**Тема 2.3 «РОЛЬ КИСЛОРОДА В ПРОЦЕССАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ. МЕХАНИЗМ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ»**

Обоснование темы.

Процессы биологического окисления сопровождаются выделением энергии, часть которой используется в процессах окислительного фосфорилирования для ресинтеза АТФ. Знания о молекулярных механизмах ресинтеза АТФ необходимы для понимания роли процессов катаболизма как источников образования энергии для совершения различных видов работы. Вместе с тем в ходе биологического окисления образуются продукты неполного восстановления кислорода, которые могут инициировать развитие в организме многих патологических процессов. Изучение механизмов антиоксидантной защиты поможет будущему врачу в проведении патогенетически обоснованной коррекции возникших на этой почве заболеваний.

Цель занятия:

1.Знать основной механизм ресинтеза АТФ – процесс окислительного фосфорилирования, хемиосмотическую теорию Митчелла.

2.Знать механизмы разобщения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, характеристику разобщителей (динитрофенолы, неэстерифицированные жирные кислоты, некоторые антибиотики, белки – термогенины).

3.Иметь представление о неполном восстановлении кислорода, образовании свободнорадикальных форм кислорода, их роли в норме и при патологии.

4.Иметь представление о перекисном окислении липидов (ПОЛ) и механизмах защиты от повреждающего действия продуктов липопероксидации.

Необходимый исходный уровень:

Из курса биоорганической химии студент должен знать:

-строение и роль основного макроэрга в организме – АТФ;

-механизмы окислительно-восстановительных и свободно-радикальных реакций;

-понятие редокс- потенциала и редокс – системы;

-понятие ПОЛ и его роль в организме.

Основные понятия темы: Макроэрги, разобщители, теория Митчелла, окислительное фосфорилирование, свободное нефосфорилирующее окисление. Активные формы кислорода, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная защита.

**ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ**

1. Окислительное фосфорилирование – главный механизм ресинтеза АТФ в аэробных условиях. Сопряжение процессов окисления и фосфорилирования. Коэффициент фосфорилирования Р/О.

2.Механизм ресинтеза АТФ. Представление о хемиосмотической (протондвижущей) теории Митчелла.

3.Вещества, влияющие на энергетический обмен в клетке: разобщители дыхания и окислительного фосфорилирования (динитрофенолы, неэстерифицированные жирные кислоты, некоторые антибиотики, термогенины).

4.Свободное, нефосфорилирующее окисление в митохондриях, его биологическая роль в процессах термогенеза (митохондрии бурого жира новорожденных).

5. Токсичность кислорода. Неполное восстановление кислорода, образование свободно-радикальных форм кислорода – супероксидных, пероксидных, гидроксильных радикалов. Биологическая роль активных форм кислорода (АФК).

6. Повреждающее действие АФК при действии их на клетки – представление о перекисном окислении липидов (ПОЛ).

7. Механизмы защиты от повреждающего действия АФК – системы антиоксидантной защиты: ферментативные и неферментативные механизмы защиты от АФК. Понятие об естественных биоантиоксидантах (витамины С, А, Е).

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ЗАНЯТИЯ**

**Лабораторная работа 1**

***Количественное определение каталазы в сыворотке крови***

Принцип *метода*: Определение активности каталазы основано на определении скорости утилизации пероксида водорода в реакционной смеси, в которую вносится биологический материал, содержащий фермент каталазу.

*Ход работы*:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Опытная проба | Холостая проба | Контроль |
| Сыворотка крови (мл) | **0,1** | - | **0,1** |
| Вода дистил. (мл) | **-** | **0,1** | **2,0** |
| Пероксид водорода (мл) | **2,0** | **2,0** | **-** |

Инкубация 10 минут при комнатной температуре

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Молибдат аммония (мл) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |

Интенсивность развившейся окраски измеряют на ФЭК при длине волны 410 нм против контрольной пробы в кюветах 0,5 см.

Активность каталазы сыворотки рассчитывают по формуле:

Активность каталазы= ( Е хол. – Е опт. ) ∙ К в мкат/л, где К = 13,32

Активность каталазы в сыворотке здоровых людей составляет 10,6 – 23,0 мкат/л

*Результат:*

*Вывод:*

Клинико-диагностическое значение. Значительное повышение активности каталазы наблюдается в сыворотке крови при анксиогенном и травматологическом стрессе, при панкреатитах, заболеваниях печени и гемолитических процессах. Снижение активности данного фермента отмечается при длительном нахождении организма в условиях высокогорья (снижении парциального давления О2).

**ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

Дайте ответы на следующие вопросы:

1.Что такое электрохимический потенциал?

2. Что выражает соотношение Р/О ?

3. Что такое разобщители окислительного фосфорилирования? Приведите примеры.

4. Что такое свободное нефосфорилирующее окисление? Какова его биологическая роль?

1. Что такое активные формы кислорода и какова их биологическая роль?

Заполните таблицу:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Название АФК | Обозначение | Ферменты, участвующие в обезвреживании АФК |
| Супероксидный анион-радикал |  |  |
| Гидроксильный радикал |  |  |
| Пероксид водорода |  |  |

Выполните следующие задания:

1.Суспензию митохондрий инкубировали в средах с добавлением АДФ и 2,4-динитрофенола. В обоих случаях поглощение кислорода увеличивалось. Как объяснить результаты эксперимента?

2. В эксперименте с изолированными митохондриями в качестве окисляемого субстрата использовали малат. Как изменится коэффициент Р/О, если :

 а) в инкубационную смесь добавили ингибитор НАДН-дегидрогеназы;

 б) вместе с ингибитором добавили сукцинат?

3. В медицине некоторое время пытались использовать 2,4-динитрофенол для борьбы с ожирением. Однако оказалось, что это токсичный препарат, применение которого может привести к летальному исходу. На чем был основан «жиросжигающий» эффект 2,4-динитрофенола? Почему прием этого препарата может вызвать смертельный исход?

ОСНОВНАЯ УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Биологическая химия с упражнениями и задачами [Текст]: учебник / под ред. С.Е. Северина. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2012.-622 с.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия [Текст] : руководство к практическим занятиям / под ред. Н.Н. Чернова.- М.:ГЭОТАР-Медиа, 2009, 240 с.

2. Биохимия [Текст]: учеб. для вузов / Т.Л. Алейникова, Л.В. Авдеева, Л.Е. Андрианова и др.; под ред. Е.С. Северина. – 4-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2007. -784 с.

3. Биохимия витаминов [Электронный ресурс]: учебное пособие / С. Н. Афонина [и др.]., 2015. - 130 с. on-line. **Внутренняя ЭБС ОрГМУ**

4. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера. В трех томах. / Д.Нельсон, М Кокс. -М.: Бином. Лабораторные знания, 2011.- т.1 -682 с.

5. Николаев, А.Я. Биологическая химия [ Текст] : учеб. для студентов мед. вузов / А.Я. Николаев.- 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицинское информ. Агентство, 2007.- 568 с.