение этих процессов.
10. Какой химический процесс лежит в основе переваривания белков? Объясните процесс переваривания с биологической точки зрения.
11. Назовите протеолитические ферменты, а также основные органические и минеральные компоненты желудочного, панкреатического и кишечного соков.
12. Каков механизм образования соляной кислоты в слизистой оболочке желудка?
13. В чем заключается роль соляной кислоты в процессе пищеварения?
14. Перечислите виды кислотности желудочного сока. Метод их определения. Величины кислотности желудочного сока в норме.
15. Понятие об аутокатализе. Приведите примеры.
16. Какой механизм активирования протеолитических ферментов?
17. Охарактеризуйте действие пепсина, трипсина, химотрипсина. Какие связи они преимущественно гидролизуют и при какой оптиуме pH среды?
18. Как действуют карбоксипептидаза, аминопептидаза?
19. Укажите, на какие компоненты происходит расщепление хромопротеидов, фосфопротеидов и гликопротеидов при их переваривании.
20. Какие продукты переваривания простых и сложных белков (кроме нуклеопротеидов) могут всасываться из кишечника в кровь?
21. Укажите, для чего нужны аминокислоты в организме.

ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ

Цель изучения:

Знать важнейшие внутриклеточные превращения аминокислот.

I. Уметь определять активность трансаминаз и использовать этот показатель как диагностический тест.

II. Ответить на контрольные вопросы к данной теме.

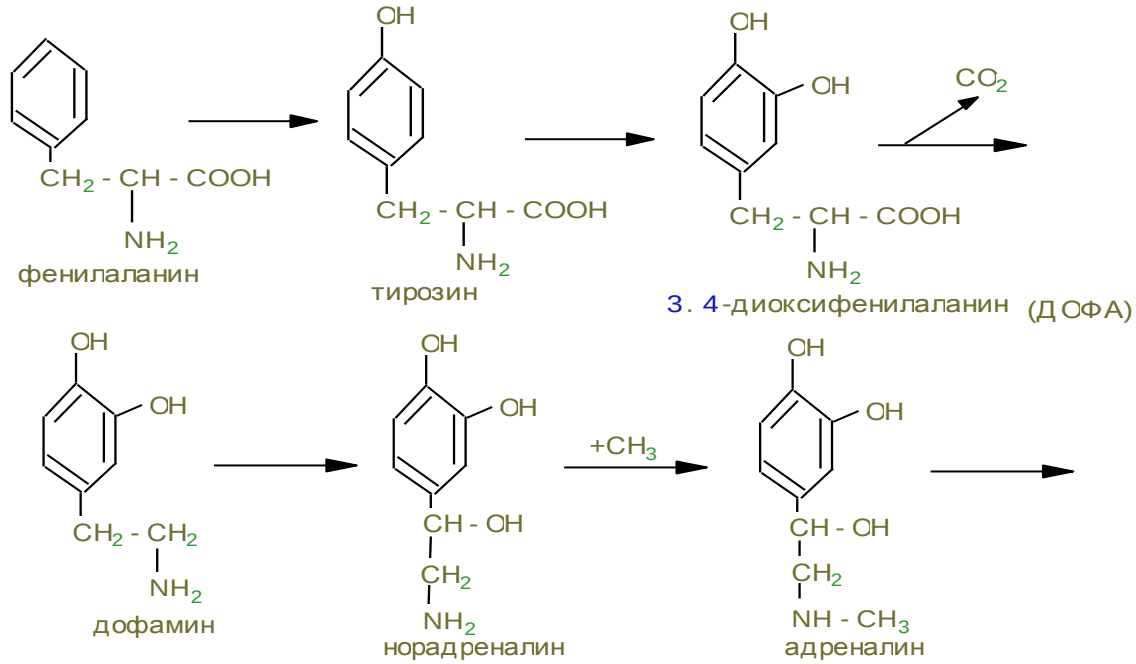
III. Исходный уровень знаний:

Знание структуры и химических свойств амино- и кетокислот (органическая химия).

IV. Содержание темы:

1. Аминокислоты, не успевшие всосаться в кровь, в нижних отделах кишечника подвергаются гниению и главное их превращение по карбоксильной группе – декарбоксилирование с образованием ядовитых диаминов кадаверина (из лизина) и путресцина (из орнитина). В нервных клетках реакции декарбоксилирования приводят к образованию биогенных аминов, играющих роль медиаторов передачи нервного импульса (дофамин, ГАМК, серотонин и др.)

Гормоны мозгового слоя надпочечников (схема образования катехоламинов)



2. Коферментом декарбоксилаз является производное витамина B_6 – пиридоксальфосфат, который соединяется с аминокислотой по аминогруппе. Белковая часть фермента декарбоксилаз ослабляет связь карбоксильной группы с α-атомом углерода и реакция идет с выделением CO_2.

3. Накопление биогенных аминов приводит к различным патологиям и организм их обезвреживает в основном моноаминооксидазой с выделением аммиака и образованием соответствующих альдегидов.

4. Внутриклеточный метаболизм аминокислот идет и со стороны аминогруппы, которая отщепляется в результате дезаминирования. При внутриклеточном дезаминировании образуется двойная связь и сопровождается выделением аммиака и непредельных аминокислот (уроканиновая кислота из гистидина, фумаровая из аспартата). Дезаминированием заканчивается и дегидратация серина и треонина, выделение H_2S из цистеина. При этом образуются α-кетокислоты – самый распространенный продукт самого выгодного окислительного дезаминирования.

К образованию кетокислот приводит и действие оксидаз α-аминокислот, только здесь в качестве побочного продукта выделяется пероксид водорода, обезвреживаемый гепатоцитами каталазой.

5. Наиболее интенсивное и выгодное дезаминирование идет под действием глутаматдегидрогеназы, которая превращает глутамат сначала в иминоглутаровую, а потом с выделением аммиака (спонтанно) α – кетоглутаровой кислоты. При этом в митохондриях кофермент НАДН+H^+ при окислительном фосфорилировании способствует синтезу трех молекул АТФ. Выше указанные превращения – результат прямого дезаминирования.

6. Остальные аминокислоты подвергаются трансаминированию с α – кетоглутаровой кислотой (реже с щавелевоуксусной кислотой) в результате которого идет обмен функциональными группами и аминокислоты становятся α – кетокислотами, превращая α – кетоглутарат в глутамат, легко подвергающийся прямому дезаминированию под действием глутаматдегидрогеназой.

7. Трансаминирование происходит под действием того же пиридоксальфосфата, однако белковая часть трансаминаз ослабляет связь между α-С и аминогруппой. Таким образом, это тоже дезаминирование, но непрямое.

8. Трансаминирование в мышечной и мозговой ткани может идти через перенос аминогруппы на ЩУК с образованием аспартата, который в свою очередь служит донором аммиака для ИМФ с образованием АМФ, который и выделяет NH_3 с образованием снова ИМФ.

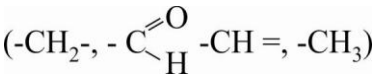
9. Определение аланинтрансаминазы и аспартатаминотрансферазы имеет диагностическое значение при диагностировании в первом случае заболеваний печени, во втором – заболевании сердца.

10. Образовавшиеся при дезаминировании и трансаминировании α – кетокислоты включаются в ЦТК и сгорают до CO_2 и H_2O. Аминокислоты, дающие при своем распаде α – кетокислоты – участники ЦТК – называются гликогенными, т.к. они через ПВК или ЩУК могут использоваться в глюконеогенезе (большинство).

Часть аминокислот (фен, три, тир) из цикла дают кетоновые тела, а из остатка аланина – ПВК, т.е. являются кето- и гликогенными, а лей и лиз – чисто кетогенные амино – кислоты.

11. Продукты распада углеводов – кетокислоты служат сырьем для биосинтеза в результате восстановительного аминирования или трансаминирования заменимых аминокислот (ала, глу, асп и др.) Аминокислоты, для которых соответствующие α – кетокислоты в нашем организме не синтезируются, называются незаменимыми (лей, вал, фен и др.).

12. Индивидуальный обмен аминокислот заключается в превращении радикалов. Заменимая аминокислота серин под действием оксиметилтрансферазы и тетрагидрофоливой кислоты дает глицин и метилентетрагидрофолат, который образуется и из глицина. N^5N^{10} – CH_2 – тетрагидрофолат под действием $НАД^+$, гидролаз может быть переносчиком одноуглеродных фрагментов



в различных синтезах. Витамин B_{12} работает в тандеме с фолиевой кислотой, регенерирующий метионин, который является донором – CH_3.

13. Индивидуальный обмен фенилаланина дает ряд исходных продуктов для образования медиаторов (дофамина и норадреналина) и гормона – адреналина, тироксина, пигментов. Нарушения этих процессов – причина многих патологий.

14. Триптофан – источник серотонина и никотинамида и нарушения в этих процессах ведут к патологиям со стороны нервной системы и общего метаболизма (vit PP).

15. Дикарбоновые кислоты играют большую роль в обезвреживании аммиака, а также в качестве доноров аммиака в многочисленных синтезах (азотистые основания, синтез др. аминокислот и т.д.).

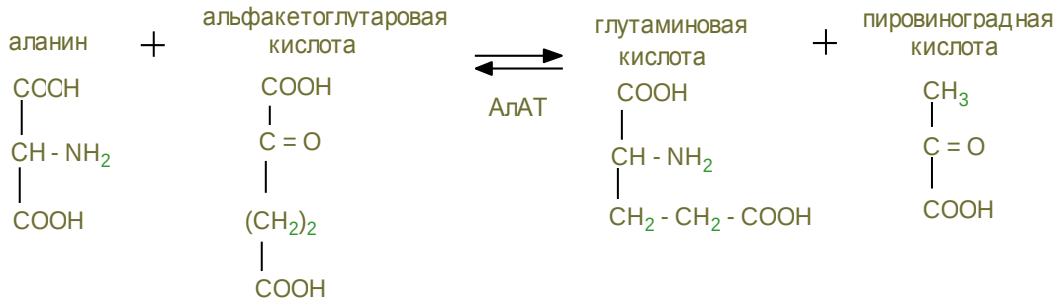
Лабораторная работа

Обнаружение аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в нормальной и патологической в сыворотке крови

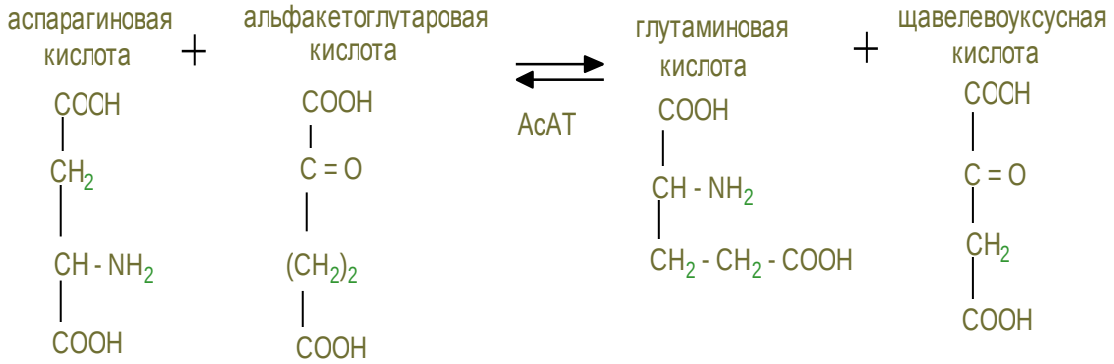
Существуют спектрофотометрические и колориметрические методы определения аминотрансферазы. Колориметрические методы основаны на образовании окрашенного продукта динитрофенилгидразона пировиноградной кислоты, образовавшейся в результате реакции переаминирования.

Наиболее диагностическое значение имеет определение в сыворотке крови активности двух аминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ).

АлАТ катализирует реакцию:



АсАт катализирует реакцию:



В результате переаминирования под действием АсАТ аспарагиновая кислота превращается в щавелевоуксусную. А аланин под действием АлАТ – в пировиноградную кислоту. Щавелевоуксусная кислота в процессе ферментативной реакции способна превращаться в пировиноградную кислоту, которая с 2,4динитрофинилгидразином образуют окрашенный продукт – динитрофенилгидразон пировиноградной кислоты. Интенсивность окраски последнего пропорциональна к количеству образовавшейся пировиноградной кислоты, и, следовательно, активности фермента.

Расчет по прилагаемой таблице.

Активность аминотрансферазы выражают в микромолях пировиноградной кислоты, образованной в 1 мл сыворотки крови за 1 час инкубации при температуре 37°С.

В норме активность аминотрансфераз в сыворотке крови человека невелика и составляет для АсАТ от 0,1 до 0,45 мкмоль/ч, а для АлАТ – 0,1-0,68 мкмоль/ч пировиноградной кислоты на 1 мл сыворотки, но резко возрастает при инфаркте миокарда и вирусном гепатите.

Ход работы. Берем 2 пробирки: отмечаем – одна – контроль, вторая опыт. В опытную пробирку наливаем 0,05 мл сыворотки крови и 0,25 мл субстрата АсАТ (содержит аспарагиновую и α-кетоглутаровую кислоты). В контрольную добавляем 0,05 мл дистиллированной воды и 0,25 мл субстрата. Обе пробирки помещаем в термостат на 35 минут.),

После чего в обе пробирки добавляем 0,25 мл ДНФГ (динитрофенилгидразина оставляем на 20 минут при комнатной температуре, затем добавляем 2,5 мл гидроксида натрия (0,4N) и фотометрируем: светофильтр зеленый (длина волны 54о нм), кювета 10 против контроля. Расчет проводим по таблице, где дана экстинция и активность.

Активность аланинаминотрансферазы		Активность аспартаттрансаминазы	
Екстинция, E_0	Активность, мкмоль/мл	Екстинция, E_0	Активность, мкмоль/мл
0,01	0,12	0,01	0,06
0,02	0,24	0,04	0,24
0,04	0,48	0,08	0,48
0,06	0,72	0,10	0,60
0,08	0,96	0,12	0,72
0,09	1,02	0,16	0,96
0,10	1,14	0,19	01,14
0,12	1,38	0,20	1,20
0,14	1,62	0,24	1,44
0,16	1,86	0,28	1,68
0,18	2,10	0,30	1,80
0,20	2,37	032	1,92
0,22	2,58	0,34	2,04
0,24	2,72	0,38	2,28
0,26	2,96	0,40	2,40
0,27	3,08	0,44	2,64
0,30	3,44	0,48	2,88
0,32	3,68		
0,34	3,92		
0,36	4,16		
0,37	4,28		
0,38	4,40		

<u>Диагностическое значение анализа</u>

Реакции переаминирования являются центральным звеном внутриклеточного метаболизма аминокислот и важным звеном связки между обменом белков и углеводов, а в определенной мере и жиров. Процессы переаминирования (трансаминирования) катализируются ферментами – аминотрансферазами (трансаминазами), с участием производного витамина B_6 –пиродоксальфосфата. В клинической практике широко используется определение активности двух наиболее важных аминотрансфераз: аспартат-аминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) – для ранней диагностики инфаркта миокарда и заболеваний печени, особенно при вирусном гепатите. АлАТ преобладает в печени, а АсАТ – в миокарде. В сыворотке крови здорового человека их активность низкая, но она резко возрастает при поражении печени или миокарда, за счет поступления ферментов в кровь из больного органа.

Поэтому определение аминотрансфераз в сыворотке крови имеет важное значение для ранней диагностики поражений печени и миокарда. Вот почему знание биохимической роли процессов переаминирования и диагностического значения определения аминотрансфераз сыворотки крови необходимы будущему врачу.

Контрольные вопросы по теме

1. Механизм всасывания аминокислот в кишечнике.
2. Почему внутриклеточный обмен аминокислот наиболее важная фаза обмена?
3. Укажите основные направления внутриклеточного обмена аминокислот.
4. Что такое гниение белков в кишечнике? Напишите формулы продуктов гнилостного разложения следующих аминокислот:

а) лизин; б) орнитин; в) тирозин; г) триптофан.

5. Механизм декарбоксилирования аминокислот.
6. Биологическая роль процесса декарбоксилирования аминокислот.
7. Написать реакции образования

а) гистамина; б) серотонина; в) гамма-аминомасляной кислоты.

Их биологическая роль.

8. Дайте определение процессам переаминирования и его роль в обмене веществ
9. Строение аминотрансфераз (трансаминаз).
10. Приведите примеры реакции внутриклеточного обмена аминокислот.
11. Какие наиболее важные биохимические процессы происходят с аминокислотами при внутриклеточном обмене?
12. Какой механизм ферментативного переаминирования? Аминотрансферазы.
13. Какова роль пиродоксаль-фосфата в процессах переаминирования?
14. Напишите в общем виде схему переаминирования между аспарагиновой кислотой и альфа-кетаглутаровой кислотой.
15. Какое диагностическое значение определения важнейших аминотрансфераз сыворотки крови АлАТ и АсАТ и при каких заболеваниях?
16. Объясните принцип определения аминотрансфераз АлАТ и АсАТ в сыворотке крови.
17. Какое биологическое значение процессов переаминирования. Общие представления о роли переаминирования в обмене веществ.
18. Напишите схему переаминирования между аланином и пиродоксаль-фосфат-ферментом до стадии образования пировиноградной кислоты и пиродоксамин-фосфат-фермена.
19. Напишите схему переаминирования от стадии взаимодействия пиродоксамин-фосфат-фермента с альфа-кетаглутаровлй кислотой до образования глутаминовой кислоты и пиродоксадьфосфат-фермента.
20. Какую роль играют альфа-кетокислоты (альфа-кетоглутаровая, щавелевоуксусная, пировиноградная) в превращениях аминокислот?
21. Что погимают под процессами дезаминирования аминокислот?
22. В чем состоит различие между процессами трансаминирования и дезаминирования аминокислот?
23. Перечислите возможные пути дезаминирования аминокислот и напишите их схематически. Укажите, какой путь дезаминирования аминокислот характерен для организма человека и назовите продукты этой реакции.
24. Какой токсический для организма человека образуется в тканях продукт в результате дезаминирования аминокислот?
25. Какие еще органические вещества, имеющие аминогруппу, кроме аминокислот, могут подвергаться дезаминированию?
26. Укажите, что понимают под непрямым путем дезаминирования аминокислот? Что такое трансдезаминирование?
27. В чем состоит биологическое значение непрямого пути дезаминирования аминокислот?
28. Какие ферменты катализируют реакции окислительного дезаминирования аминокислот? Каково их строение?
29. Напишите схему окислительного дезаминировани глутаминовой кислоты и укажите фермент, катализирующий эту реакцию. Приведите название кофермента. Какую функцию он выполняет? Какие продукты реакции образуются?

30. Какие аминокислоты наиболее активно дезаминируются прямым путем?

31. Напишите уравнение реакции (с указанием фермента) прямого дезаминирования

а) аланина, валина;

б) лейцина, изолейцина, триптофана, фенилаланина, тирозина, глутаминовой кислоты.

32. Что такое восстановительное аминирование? Укажите биологическое значение этого процесса.

33. Какие аминокислоты образуют при восстановительном аминировании альфа-кетаглутаровой и щавелевоуксусной кислоты?

34. Какие наиболее важные аминокислоты активно участвуют в тканевом обмене?

35. Приведите общую краткую схему моноаминодекарбоновых аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой) и образования из них биологически важных соединений.

36. Приведите общую схему обмена серосодержащих аминокислот (метионина, цистеина) и образования из них биологически важных соединений.

37. Роль метионина в азотистом обмене. Напишите реакцию образования активной формы метионина.

38. Что такое реакция трансметилирования? В биосинтезе каких веществ имеет место эта реакция?

39. Напишите реакции синтеза креатина. Какова роль биологическая этого вещества?

40. Напишите уравнение реакции, катализирующуюся креатинфосфокиназой. Диагностическое значение определения активности креатинфосфокиназы.

41. Напишите формулу конечного продукта обмена креатина. Диагностическое значение определения креатина в крови и моче.

42. Напишите реакции образования таурина. Какова его роль в организме?

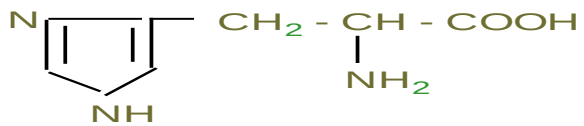
43. Приведите общую схему обмена ароматических аминокислот (фенилаланина и тирозина) и образования в них биологически важных соединений.

44. Основные пути обмена фенилаланина и тирозина (представить в виде схемы).

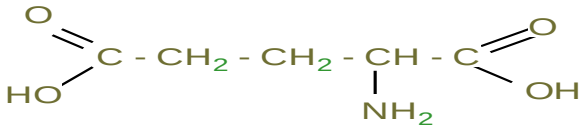
45. Наследственные нарушения обмена фенилаланина и тирозина.

46. Приведите общую схему обмена гетероциклических аминокислот (триптофана, гистидина) и образования из них биологически важных соединений.

47. Какие соединения образуются из данной аминокислоты в результате ее декарбоксилирования?



48. Какие соединения образуются из данной аминокислоты в результате ее дкарбоксилирования?



Конечные продукты азотистого обмена. Биосинтез мочевины

I. ***Цель изучения:*** знать конечные продукты обмена белков в организме, основные источники образования аммиака, пути его обезвреживания из организма.

II. ***Уметь*** количественно определять содержание мочевины по цветной реакции с диацетилмонооксимом в сыворотке крови; познакомиться с физико-химическими свойствами мочевины.

III. ***Исходный уровень знаний:*** качественные реакции на аммиак (неорганическая химия).

IV. ***Ответить*** на вопросы контрольных итоговых билетов по теме: «Распад простых белков. Метаболизм аминокислот, конечные продукты азотистого обмена».

V. ***Содержание темы:***

1. Конечными продуктами распада азотсодержащих веществ являются углекислый газ, вода и аммиак, в отличие от углеводов и липидов. Источником аммиака в организме являются аминокислоты, азотистые основания, амины. Аммиак образуется в результате прямого и непрямого дезаминирования аминокислот, (основной источник) гидролитического дезаминирования азотистых оснований, инактивации биогенных аминов.

2. Аммиак токсичен и его действие проявляется в нескольких функциональных системах: а) легко проникая через мембраны (нарушая трансмембранный перенос Na^+ и K^+) в митохондриях связывается с α-кетоглутаратом и другими кетокислотами (ЦТК), образуя аминокислоты; в этих процессах используются и восстановительные эквиваленты ($NADH+H^+$).
б) при высоких концентрациях аммиака глутамат и аспартат образуют амиды, используя и АТФ нарушая все тот же ЦТК, являющийся главным энергетическим источником работы мозга. в) Накопление глутамата в мозге повышает осмотическое давление, что ведет к развитию отека. г) Повышение концентрации аммиака в крови (N – 0.4 – 0.7 мг/л) сдвигает pH в щелочную сторону, повышая сродство O_2 к гемоглобину, что вызывает гипоксию нервной ткани. д) Уменьшение концентрации α-кетоглутарата вызывает угнетение обмена аминокислот (синтеза нейромедиаторов), ускорение синтеза оксалоацетата из пирувата, что связано с повышенным использованием CO_2.

3. Гипераммониемия прежде всего отрицательно действует на мозг и сопровождается тошнотой, головокружением, потерей сознания, отставанием умственного развития (при хронической форме).

4. Основной реакцией связывания аммиака во всех клетках является синтез глутамина под действием глутаминсинтетазы в митохондриях, где используется для этой цели АТФ. Глутамин облегченной диффузией поступает в кровь и транспортируется в кишечник и почки. В кишечнике под действием глутаминазы образуется глутамат, который трансаминируется с пируватом, превращая его в аланин, поглощаемый печенью; 5% аммиака удаляется через кишечник, остальные 90% выводятся почками.

5. В почках также идет гидролиз глутамина с образованием аммиака под действием глутаминазы, которая активируется ацидозом.

В просвете канальцев аммиак нейтрализует кислые продукты обмена образуя аммонийные соли для выведения, одновременно сокращая потери K^+ и Na^+. (N – 0,5г солей аммония в сутки).

6. Высокий уровень глутамина в крови обуславливает его использование во многих анаболических реакциях в качестве донора азота (синтез азотистых оснований и др.)

7. Наиболее значительные количества аммиака обезвреживаются в печени синтезом мочевины (86% азота в моче) в количестве ~25 г/сутки. Биосинтез мочевины – циклический процесс, где ключевым веществом является орнитин, присоединяющий карбомоил, образованный из NH_3 и CO_2 при активации 2АТФ. Образованный цитруллин в митохондриях транспортируется в цитозоль для введения второго атома азота из аспартата с образованием аргинина. Аргинин гидролизуется аргиназой и превращается снова в орнитин, а вторым продуктом гидролиза является мочевина, которая по сути дела в этом цикле образовалась из двух атомов азота (источники – NH_3 и аспартат) и одного атома углерода (из CO_2). Энергией обеспечивают 3АТФ (2- при образовании карбомолфосфата и 1 при образовании аргининосукцината).

8. Орнитиновый цикл тесно связан с ЦТК, т.к. аспартат образуется при трансаминировании ЩУК из ЦТК, а фумарат, оставшийся из аспартата после удаления NH_3, возвращается в ЦТК и, при превращении его в ЩУК, образуются 3 АТФ, обеспечивающие биосинтез молекулы мочевины.

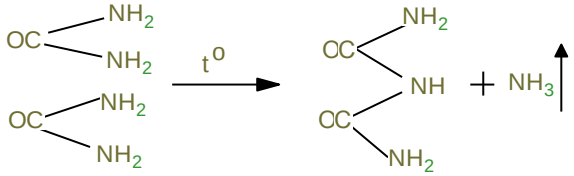
9. Наследственные нарушения орнитинового цикла (цитруллинемия, аргининосукцинатурия, гипераргининемия) ведут к гиперамминиемии и в тяжелых случаях могут привести к печеночной коме.

10**. Норма мочевины в крови 2,5-8,3 ммоль/л.** Понижение наблюдается при болезнях печени, повышение – результат почечной недостаточности.

Лабораторная работа

Качественная реакция на мочевину и определение ее содержания в моче (крови)

Принцип метода. При нагревании в пробирке мочевина плавится и после остывания образует твердую массу, состоящую из биурета.



Биурет содержит амидную связь, поэтому для него характерна биуретовая реакция.

Ход работы. Несколько кристалликов мочевины помещают в пробирку и нагревают до плавления в пламени горелки. После остывания расплавленной массы добавляют 1 мл дистиллированной воды, 5 капель раствора гидроксида натрия и каплю раствора сульфата меди (биуретовая реакция). Раствор приобретает красно-фиолетовый цвет.

Количественное определение мочевины в моче (крови)

Принцип метода. Мочевина образует с диацетилмонооксидом в сильно кислой среде, в присутствии тиосемикарбазида и ионов трехвалентного железа, красный комплекс, который фотометрируется.

Ход работы. В опытную пробирку отмеряют 0,01 мл сыворотки крови или мочи разбавленной (1часть мочи и 50 частей воды) – I пробирка,

II пробирка – контрольная – отмеривают 0,01 мл дистиллированной воды.

III пробирка -0,01 мл стандартного раствора (эталон -16,65 ммоль/л).

Во все три пробирки добавляем по 2мл рабочего раствора. (Рабочий раствор содержит серную кислоту и диацетилмонооксид.) Перемешиваем и нагреваем на водяной бане в течении 10 минут, охлаждаем и через 15 минут измеряем екстинцию на ФЭКе. Длина волны 490-540 (светофильтр зеленый), кюветы 5 мл.

Количество мочевины:

$$\text{моль /л} = \frac{16{,}65 \cdot E_0}{E_{эталона}}$$

Норма мочевины в крови (1 ммоль/л) 2,5 – 8,3 ммоль/л.

Норма в моче 333-583 ммоль/л.

Клинико-диагностическое значение.

Содержание мочевины в крови повышается при острой хронической почечной недостаточности, при рефлекторной анурии, камнях, опухолях мочевыводящих путей, предстательной железы, при непроходимости кишечника, перитоните, острой желчной атрофии печени, шоке, ожоге, при дезинтерии, после употреблении сульфаниламидов, левомицетина, фуросемида, тетрациклина, допинга, лазикса. Содержание мочевины уменьшается при паранхиматозной желтухе, дистрофии печени, циррозе, отравлениях фосфором, мышьяком и другими ядовитыми веществами, нарушающими мочеобразовательную функцию печени.

Контрольные вопросы по теме

1. Пути образования аммиака в организме.
2. Механизм «временного обезвреживания аммиака».
3. Механизм окончательного обезвреживания аммиака в организме.
4. Напишите реакции синтеза мочевины.
5. Какого происхождение атомов азота и атома углерода мочевины?
6. Механизм регенерации аспарагиновой кислоты в процессе синтеза мочевины.
7. Роль дикарбоновых аминокислот в процессе обезвреживания аммиака.
8. Диагностическая роль определения содержания мочевины в крови и моче.

Итоговая работа по теме «Распад белков и обмен аминокислот»

1

1. Выберите, чем отличается пищевая ценность белков:
1) аминокислотным составом;
2) наличием заряда белковых молекул;
3) возможностью расщепления в ЖКТ;
4) порядком чередования аминокислот в молекуле белка;
5) молекулярной массой белков.

2. Животному ввели метионин с меченой (^{14}C) метильной группой. Через некоторое время метка была обнаружена во фракции мембран. В состав какого соединения может быть найдена метка? Напишите уравнение реакции образования этого вещества с участием SAM.

3. Выберите процессы, сопровождающиеся образованием аммиака в организме:
1) дезаминирование аминокислот;
2) обезвреживание биогенных аминов окислительным путем;
3) распад мочевины;
4) дезаминирование АМФ;
5) аминирование α-КГ.

2

1. В состав белков пищи, которую скармливали животным, входили пептиды следующего состава:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ала -	сер –	гли –	тир –	гис -	фен –	лиз –	три –	вал –	лей

Назовите ферменты (и номер соответствующей связи), которые расщепляют эти пептиды:

а) в желудке;

б) в просвете тонкого кишечника;

в) в слизистой тонкого кишечника (кишечной кайме).

2. Подберите ферментам, участвующим в обмене аминокислот, соответствующие коферменты:

1) Декарбоксилазы	1. ФАД
2) Аминотрансферазы	2. $НАД^+$
3) Глутаматдегидрогеназа	3. ПАЛФ
4) Моноаминооксидаза	4. H_4 - фолат
5) Метилтранферазы	5. ТПФ
	6. Биотин

3. При болезни Паркинсона выражен дефицит дофамина, поэтому для лечения применяют препараты ДОФА или ингибиторы МАО (ипраниазид и др.). Объясните действие названых лекарственных препаратов, написав соответствующие реакции.

3

1. В состав белков пищи, которую скармливали животным, входили пептиды следующего состава:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ала -	сер -	гли -	тир -	гис -	фен -	лиз -	три -	вал -	лей

а) назовите продукты, которые образуются в результате совместного действия ферментов, и укажите их дальнейшую судьбу;

б) Какие из поступивших в клетки кишечника аминокислот являются:
а) заменимыми
б) незаменимыми
в) частично заменимыми
г) условно заменимыми.

2. Сравните процессы трансаминирования и дезаминирования аминокислот:
1) является этапом катаболизма аминокислот;
2) может служить для синтеза аминокислот;
3) не приводит к изменению общего количества аминокислот;
4) приводит к увеличению общего количества аминокислот
5) сопровождается образованием аммиака.

а) дезаминирование; б) трансаминирование; в) оба процесса; г) ни один из процессов.

Приведите примеры.

3. Приведите к пронумерованным реакциям обезвреживания аммиака соответствующий фермент.
   1) глу – NH_3 + АТФ → глн + АДФ + $Ф_н$
   2) α-КГ + NH_3 + НАД H_2 ⇆ глу + $НАД^+$
   3) CO_2 + NH_3 + 2АТФ → карбомоилфосфат + 2АДФ + $Ф_н$

А. Глутаминаза

В. Глутаминсинтетаза

С. Глутаматдегидрогеназа

Д. Карбоноилфосфатсинтетаза.

4

1. В состав белков пищи, которую скармливали животным, входили пептиды следующего состава:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ала -	сер -	гли -	тир -	гис -	фен -	лиз -	три -	вал -	лей

Могут ли возникнуть нарушения в развитии молодых крыс, если их долго держать на диете, в состав которой будут входить в качестве пищевого белка только перечисленные аминокислоты и почему?

2. Напишите схемы дезаминирования:
   а) глу-; б) сер-; в) асп-; г) гис-. Назовите вид дезаминирования. Укажите ферменты и коферменты реакций, связанные с синтезом АТФ.
3. Подберите к данным реакциям орнитинового цикла и недостающий компонент.
   1) ? + аспартат → аргининосукцинат
   2) орнитин + карбамоилфосфат → ?
   3) аргинин → мочевина + ?
   4) аргининосукцинат → аргинин + ?

а) цитруллин

б) фумарат

в) орнитин

г) аргинин

д) сукцинат

5

1. Животных длительное время содержали на белковой диете с искусственной смесью аминокислот, в которой отсутствовали глутаминовая, аспарагиновая кислоты и серин, однако, нарушений в развитии этих животных не обнаружили. Как можно объяснить этот факт? Ответ подтвердите реакциями.
2. Пациенту с острыми болями в области сердца определяли активность аминотрасфераз в крови. а) Активность какой из аминотрансфераз в наибольшей степени увеличится при этой патологии?
   б) Напишите реакцию, катализируемую этим ферментом, укажите кофермент.
3. Известно наследственное заболевание аргининосукцинатурия, при котором суточная экскрекция аргиниосукцината достигает 3 г (в норме отсутствует). Укажите, дефект какого из перечисленных ферментов орнитинового цикла приводит к данной патологии:
   1) карбомоилфосфатсинтетаза
   2) орнитинкарбомоилтрансфераза
   3) аргининосукцинатлиаза
   4) аргининосукцинатсинтетаза
   5) аргиназа Написать соответствующие уравнение реакции.

6

1. Крысам скармливали белковую смесь, содержащую полипептидные ферменты следующего состава:

-цис – мет – арг –гли – ала – фен – вал – сер –

а) под действием каких ферментов кишечника при переваривании данного фермента белка появятся пептиды, С-концевыми аминокислотами которых являются арг- и фен-?

б) объясните биологический смысл секреции этих ферментов в виде проферментов и механизм активации.

2. Выберите реакции и компоненты, характерные для процессов прямого и не прямого дезаминирования:
   1) трансаминирование с α-кетоглутаратом
   2) дезаминирование глу-
   3) трансаминироание с оксалоацетатом
   4) участвует фосфопиридоксаль
   5) участвует $НАД^+$
   6) процесс не связан с трансаминированием
   7) процесс сопряжен с синтезом АТФ в ЦПЭ (цепи переноса электронов–е)

а) характерно только для прямого дезаминирования

б) характерно только для не прямого дезаминирования в) характерно для обоих процессов г) не характерно ни для одного из названных процессов. Ответ иллюстрируйте уравнениями реакций.

3. а) Покажите путь азота от аминогруппы валина до азота мочевины:

1) Напишите реакцию дезаминирования этой аминокислоты;

2) Напишите схему орнитинового цикла.

б) напишите реакцию, которая будет блокирована при нарушении синтеза карбамоилфосфатсинтетазы.

7

1. Подберите для каждой из перечисленных аминокислот соответствующую характеристику:

1. гли-	6. гис-
2. лей-	7. сер-
3. арг-	8. фен-
4. ала-	9. глу-
5. лиз-	10. три-

А. незаменимая аминокислота

В. заменимая аминокислота

С. частично заменимая аминокислота.

2. А. Напишите реакцию трансаминирования между аспарагиновой и α-кетоглутаровой кислотами, дайте название фермента и кофермента.

Б. выберите пункты, отражающие значение реакции трансаминироания:

1) обеспечивают образование заменимых аминокислот;
2) является этапом катаболизма аминокислот;
3) обеспечивают перераспределение аминного азота между аминокислотами в организме;
4) обеспечивают синтез незаменимых аминокислот.

3. При тяжелых вирусных гепатитах у больных может развиться печеночная кома, обусловленная, в частности, токсическим действием аммиака на клетки мозга.

А. Какова причина столь значительного накопления аммиака в крови?

Б) Как изменится концентрация мочевины в крови у данных больных?

8

1. Подберите к каждому проферменту соответствующий активатор:

1. Пепсиноген
2. Трипсиноген
3. Химотрипсиноген
4. Прокарбоксипептидаза

А. бикарбонат натрия В. HCl

С. трипсин D. энтеропептидаза

2. Напишите реакцию трансаминирования между глутаминовой и пировиноградной кислотами.

А. Укажите полное название фермента по прямой и обратной реакциям, назовите кофермент.

Б. для каких целей используется определение активности трансаминаз в клинической практике?

3. Известно наследственное заболевание цитруллинемия, которое проявляется у детей тяжелой рвотой, нарушением сознания судорогами. В крови обнаруживается значительное количество цитруллина.

А. Напишите схему реакций орнитинового цикла, на схеме укажите место ферментного блока.

Б. Запишите реакцию, которая будет блокирована при данной патологии.

В. Какую диету можно рекомендовать таким больным?

9

1. Что происходит при активации протеолитических ферментов (расположите выбранные пункты в необходимом порядке)?

1) Отщепление части пептида;
2) Образование новых слабых взаимодействий;
3) Образование активного центра;
4) Изменение взаиморасположения аминокислотных остатков.

2. Напишите формулами и выучите реакции трансаминирования между следующими парами аминокислот и α-кетокислот:

а) глу + ПВК → б) глу + ЩУК →

в) аси + α-кетоглутарат →

укажите название кофермента, его механизм действия.

3. Выберите ферменты, которые участвуют в реакциях иноктивации биогенных аминов:

1) декарбоксилаза;
2) моноаминооксидаза;
3) 3)трансаминаза;
4) фосфорилаза;
5) трансметилаза.

10

1. В организме животного осуществляется биосинтез специфического белка, содержащего тирозин, метионин и гистидин в соотношении 2:3:1. Сколько пищевого белка необходимо вводить в организм, если соотношение перечисленных аминокислот в нем равно 1:3:1? Какие аминокислоты окажутся в относительном избытке?

2. Выберите процессы, в которых участвует безазотистый остаток аминокислот:

1) синтез заменимых аминокислот;
2) окисление до CO_2 и H_2O;
3) синтез глюкозы;
4) синтез кетоновых тел. Приведите примеры аминокислот.

3. Накопление биогенных аминов – продуктов декарбоксилирования аминокислот – может вызвать ряд серьезных нарушений в организме, однако существуют механизмы инактивации и выведения этих соединений.

А. Напишите в общем виде реакцию инактивации биогенных аминов окислительным путем.

Б. Укажите фермент и кофермент.

11

1. У больного плохой аппетит, тошнота, большая потеря массы. При анализе желудочного сока определено; общая кислотность 20 ед., свободной HCl нет, проба на кровь и молочную кислоту положительная, резко повышена активность $ЛДГ_5$. Дайте заключение по анализу.

2. При длительном голодании белки скелетных мышц используются в качестве источника энергии. Перечислите, какие превращения должны произойти с этими белками и продуктами их распада в скелетных мышцах и в печени, прежде, чем сердечная мышца и мозг смогут использовать энергию их распада. Ответ иллюстрируйте схемами реакций.

3. Биохимическое исследование крови и мочи больного показало, что концентрация мочевины в моче равна 180 ммоль/сутки, а в крови – 1,5 ммоль/л.

Нарушение какого метаболического пути можно предположить? Каковы возможные причины этих нарушений?

12

1. В чем заключается роль HCl в процессе пищеварения? Механизм образования.

2. Проследите пути превращения лей-, поступившего с пищей в организм человека. Для этого ответьте на следующие вопросы:

А. К какой группе аминокислот по возможности синтеза в организме относится лей-?

Б. Напишите реакцию дезаминирования лей-.

В. каким образом образовавшийся аммиак будет обезврежен в мышцах? Напишите реакции.

Г. К какой группе аминокислот по судьбе безазотистого остатка относится лей-?

3. При синдроме Баттлера-Олбрайте отмечаются следующие нарушения:

Снижается выделение солей аммония с мочой, повышается экскреция натрия и калия (что приводит к гипонатриемии, к гипокалиемии), возникает ацидоз.

Предположите, активность какого фермента снижена в почках?

Напишите реакцию, которую он катализирует.

Почему развивается ацидоз и увеличивается потеря калия и натрия?

13

1. Роль белков в питании. Норма белков в питании.

2. Что такое гниение белков в кишечнике? Напишите формулы продуктов гнилостного разложения

а) лизина; б) орнитина, в) тирозина,
г) триптофана.

3. При титровании 5 мл желудочного сока в присутствии парадиметиламиноазобензола израсходовано 0,1 мл NaOH, а в присутствии фенолфталеина – 0,5 мл. Дайте заключение о кислотности желудочного сока и его способности гидролизовать белок.

14

1. Объясните динамическое состояние белков в организме.
2. Приведите общую схему обмена ароматических аминокислот и образование из них биологически важных соединений.
3. Из биологической лаборатории поступили 2 анализа на содержание мочевины в сыворотке крови двух больных. Один больной страдает заболеванием почек, второй – заболеванием печени. Анализы показали, что содержание мочевины в сыворотке крови одного из больных составляет 90 мг% (14,9 ммоль/л). А в сыворотке другого 7 мг% (1,1 ммоль/л) Укажите больных, которым принадлежат эти анализы. Объясните возможные причины наблюдаемых сдвигов (N мочевины?).

15

1. У больного наблюдается боли в области желудка, малокровие. При анализе желудочного сока установлено: общая кислотность равна 120 ед., свободная соляная кислота 90 ед., связанная 30 ед. Бензидиновая проба на кровь положительная. Количество мукопротеидов снижено. Дайте заключение по анализу.
2. Написать реакции образования:
   а) гистамина,
   б) серотонина;
   в) γ-аминомасляной кислоты.
3. Взаимосвязь двух циклов Кребса (орнитинового и ЦТК).

Гормоны

I. ***Цель изучения***: знать классификацию, строение, свойства и механизм действия гормонов в организме и их применение в клинической практике.

II. ***Уметь*****:** проводить качественные реакции на инсулин, окситоцин, адреналин, тироксин и фолликулин, с целью их идентификации в биологических объектах.

III. ***Ответить*** на контрольные вопросы к теме (приложение к лабораторной работе).

IV. ***Подготовить*** и огласить реферат по заданному гормону.

V. ***Содержание темы*****:**

1. Системы регуляции, осуществляющие взаимосвязь между отдельными клетками, тканями и органами и обеспечивающие нормальное функционирование всего организма являются, во-первых, ЦНС, получающая афферентные сигналы от органов чувств, мышц, кровеносных сосудов и т.д. и посылающая сформированные эфферентные сигналы, регулирующие функции органов; во-вторых, – эндокринная система, синтезирующая гормоны и освобождающая их в кровь к определенным тканям; в-третьих- внутриклеточный уровень, где изменяется активность ферментов или их количество, а также изменение скорости транспорта веществ через клеточные мембраны.

Регуляторы, связывающие вышеуказанные системы являются гормоны. Они представляют собой химические вещества, которые выделяются железами внутренней секреции в кровь и воздействуют на скорость метаболических процессов в клетках – мишенях.

3. Эндокринная система включает в себя эпифиз, гипоталамус, гипофиз, щитовидную и паращитовидную железы, тимус, поджелудочную железу, надпочечники и половые железы; пара – и аутокринная системы секретируют различные соединения в межклеточное пространство и взаимодействуют с рецепторами близлежащих, либо тех же клеток (гормоны ЖКТ, гистамин, простагландины).

4. Синтез и секреция гормонов стимулируется сигналами, поступающими в ЦНС. Сигналы по нейронам поступает в гипоталамус, где стимулируют синтез и секрецию либеринов и статинов. Они стимулируют или ингибируют синтез тропных гормонов гипофиза; тропные гормоны стимулируют синтез и секрецию гормонов периферических эндокринных желез, которые поступают в кровоток и взаимодействуют с клетками – мишенями.

Гормоны гипофиза

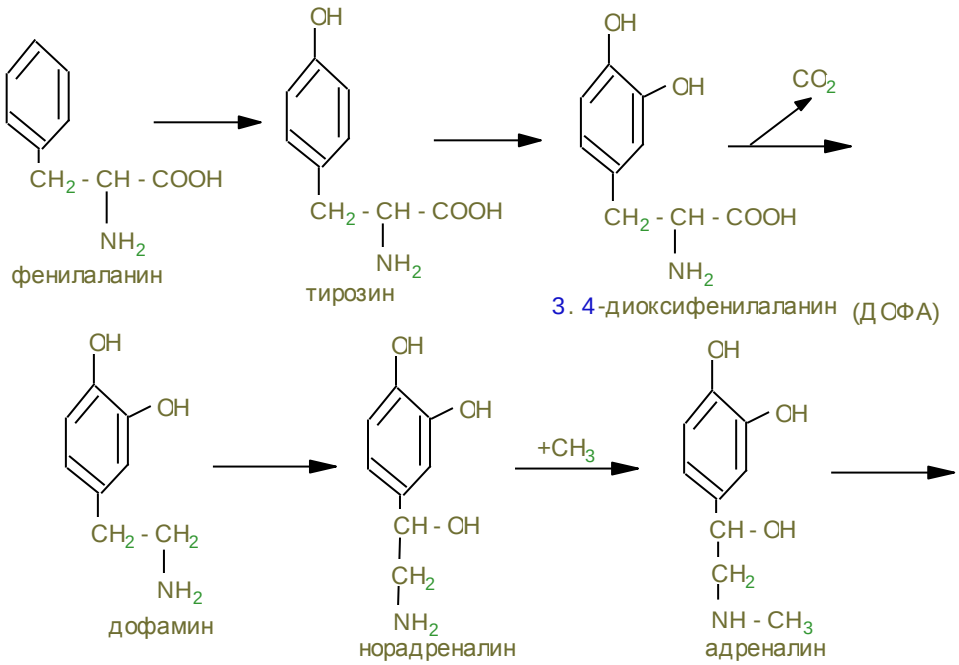
Гормоны передней доли	Химическая природа	Объект воздействия	Биологический эффект, гормон стимулирует
Гормон роста (соматотропный гормон СТГ, соматотропин)	Белок	Весь организм	Рост костей, все виды обмена
Адренокортикотропный гормон (АКТГ)	Полипептид М.В.=4500-5400	Надпочечники (кора)	Секрецию кортикостероидов
Лактогенный гормон (лактикотропный гормон)	Белок М.В. = 27000-35000	Молочные железы	Выработка молока
Тиротропный гормон (тиреотропин)	Белок М.В. =10000	Щитовидная железа	Секрецию гормонов щитовидной железы
Гонадотропные гормоны (фулликулостимулирующие ФСГ)	Белок М.В.=67000	Яичники, семенники	Сперматогенез, образование прогестерона, созревание фоллликулов, яичников
Лютеинизирующий гормон (интерстициальные клетки- стимулирующий)	Белок М.В. =40000 - 100000	Яичники, семенники	Созревание желтого тела или секрецию прогестерона у женщин, андрогенов у мужчин

5. Клетки – мишени – это клетки, которые содержат белки – рецепторы для специфического связывания определенного гормона.

6. Гормоны классифицируются по химическому строению, биологическим функциям, по способу передачи сигнала в клетку. Все гормоны являются биологическими высокоактивными веществами, действующими в очень низких концентрациях, которые влияют на синтез и активность ферментов.

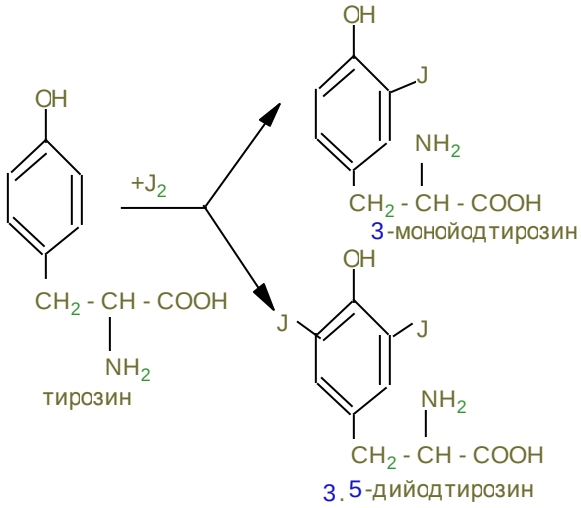
7. По структуре гормоны: а) производные тирозина (норадреналин, адреналин, трийодтиронин –T_3, тироксин-T_4 ;б) стероиды (альдостерол, кортизол, кальцитриол, тестостерон, эстрадиол, прогестерон); в) пептидные гормоны: кортикотропин (АКТГ), соматотропин (СТГ) , тиреотропин (ТТГ), пролактин (ЛТГ) лютропин (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), меланостимулирующий гормон (МСГ), гонадотропин (ХГ), вазопрессин (АДГ), окситоцин, паратгормон (ПТГ), кальцитонин, инсулин, глюкагон.

Гормоны мозгового слоя надпочечников (схема образования катехоламинов)

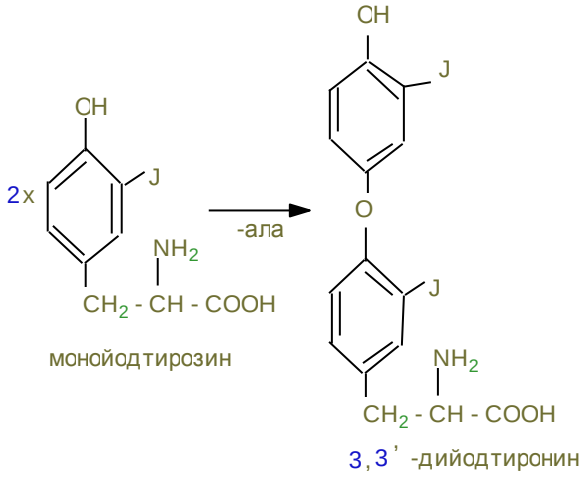


Гормоны щитовидной железы

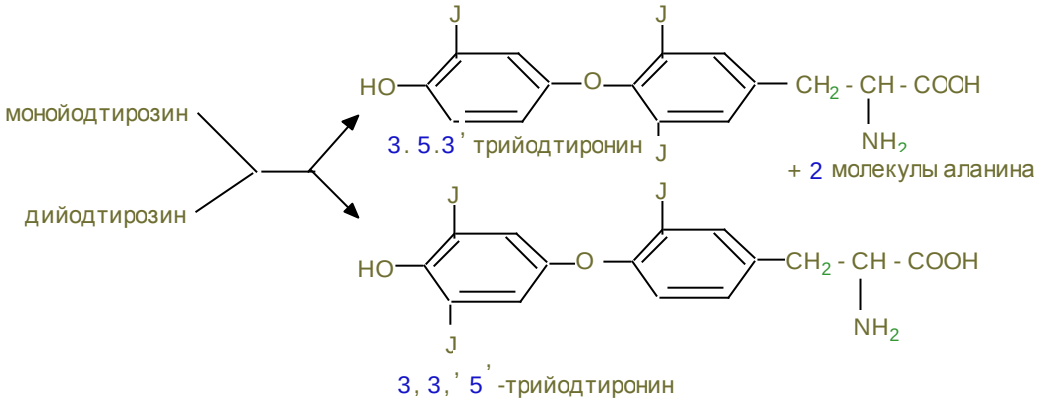
- **Йодирование тирозина**



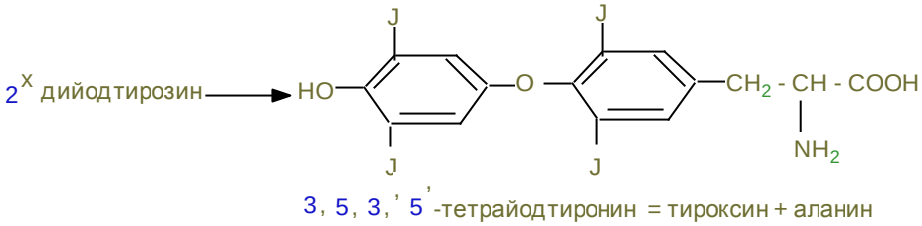
- **Синтез дийодтирозина из 2-х молекул монойодтирозина**



- **Синтез трийодтиронина**

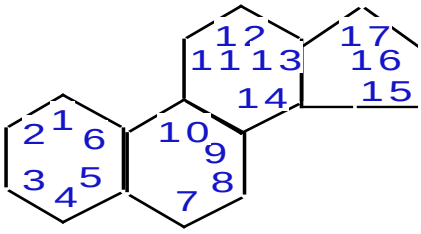


- **Синтез тетрайодтиронина**

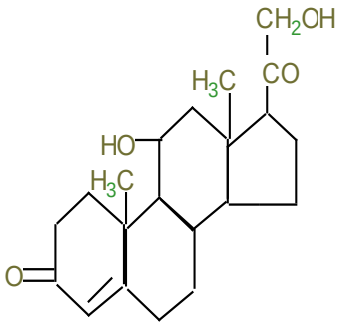


Гормоны коры надпочечников

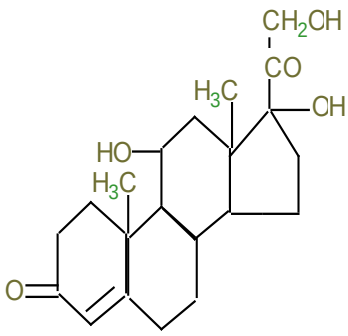
В основе структуры гормонов коры надпочечников лежит структура ***циклопентано-пергидрофенантрена:*** →



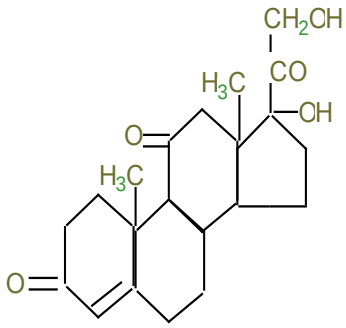
- **Глюкокорикоиды**



кортиуостерон

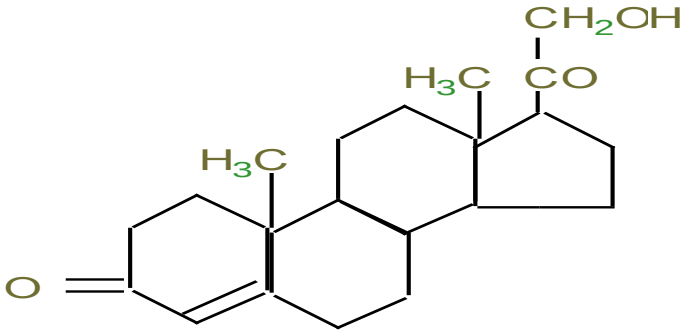


гидрокортизон
(кортизол)



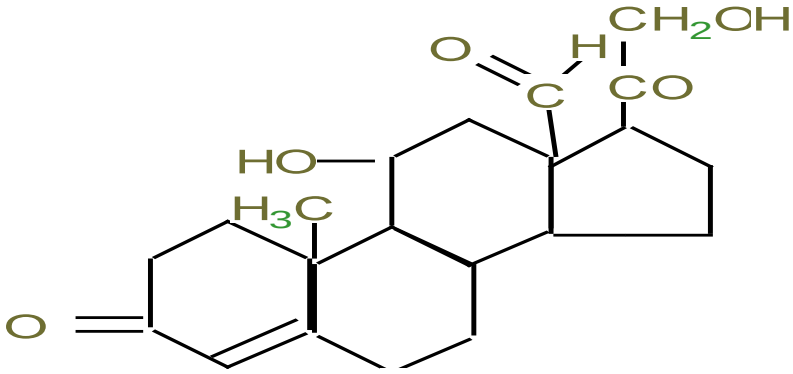
кортизон

- **Минералкортикоид**



дезоксикортикостерон

- **Глюко- и минералкортикоид**

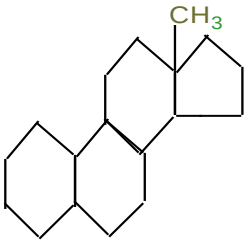


альдостерон

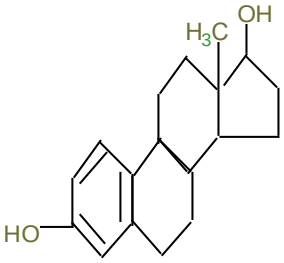
Половые гормоны

Женские половые гормоны

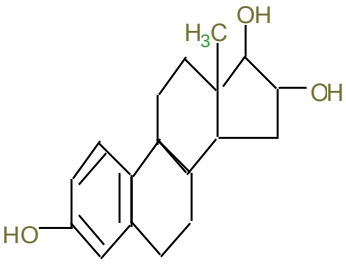
В основе структуры женских половых гормонов лежит кольцо *эстрана:*



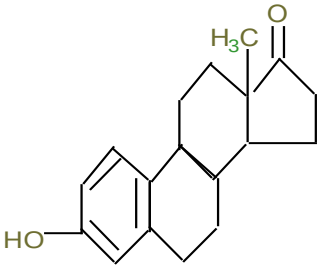
эстран



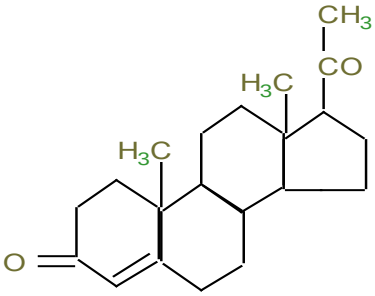
эстрадиол



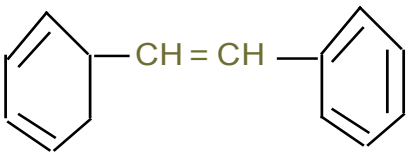
эстриол



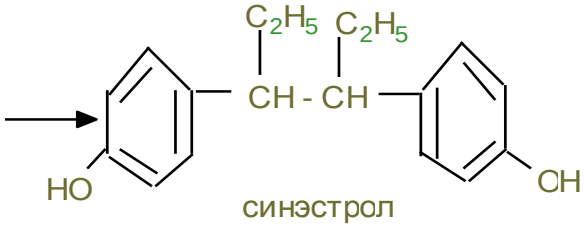
эстрон
(фолликулин)



лютеостерон/ прогестерон
(гормон желтого тела)



стильбен

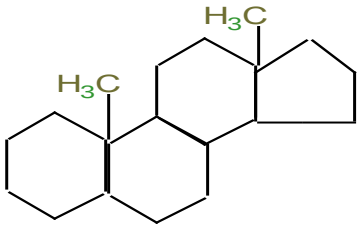


синэстрол

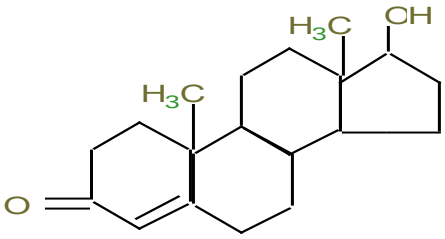
(синтетические аналоги природных гормонов)

Мужские половые гормоны

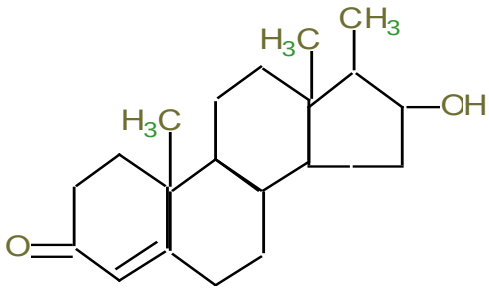
В основе структуры мужских половых гормонов лежит углеводород *андростан:*



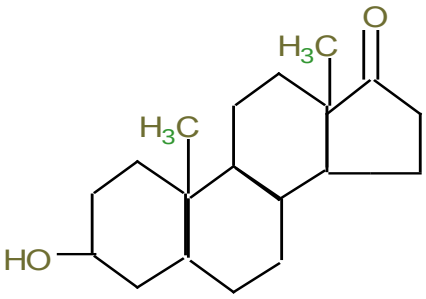
андростан



тестостерон



метилтестостерон
(лекарственный препарат)



андростерон

8. Гормоны можно разделить на следующие группы:

А) регулирующие обмен основных энергоносителей (белков, жиров и углеводов): инсулин, глюкагон, адреналин, глюкокортикоиды (кортизол);

В) регулирующие водно-солевой обмен: минералкортикоиды (альдостерон), антидиуретический гормон (вазопрессин);

Г) регулирующие обмен кальция и фосфатов: паратгормон, кальцитонин, кальцитриол (производное витамина $Д_3$);

Д) регулирующие репродуктивную функцию (половые гормоны): эстрадиол, прогестерон, тестотерон;

Е) регулирующие функции эндокринных желез (тропные гормоны): кортикотропин, тиротропин, гонадотропин.

9. По влиянию на метаболизм они могут быть анаболическими: соматотропин (гормон роста), инсулин, тироксин, половые гормоны и катаболическими: глюкагон, норадреналин, адреналин, кортизол.

10. Общие свойства гормонов: а) концентрация их в крови очень мала (10^{-6} – 10^{-12} М/л) и, тем не менее, они проявляют высокую биоактивность; б)дистантность действия гормонов объясняется взаимодействием гормонов со специфическими белками-рецепторами клеток-мишений, что приводит оределенный химический ответ внутри клетки; в) гормоны не являются ферментами, коферментами, витаминами, однако их действие специфично изменяет ферментативные процессы, т.е. гормоны не взаимозаменяемы; г) эндокринные железы, гормоны составляют единую систему, контролируемую ЦНС.

11. Передача химического сигнала в клетку гормонами осуществляется по : а) мембранному механизму, когда рецептор клетки мишени работает фермент-киназа; б) мемранно-цитозольному механизму, когда гормон-рецепторный комплекс стимулирует образование внутри клеток вторичных переносчиков –Ca^{2+}, ц-АМФ, ц-ГМФ, и т.д.; в) цитозольному механизму, когда липофильный гормон, проникая через клеточную и ядерную мембраны, активирует гены, продуцирующие определенные белки.

12. Этапы передачи гормональных сигналов по мембранному механизму: а) присоединение гормона к мембранному рецептору; б) аутофосфорилирование рецептора; в) каскад фосфорилированых белков; г) активация ферментов и факторов транскрипции; д) изменение количества белков (ферментов); е) изменение скорости метаболизма. По такой схеме работают инсулин, гормон роста, пролактин.

13. По мембранно-цитозольному механизму гормоны взаимодействуют с мембранными рецепторами и вызывает активацию G-белков; которые в свою очередь действуют на специфические мембранные ферменты (аденилатциклазу гуанилатциклазу? она может быть частью рецептора), фосфолипазу С). Эти ферменты синтезируют вторичные посредники: ц-АМФ, ц-ГМФ, Ca^{2+}, $ИФ_3$, ДАГ, NO. Каждый из них активируют определенную протеинкиназу (А, G), которые фосфорилируют белки-ферменты или белки-активаторы транскрипции, в результате чего изменяется активность или количество ферментов метаболизма. По таким схемам «работают» адреналин (α и β -рецепторы ведут к синтезу разных посредников), глюкагон, натрийуретический фермент, АДГ, ангиотензин II и др.

14. По цитозольному механизму действуют липофильные гормоны, которые проникая через клеточную и ядерные мембраны, образуя гормон-рецепторный комплекс, взаимодействуя определенным доменом с областью энхансера или сайленсера ДНК, вызывая индукцию или репрессию синтеза белков-ферментов, влияя на скорость метаболизма. Так действуют минерал- и гликокортикоиды, альдостерон, тироксин и др.

15. Синтез гормонов идет в специализированных клетках (адреналин из тирозина) синтезируется в хромаффинных клетках мозгового слоя надпочечников (см. обмен тирозина), а в фолликулах щитовидной железы – йодтиронины. В коре надпочечников из холестерина под влиянием АКТГ идет разрушение боковой цепи холестерина под действием гидроксилаз и дегидрогеназ.

Первый кортикоид – прегненолон в клетках Лейдига семенников дает андрогены, а из них в яичниках в результате действия ароматазы синтезируются эстрогены. Белковые гормоны синтезируются на рибосомах специализированных желез в виде препрогормонов (инсулин, паратгормон) и после частичного протеолиза превращаются в активные формы. Особое значение имеет частичный протеолиз пропиомеланокортина в гипофизе, являющегося общим предшественником адренокортикотропина, дающего меланостимулирующий гормон, и β-липотропина распадающегося на ряд эндорфинов и меланостимулирующий гормон.

16. При подготовке реферата по определенному гормону отметьте патологии при гипо- или –гиперфункции эндокринной системы выражающиеся в таких заболеваниях как сахарный, стероидный и несахарный диабет, синдром Иценко-Кушинга, Аддисона, эндемический зоб, микседема, критинизм, феохромоцитома, гипертония, гигантизм, атрофия матки, молочных желез. Из физиологии (раздел 9) отметьте биологические функции основных гормонов ЖКТ.

17. В клинической практике имеет особое значение заместительная терапия (инсулин при диабете, эутирокс при гипотиреозе, кальцитонин и паратгормон при остепорозе). Для подавления собственных гормонов: контрацептивы, глюкокортикоиды при астме, при лечении рака молочной железы-эстрогены.

Лабораторная работа

Общие свойства гормонов и их биологическая роль

Цель работы: исследовать химические свойства гормонов и изучить их значение в реализации биологического действия эндокринной системы.

Исследование природы гормонов с помощью биуретовой реакции

Биуретовую реакцию дают вещества, содержащие не менее двух пептидных связей. Белки и пептиды в щелочной среде взаимодействуют с сернокислой медью, образуя комплексное соединение меди фиолетовой окраски.

Гормоны этого класса нельзя вводить в организм через желудочно-кишечный тракт, т.к. они разрушаются

протеолитическими ферментами. Белково-пептидную природу гормонов можно установить с помощью биуретовой реакции.

Ход работы. В первую пробирку вносят 5 капель дистиллированной воды, а в последующие – по 5 капель одного из исследуемых растворов (инсулин, окситоцин, адреналин). В каждую пробирку добавляют по три капли 10% раствора гидроксида натрия и по одной капле 1% раствора сернокислой меди. Перемешивают. Отмечают ячейки, в которых появляется фиолетовое окрашивание, свидетельствующее о белковой или пептидной природе исследуемого гормона. Результат заносят в таблицу для оформления работы (см. ниже), обозначая положительную реакцию знаком «+», а отрицательную знаком «-».

Белково-пептидных гормонов с целью дифференцировки белков от пептидов методом коагуляции

Масса белковой молекулы больше, чем пептидов. В связи с этим молекулы пептидов коагулируют при более высоких концентрациях органических кислот. В 10% растворе трихлоруксусной кислоты коагулируют практически все белки, а пептиды не осаждаются.

Ход работы. В пробирки вносят по 2 мл каждого из исследуемых гормонов, давших положительную реакцию в предыдущем опыте. Добавляют по 2 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты (создается конечная концентрация 10%). Отмечают гормоны – белки по наличию коагуляции (помутнение) и гормоны – пептиды по ее отсутствию. Результаты заносят в таблицу для оформления работы, указав класс каждого из исследуемого в опыте гормона.

Исследование функциональных фрагментов в структуре инсулина

Для проявления биологической активности инсулина необходима жесткая пространственная конфигурация его двуцепочной молекулы, которая закрепляется двумя межцепочными дисудьфидными мостиками, а также внутренним дисульфидным мостиком 6-11 цепи А.

Дисульфидные группы в молекуле инсулина можно обнаружить реакцией на слабосвязанную серу с реактивом Фоля. Реакция Фоля основана на том, что при кипячении белка со щелочью сера цистина и цистеина легко отщепляется в виде сернистого натрия. Последний реагирует с плюмбитом и дает черный или бурый осадок сернистого свинца. Интенсивность осадка зависит от количества слабосвязанной серы.

Ход работы. В пробирку вносят равные количества (примерно по 2 мл) инсулина и реактива Фоля. Кипятят и дают постоять 1-2 минуты. Наблюдают появление бурого или черного осадка сернистого свинца.

Исследование адресатного фрагмента в молекуле тироксина

Характерной особенностью структуры тироксина и трийодтиронина является наличие йода, который обеспечивает структурное соответствие тирониновой молекулы и специфического циторецептора, т.е. играет роль адресного локуса (гаптомер).

При разрушении тироксина образуется йодистый калий, из которого йод легко вытесняется йодноватистым калием. Выделившийся свободный йод дает синее окрашивание с крахмалом.

Ход работы. В ступке растирают 5 таблеток тиреоидина и переносят в колбу для гидролиза, куда добавляют 10 мл бикарбоната натрия (5%). Кипятят в течении 15 минут. В ячейку для капельных анализов вносят 5 капель гидролизата. Прибавляют 1 каплю серной кислоты (10%), одну каплю раствора крахмала и 1 каплю раствора йодноватокислого калия. Выделившийся йод дает синее окрашивание с крахмалом.

$$5KI + KIO_3 + 3H_2SO_4 \rightarrow 3I_2 + 3K_2SO_4 + 3H_2O$$

$$I_2 + \text{крахмал} \rightarrow \text{синее окрашивание}$$

Исследование актонного фрагмента Адреналина

Существенным компонентом актонного фрагмента адреналина и норадреналина является пирокатехиновое кольцо (ортобензоридрохинон). Открытие последнего основано на его способности окисляется путем отщепления водорода с образованием ортобензохинона (зеленого цвета).

Окисление адреналина приводит приводит к образованию адреналинхинона (зеленого цвета), который в дальнейшем окислятся путем индолизации в адренохром (вишнево-красного цвета) и адренолютин. Адренохром является галлюциногеном и усиливает чувство страха, адренолютин – снижает чувство страха.

Процесс окисления адреналина в организме происходит под действием ферментов мономиноксидозы (содержит железо) и приводит к реализации его биологического действия. Ионы трехвалентного железа используют для ускорения окисления адреналина и в лабораторных условиях. При этом, принимая электрон, хлорное железо превращается в хлористое с двухвалентным ионом железа. Образование адренохрома идет также за счет аутооксидации. Ее можно наблюдать в ампулированных растворах адреналина при длительном хранении. Ампулы с порозовевшими растворами не пригодны к употреблению в связи с образованием адренохрома.

Ход работы. В ячейку вносят 5 капель раствора адреналина и 1 каплю хлорного железа (1%), проявляется зеленое окрашивание адреналинхинона. Добавляют 1 каплю гидроксида натрия (10%) и наблюдают появление вишнево-красного окрашивания за счет образования адренохрома.

Исследование гормонов коры надпочечников и половых желез с помощью реакции Сальковского

Гормоны коры надпочечников и половых желез представляют собой альдо- и кетоспирты производных углеводорода стерана. Наличие стеранового кольца обуславливает их высокую лиофильность к липидам, благодаря которой они легко проникают в биологические мембраны, что имеет существенное значение для их биологической активности.

Характерной реакцией на стеролы является реакция с концентрированной серной кислотой, в результате которой происходит образование эфирного соединения (сульфостерола) соломенно-желтого цвета с зеленой флюоресценцией. В дальнейшем в результате дегидратации сульфокислоты окраска становится красной.

Ход работы

В пробирку вносят 10 капель толуольного раствора фолликулина, 1 мл концентрированной серной кислоты (осторожно по стенкам пробирки).

При легком встряхивании нижний слой приобретает соломенно-желтое окрашивание с зеленой флюрисценцией (сульфостерола), а на границе слоев жидкости возникает оранжевое кольцо, которое при стоянии переходит в красное (продукты окисления.

ГОРМОН	Качественные реакции						Выводы Химическая природа гормонов			
	На пептидную связь	На белок	На серу	На йод	На пиро катехин	На стерол	белки	пептиды	Метаболиты аминокислот	стероиды
Инсулин Окситоцин Тироксин Адреналин фолликулин										

Контрольные вопросы к теме

1. Какие вещества называются гормонами? Химическая классификация гормонов.
2. Назовите гормоны, имеющие белковую природу.
3. Назовите гормоны, имеющие пептидную природу.
4. Назовите гормоны, имеющие стероидную природу.
5. Какие гормоны являются производными аминокислот.
6. Какова концентрация гормонов в крови.
7. Какими путями гормоны оказывают свое регулирующее влияние на метаболизм?
8. Что такое ткань-мишень?
9. Каким образом осуществляется специфическое взаимодействие гормона с тканями-мишенями?
10. Что такое гормональные рецепторы, какова их структура?
11. Назовите гормоны, имеющие рецепторы на клеточной мембране.
12. Назовите гормоны, имеющие рецепторы в цитоплазме или ядре клетки.
13. Каким образом ЦНС регулирует выработку гормонов?
14. Что такое рилизинг-фактор, каковы их структура и биологическая функция?
14. Каким образом осуществляется связь между ЦНС и эндокринной системой?
Какова роль фермента аденилатциклазы в механизме действия гормонов? К какому классу ферментов следует отнести этот фактор?
15. Каков механизм инактивации белково-пептидных гормонов?
16. Каков механизм инактивации стероидных гормонов?
17. Особенности биосинтеза гормонов стероидной природы.
18. Какова структура и молекулярной механизм синтеза ц-АМФ?
19. Каков механизм синтеза йодсодержащих гормонов щитовидной железы? (напишите уравнения реакций).
20. Каков механизм синтеза гормонов мозгового слоя надпочечников* (напишите уравнения реакции).
21. Каков молекулярный механизм действия глюкагона и адреналина?
22. Каков механизм действия стероидных гормонов на клетки-мишени?
23. Аденилатциклазный механизм действия гормонов на клетку-мишень.
24. Строение инсулина. Какими известными Вам химическими реакциями можно подтвердить химическую структуру инсулина?

25. Гормоны задней доли гипофиза, их строение, механизм действия на клетки-мишени. Каково их регуляторное влияние на метаболизм.
26. Какова роль гипофиза в синтезе гормонов коры надпочечников?
27. Почему гормоны, действующие по аденилатциклазному механизму, оказывают различное действие на метаболизм в клетках-мишенях?
28. Каков механизм действия гормонов коры надпочечников на клетки-мишени? Их роль в регуляции метаболизма.
29. Какие гормоны влияют на развитие первичных и вторичных половых признаков? Их строение, механизм действия и роль в регуляции метаболизма.
30. Гормоны щитовидной железы. Их строение, механизм действия, роль в регуляции метаболизма.

Список основной рекомендуемой литературы

1. Биохимия: Учебник для вузов / Под ред. чл.-кор. РАН Е.С. Северина. М.: Изд. дом ГЭОТАР-Мед, 2003.

2. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. чл.-кор. РАН Е.С. Северина, проф. А.Я. Николаева. М.: ГЭОТАР - Мед, 2001.

3. Николаев А.Я. Биологическая химия. М.: МИА, 2004.

4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 1998.

Список дополнительной рекомендуемой литературы

5. Пустовалова Л.М.. Практикум по биохимии. Ростов-на-Дону: Феникс, 1999.

6. Бышевский А. Ш., Терсенев О.А.. Биохимия для врача. Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994.

7. Р. Марри, Д. Гриннер, П. Мейес, В. Родуэлл. Биохимия человека. В 2-х томах. М.: Мир, 2004. Том 2.

8. Маршалл В.Д. Клиническая биохимия. – М.: БИНОМ: Невский диалект, 2000.

9. Ашмарин И.П., Николаев А.Я. Сборник тестов и задач по биохимии. - М.: Изд-во МГУ, 1996.

10. Ситуационные задачи и упражнения по биохимии. Ответы на ситуационные задачи и упражнения по биохимии. Одесса, 1989.

11. Филиппович Ю.Б. и др. Биохимические основы жизнедеятельности человека. М.: Владос, 2005.

12. Галебская Л.В. и др. Методические указания к лабораторному практикуму по биохимии. Л.: Изд-во ЛМИ, 1990.

13. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Минск: Интерпрессервис, 2003, т I.

14. Литовченко И.Н. Ситуационные задачи и упражнения по биохимии. Одесса, 1989.

Оглавление

Введение …… 3

Общее понятие об обмене веществ. Биологическое окисление…… 4

Обмен углеводов

Переваривание углеводов. Анаэробный распад углеводов……... 12

Аэробный распад углеводов……. 18

Аэробное окисление углеводов…… 22

Нарушения обмена углеводов…….. 28

Обмен жиров…… 35

Обмен жироподобных веществ…… 42

Обмен нуклеотидов……. 55

Динамическое состояние белков в организме……

Переваривание белков в ЖКТ ……. 61

Обмен аминокислот…….. 64

Конечные продукты азотистого обмена. Биосинтез мочевины…… 69

Гормоны……. 77

Список рекомендуемой литературы…… 87

Оглавление……. 88

ДИНАМИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Методическое пособие

Составители:
Т.Е. Панасюк, кандидат технических наук, доцент кафедры химии и МПХ.
В.В. Люленова, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии и МПХ.
О.И.Новикова, специалист кафедры химии и МПХ.

Издаётся в авторской редакции

Уч. изд. л. 10,5, Формат 60 х 90/16 Гарнитура «Times New Roman»
Тираж 30 экз. Заказ № 028

Отпечатано в тип. ООО «РВТ» г.Бендеры