

2015

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. В.П. АСТАФЬЕВА

(КГПУ им. В.П. Астафьева)

Факультет биологии, географии и химии
Кафедра _____

ДОПУСКАЮ К ЗАЩИТЕ
Зав.кафедрой:

(подпись) _____ ФИО
« _____ » _____ 2014 г.

Выпускная квалификационная работа

**СЛЮНА КАК ОБЪЕКТ БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА НА ЗАНЯТИЯХ ПО
БИОЛОГИИ СО ШКОЛЬНИКАМИ**

Специальность _____
Квалификация _____

Выполнил (а) студент (ка) _____
(номер группы) _____

(ФИО) (подпись)

Научный руководитель:

(ученая степень, должность, ФИО) (подпись)

Рецензент

(ученая степень, должность, ФИО) (подпись)

Дата защиты _____

Оценка _____

Содержание	
Введение	4
ГЛАВА 1. Обзор литературы	6
1.1. Жидкости полости рта	6
1.2. Состав слюны	8
1.3. Функции слюны и ее отдельных компонентов	9
1.4. Влияние эндогенных и экзогенных факторов на секрецию, состав и свойства слюны	13
1.5. Популяционные исследования скорости секреции слюны	20
ГЛАВА 2. Сбор и биохимический анализ слюны	21
2.1.1. Оценка скорости выделения смешанной слюны	21
2.1.2. Сбор смешанной слюны в состоянии покоя	21
2.1.3. Сбор стимулированной смешанной слюны	22
2.2. Биохимический анализ слюны	22
2.2.1. Определение содержания общего белка в слюне	22
2.2.2. Определение муцина	23
2.2.3. Определение буферной емкости слюны	24
2.2.4. Определение содержания ионов кальция	25
2.2.5. Определение содержания ионов фосфора	26
2.2.6. Метод прямого определения альдоз в смешанной слюне	27
ГЛАВА 3. Методические рекомендации к лабораторно-практическим занятиям с использованием биохимического анализа слюны в рамках базового и элективных курсов по биологии для школьников	30
Урок № 1. Химические зеркала жизни	31
Урок № 2. Белки - основной структурный элемент	35
Урок № 3. Функции белков.	39
Урок № 4 «Условия труда» для ферментов	41
Урок № 5. Элемент жизни – кальций. Определение содержания ионов кальция в слюне.	43

Урок № 6 Светоносный носитель жизни. Определение содержания ионов фосфора в слюне.	46
Урок № 7 Основной топливный элемент организма.	48
Выводы	51
Список литературы	52

Введение

Биохимия — один из важнейших разделов современной биологии. В системе биологических дисциплин роль биохимии особенно важна для формирования представлений о единстве живой природы. Всегда вызывающие живой интерес школьников вопросы о клеточных технологиях, возможностях генной инженерии в биологии и медицине, возможностях фармакологической коррекции функциональных состояний организма базируются на знаниях биохимических механизмов физиологических процессов [18]. В тоже время анализ результатов ЕГЭ, олимпиад по биологии свидетельствует о том, что вопросы общей биохимии, биохимии и физиологии метаболизма человека и животных вызывают наибольшую сложность у учащихся.

Усвоение затруднено из-за недостаточного уровня абстрактного мышления школьников, в то время как большинство биохимических понятий сложно представить в виде наглядной схемы или рисунка [9]. Значительную помощь в усвоении биохимических понятий оказывает проведение лабораторного практикума.

Лабораторный практикум - существенный элемент учебного процесса, в ходе которого обучающиеся фактически впервые сталкиваются с самостоятельной практической деятельностью в конкретной области, поэтому он особенно важен в классах с углубленным изучением предметов естественно-научного направления.

Имеется ряд объективных трудностей для разработки и проведения лабораторного практикума по биохимии человека и животных для школьников. Они связаны, во-первых, с ограниченными возможностями школ в приобретении подходящих реактивов и оборудования. Эта проблема может быть решена при подключении лабораторий биологических вузов, заинтересованных в увеличении числа абитуриентов. Развивающие занятия со школьниками в том числе по биохимии проводятся на биологических факультетах красноярских вузов. Другая проблема связана с выбором

наиболее интересных школьникам, с одной стороны, и безопасных с другой стороны объектов биохимического анализа. В биохимии человека традиционные объекты — кровь и моча. Однако, забор крови опасен и запрещен даже в студенческом лабораторном практикуме из-за риска инфицирования; сбор мочи вызывает у подростков психологический дискомфорт, отказ от работы. Забор крови у мелких лабораторных животных затруднен из-за биоэтических соображений. С другой стороны в биохимии человека, в медицине все чаще обращаются к слюне как замене крови в качестве объекта для анализа. Возможности слюны как объекта изучения в лабораторном практикуме для школьников не оценивались ранее.

Цель – разработать содержание и методику проведения лабораторно-практических занятий по биохимии для школьников с использованием слюны в качестве объекта анализа.

Задачи:

1. Подготовить аналитический обзор по особенностям химического состава разных видов слюны, его динамике под влиянием эндо и экзогенных факторов, использованию слюны в функциональных и биохимических исследованиях человека.

2. Подобрать относительно несложные, чувствительные методы определения в слюне рН, некоторых неорганических ионов, важных метаболитов для использования на практических занятиях со школьниками

3. Разработать лабораторно-практические занятия по биохимии для школьников с использованием биохимического анализа слюны

ГЛАВА 1 Обзор литературы

Возможности слюны как объекта биохимического исследования человека зависят от ее состава, содержания в ней основных участников метаболизма, с которыми школьники знакомятся в ходе школьного курса биологии, а также информативных метаболитов для оценки функционального состояния организма. Эта информация активно накапливается в последние годы.

1.1. Жидкости полости рта. Слюна является комплексным секретом [1,3]. Ротовую жидкость обычно называют "смешанной слюной". Она первично состоит из секретов больших и малых слюнных желез. Большие слюнные железы представлены 3 парами: околоушные, поднижнечелюстные, подъязычные. Малые слюнные железы находятся в различных участках слизистой оболочки полости рта. В зависимости от их расположения слюнные железы получили название: губные, щечные, небные, язычные. Самая крупная слюнная железа — околоушная, она весит 14–20 г. Стенонов (выводной) проток железы открывается на уровне шестых зубов верхней челюсти, в преддверии полости рта. Слюна околоушных слюнных желез наиболее богата белком. Секрет больших околоушных желез играет основную роль в процессах минерализации и реминерализации зубов. Следующая по размерам и массе слюнная железа – поднижнечелюстная. Она весит 10–15 г, ее выводной проток (Вартонов) находится в области подъязычного возвышения. Самые малые слюнные железы – подъязычные. Их масса составляет около 2 граммов для каждой. По своей морфологии они являются слизистыми железами. Выводной проток (Бартолиниев) открывается рядом с Вартоновым, а иногда, сливается с ним и образует общий выводной проток.

Общая секреция слюнных желез распределяется примерно следующим образом: поднижнечелюстная и подъязычная слюнные железы - около 70 %, околоушная - около 15–20 % и, наконец, малые слюнные железы - 5–8 %.

При стимуляции примерно 45–50 % общей слюны дают околоушные, 40 % — поднижнечелюстные и подъязычные слюнные железы, но большие слюнные железы секретируют слюну только при стимуляции (пищевая, медикаментозная, механическая). А малые слюнные железы вырабатывают секрет постоянно. Смешанная слюна также дополнительно содержит ряд компонентов неслюнного происхождения[5]. К ним относятся:

- жидкость зубо-деснового желобка;
- сывороточные компоненты и клетки крови;
- бактерии и продукты их жизнедеятельности;
- слущенный эпителий и клеточные компоненты;
- вирусы и грибки;
- остатки пищи и выделенная из бронхов мокрота (бронхиальные секреты).

Однако даже в чистых секретах из больших желез, полученных непосредственно из отверстий основных протоков, содержится не только синтезированная слюна. Целый ряд веществ, разносимый током крови, содержится в слюне: гормоны, лекарственные препараты, бактерии и вирусы. Они достигают слюны и могут быть обнаружены в ней.[2,5]

На состав смешанной слюны влияет целый ряд физиологических факторов. Источник, степень стимулирования и метод сбора все это оказывает свое влияние[8,15]. Разные секреторные или железистые клетки, предназначенные для синтеза совершенно различных секретов, входят в состав больших слюнных желез[20,22]. Серозные (белковые) секреторные клетки содержащиеся в околоушных железах, вырабатывают белковый водянистый секрет; подъязычные железы вырабатывают вязкую - мукозную (слизеподобную) слюну.

Подчелюстные железы имеют серозные и слизистые секреторные клетки. Образуемая ими слюна - с более низким содержанием белка и более высокой вязкостью, чем секрет околоушных желез. Разбросанные по всей полости рта, малые слюнные железы - чисто слизистые. Вырабатываемая ими слюна -

особенно вязкая и отличается повышенным содержанием секреторного иммуноглобулина А. Количество выделяемой слюны увеличивается многократно при стимуляции, но также существенно изменяется ее консистенция и концентрация многих ее компонентов[22].

1. 2. Состав слюны. 99% слюны приходится на воду. Оставшийся 1% - это высокомолекулярные органические соединения: белки, гликопротеины и липиды; также небольшие молекулы органических веществ: глюкоза и мочевины; и электролиты: катионы магния, натрия, кальция, хлорид- и фосфат — анионы [6. 15]. Железистые клетки синтезируют большую часть молекул органических соединений, меньшую часть продуцируются клетками протоков, и наконец некоторые из них диффундируют из крови.

Таблица 1.
«Неорганические компоненты нестимулированной смешанной слюны и плазмы крови»

Вещество	Концентрация(ммоль/литр)	
	Слюна	Плазма крови
ионы		
Na ⁺	6.6 - 24.0	130.0 - 150.0
K ⁺	12.0 - 25.0	3.6 - 5.0
Ca ²⁺ (общий)	0.75 - 3.0	2.1 - 2.8
Cu ²⁺	0.3	0.1
Cl ⁻	11.0 - 20.0	97.0 - 108.0
HCO ₃ ⁻	20.0 - 60.0	25.0
SCN ⁻	0.5 - 1.2	0.1 - 0.2
I ⁻	0.1	0.01
F ⁻	0.001 - 0.15	0.15
P Неорганический	2.2 - 6.5	1.0 - 1.6
P Общий	3.0 - 7.0	3.0 - 5.0

Секреторные клетки вырабатывают большую часть белков слюнных желез. Некоторые белки продуцируются секреторными клетками, а остальные – клетками, входящими в состав протоков. Фактор роста эпителия, лактоферрин и секреторный компонент являются железистыми белками. А клетками протоков продуцируется лизоцим[14, 16].

Однако, точное место происхождения многих компонентов всё ещё неизвестно. Транспортируются в слюну из крови большинство электролитов, альбумин, иммуноглобулины G, A и M, витамины, лекарственные препараты,

гормоны и вода. Между плазмой крови и слюной отмечена четкая корреляция по уровням ряда гормонов и лекарств, что в свою очередь явилось основой предложений использовать анализы слюны вместо анализа крови для динамического контроля уровня гормонов, терапевтических средств и запрещенных к употреблению препаратов[4].

Таблица 2.

Компоненты слюны.

Белки	Низкомолекулярные органические вещества
Альбумин	Азотистые вещества
Амилазы	Мочевая кислота
Белки, богатые пролином	Мочевина
Рибонуклеазы	Глюкоза
Белки, богатые тирозином	Креатинин
Бета-глюкуронидаза	
Иммуноглобулины(A,G,M)	
Лизоцим	
Липаза	
Муцины	
Фосфатазы	

1.3. Функции слюны и ее отдельных компонентов. По замечанию Клода Бернара, мы распознаем функции органа, выявляя последствия его отсутствия. У больных с поздними стадиями аутоиммунного заболевания «синдрома Сьегрена», а также у больных раком, получивших в качестве лечения большие дозы облучения слюнной секрет почти не вырабатывается, лучшим образом показывается важность слюны. У них отмечается резко выраженная сухость полости горла и рта. Им очень трудно принимать пищу, они должны постоянно запивать её водой при жевании, им трудно её проглатывать. Они жалуются на жжение в рту; на неприятные и странные вкусовые ощущения; на трудности при разговоре; на щели и дольки, образующиеся языке.

Другими, более серьезными и постоянными проблемами становятся кариес и эрозии; кариес начинает поражать ранее нехарактерные для этого заболевания поверхности зубов. Скорость секреции слюны у таких больных

значительно снижена (по сравнению со здоровыми) и иногда невозможно получить сколько-нибудь заметное количество слюны. Эти изменения типичны для заключительной стадии прогрессивной гипофункции слюнных желез. Жизнь пациентов без секреции слюны становится значительно менее комфортной[16].

Важная роль слюны доказывается многообразием функций, которые она выполняет для здоровья полости рта и организма в целом.

1. Поддержание гомеостаза полости рта. Многочисленные исследования убедительно доказывают, что состояние органов и тканей полости рта зависит от состава и свойств слюны. Вместе с тем, патологические состояния твердых тканей зубов, периодонта и слизистой оболочки полости рта влияют на параметры ротовой жидкости.[2]

2. Защитная функция. Защита обуславливают сразу несколько механизмов: антимикробный, иммунологический, пелликулообразующий, механическое и химическое очищение, смачивание и смазывание. Основная роль в защитной роли принадлежит белкам и гликопротеинам[2, 12].

Муцины слюны покрывают и смазывают слизистую оболочку. Большие молекулы этих гликопротеинов предотвращают прилипание бактерий, защищают ткани ротовой полости от физических воздействий и позволяют им выдержать температурные колебания. Лизоцимы обладают способностью разрушать клеточную стенку бактерий; гистатин, лактоферрин и лактопероксидаза оказывают на рост микробов угнетающее действие; антитела слюны, например, секреторный иммуноглобулин «А» и липаза слюны, защищают зубы от кариеса [12].

Слюна, как хорошо известно, обладает антикариозными свойствами [11]. Прямое доказательство - «цветущий» кариес, следующий за прекращением функционирования слюнных желез по каким либо причинам. «Цветущий» кариес разрушительный настолько, что в течение нескольких недель вызывает полную деструкцию коронок зубов, поражая даже те поверхности зуба, которые устойчивы к его воздействию.

Основные антикариозные свойства слюны, реализующие защиту:

- разведение и клиренс(очистение биологических жидкостей или тканей организма от вещества) сахаров пищевых продуктов;
- нейтрализация и буферизация кислот в зубном налете;
- обеспечение ионов для процесса реминерализации.

Нейтрализация и буферизация кислот зубного налета

Влияние слюны в ускорении клиренса сахара в некоторой степени снижает образование кислот в зубном налете и снижает активность кариеса; более существенная часть противокариозного действия слюны - нейтрализация и буферный эффект. Это обеспечивается входящим в состав слюны бикарбонатами. При нестимулированном слюноотделении уровень бикарбоната в ротовой жидкости низок; при стимулировании слюноотделения концентрация бикарбоната возрастает, рН поднимается, и буферная емкость слюны резко повышается[14].

Потребление сахаров снижает рН в зубном налете. Если предотвратить попадание слюны в полость рта (путем введения канюль в выводные протоки и выведения слюны за пределы полости рта в эксперименте), то падение рН в зубном налете, после поступления сахаров, будет более значительным и более длительным, чем при нормальном поступлении слюны в полость рта. Однако если после введения сахаров стимулировать слюноотделение, то в зубном налете наступает немедленно и резко повышается рН, уменьшается концентрация молочной кислоты. Подобные эффекты наблюдаются при жевании воска, сыра, не содержащей сахара или подслащенной сахарозой жевательной резинки (при условии, что продолжительность жевания длится дольше, чем весь сахар растворится и выведется из нее).[14]

Зубной налет у лиц, как устойчивых, так и восприимчивых к кариесу, реагирует на сахарную нагрузку однотипно. Но изменения происходят на совершенно различных уровнях. В зубном налете резистентных к кариесу лиц, значение рН изначально выше, а падение рН после приема сахара менее выражено. Буферная емкость (способность нейтрализовать кислоты зубного

налета) у устойчивых к кариесу лиц значительно превышает таковую по сравнению с восприимчивыми к кариесу лицами[10].

3. Пищеварительная функция . Ротовая жидкость подготавливает пищу к проглатыванию и пищеварению, обволакивая ее, делая скользкой и кашицеобразной. Значительную роль в этом принадлежит ферментам. Амилаза слюны расщепляет крахмал (или гликоген) до декстранов, в небольшом количестве образуется мальтоза. Но процесс гидролиза полисахаридов амилазой не играет важной роли в пищеварении из-за кратковременности действия фермента на пищу, так как в кислой среде желудка (рН 4,0) амилаза слюны инактивируется[3].

4. Минерализующая функция. По отношению к тканям зуба, эта функция является важнейшей . Механизмы: препятствование выходу из эмали составляющих ее компонентов и способствование поступлению многих компонентов, как неорганических и так органических, из слюны в эмаль и дентин зуба. Это обеспечивает динамическое равновесие состава эмали. Растворения зубов в слюне не происходит из-за, перенасыщенности слюны катионами кальция и фосфат-анионами; минеральные соли зуба состоят из этих же ионов. Степень пересыщенности еще выше в зубном налете, особенно во внеклеточной жидкой фазе, находящейся в прямом контакте с поверхностью зуба. В динамическом равновесии процесса обмена пересыщенность слюны препятствует выходу ионов и является основой реминерализации. Это равновесие сильно сильно зависит от фторидов, которые ослабляют деминерализацию и усиливают реминерализацию. Пересыщенное состояние слюны преодолевается только если рН зубного налета падает достаточно низко, чтобы фосфат-ионы превратились в гидрофосфат- и дигидрофосфат -ионы и концентрация фосфат-ионов упала ниже критического значения. Стимулированная слюна является еще более пересыщенной, чем нестимулированная, и, следовательно, является более хорошим реминерализующим раствором[11].

Ряд белков слюны вносят свой вклад в реминерализацию подповерхностных поражений эмали. Среди них кислые богатые пролином белки и ряд фосфопротеинов. Их молекулы связывают кальций. При падении рН в зубном налете, они усиливают реминерализацию, освобождая ионы кальция и фосфата в жидкую фазу зубного налета.

В дополнение к этому, некоторые компоненты слюны усиливают моторные функции жевания, проглатывания и произнесения звуков, а также сенсорные и хемосенсорные функции в полости рта[8]

5.Экскреторная (выделительная функция). Гематосаливарный барьер ограничивает выделительную функцию слюны. Лишь небольшие количества веществ в слюну попадают из крови. Интерес для диагностики представляет определение наркотиков, некоторых лекарств и мочевины. Ионы фтора почти не проходят в слюну. В норме концентрация мочевины в крови невелика, но резко возрастает при заболевании почек, снижающих их фильтрующую способность например уремии, и тогда становится актуальным выведение мочевины через слюну, и слюнные железы начинают работать как выделительная система[12].

1.4.Влияние эндогенных и экзогенных факторов на секрецию, состав и свойства слюны. Состав слюны изменяется прежде всего при патологиях полости рта. При синдроме Шегрена (воспаление слюнных желез, приводящее к выработке малого количества секрета) повышается количество лизоцима и сывороточных иммуноглобулинов крови IgA и IgM. Для хронического паротита характерно увеличение секреции калликрейна, альбумина и лизоцима. Пародонтит активизирует протеолиз в тканях пародонта: возрастает содержание в слюне иммуноглобулинов IgM и IgG, слабощелочных протеиназ, возрастает активность гликозидаз и снижается активность лизоцима. Исследования слюны позволяют раскрыть биохимические механизмы заболеваний полости рта. Анализ слюны начали использовать при соматических заболеваниях, в гастроэнтерологии. При хроническом панкреатите возрастает содержание

натрия и калия в слюне; при язвенной болезни увеличивается в полтора раза концентрация иммуноглобулина IgA. У больных раком желудка существенно снижается лизоцима в слюне. Содержание гормонов в слюне коррелирует с их содержанием в крови, что подтверждается методами хемилюминесценции. При гипофункции щитовидной железы содержание гормона тироксина и трийодтиронина в слюне снижается в 2 раза. [17].

Регулярные физические нагрузки являются стрессом для организма, сопровождающегося развертыванием общей неспецифической реакции - адаптационного синдрома, находящего отражение в изменении состава слюны и её структурных свойств[6,7]. Положительное воздействие на организм оказывают только оптимальные по величине и продолжительности двигательные нагрузки. Патогенетическим фактором, который приводит к заболеваниям является как недостаток, так и избыток двигательной активности [13].

Всякое сильное психическое или физическое воздействие на организм , изменяет секреторную деятельность коры надпочечников. Кортизол , относится к глюкокортикоидным гормонам, которые обеспечивают развитие общего адаптационного синдрома [19,21,24]. Слюна является удобным объектом для исследования кортизола, так как он в ней находится в свободном состоянии и стабилен. Определение кортизола в слюне может иметь диагностическое значение, хотя при этом приходится учитывать более низкую его концентрацию по сравнению с содержанием его в плазме [6, 7].

Динамика концентрации кальция в крови и слюне связана с секрецией кортизола . Высокое содержание кортизола вследствие непрерывного стресса тормозит всасывание кальция в кишечной стенке и реабсорбцию его в канальцах почек.

Содержание свободного кортизола в слюне у детей, имеющих низкую двигательную активность, достоверно выше по сравнению со школьниками, у которых двигательная активность была средняя и высокая ($19,50 \pm 2,05$

нмоль/л против $12,80 \pm 0,87$ нмоль/л и $11,53 \pm 1,07$ нмоль/л соответственно, $p < 0,001$), что отражено на рис. 1.

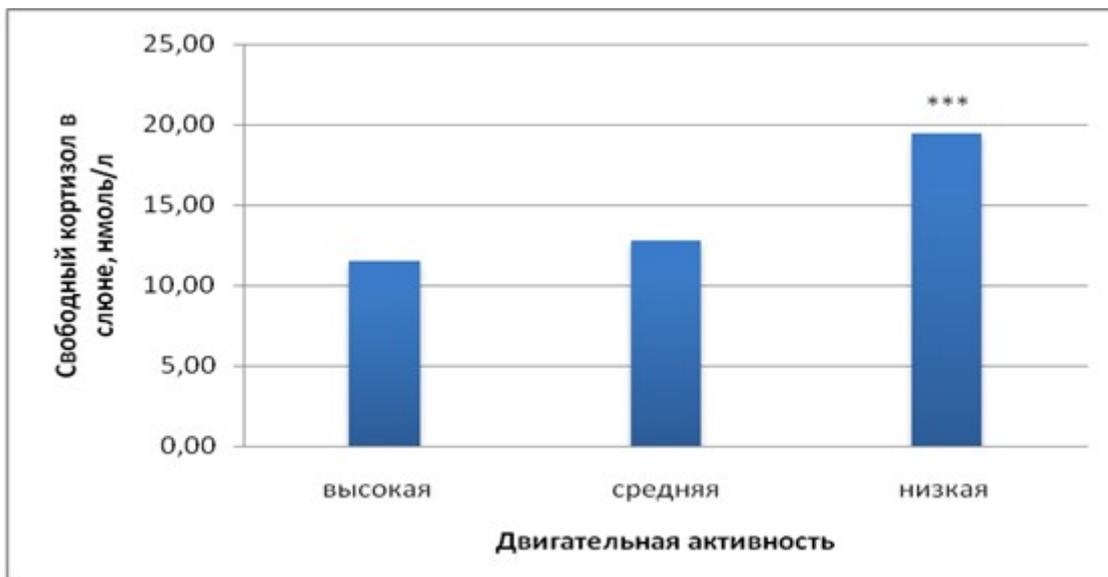


Рис. 1. Содержание кортизола в слюне в группах детей с разным уровнем двигательной активности [6,19].

Анализ данных, представленных на рис. 2, показал, что у детей, занимающихся дополнительно 1-2 раза в неделю в спортивных кружках и секциях, уровень ионизированного кальция в слюне достоверно выше, по сравнению с юными спортсменами и школьниками, посещающими только уроки физической культуры ($0,88 \pm 0,06$ ммоль/л против $0,69 \pm 0,05$ ммоль/л и $0,60 \pm 0,08$ ммоль/л соответственно, $p < 0,01$).

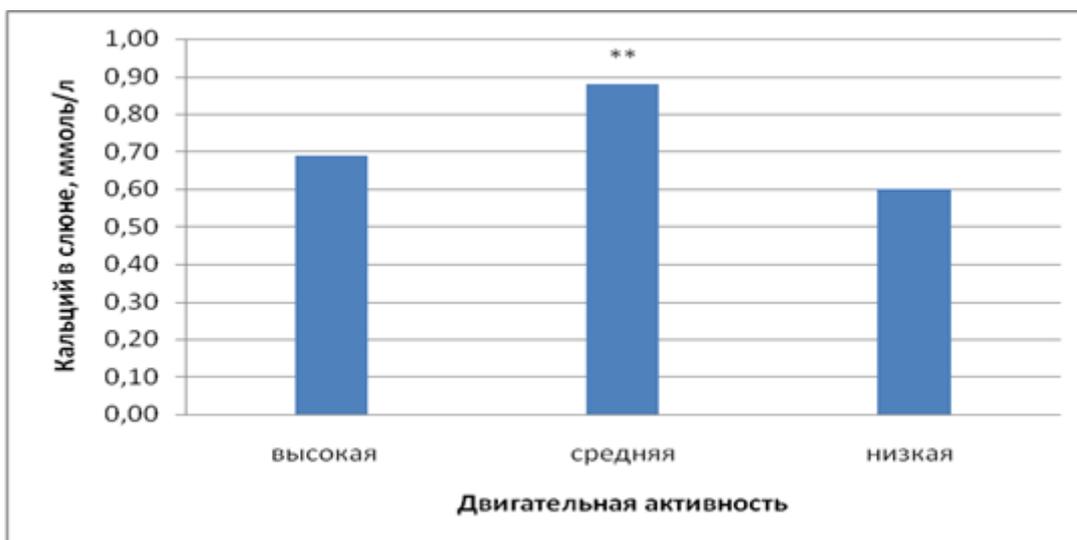


Рис. 2. Содержание ионизированного кальция в слюне у здоровых детей в зависимости от уровня их двигательной активности [6, 19].

** - $p < 0,001$ по сравнению с детьми, имеющими высокую и низкую двигательную активность

У детей с низкой двигательной активностью происходит снижение уровня кальция, что, возможно, связано с повышенным уровнем кортизола, который тормозит всасывание кальция в кишечной стенке и реабсорбцию его в канальцах почек. [7]

В то же время при высоких физических нагрузках происходит повышенное потребление кальция в связи с пластическими процессами, проходящими в костной и мышечной ткани, что также приводит к снижению уровня кальция в крови и, соответственно, в слюне и требует своевременной диагностики и коррекции. При этом кортизол у юных спортсменов невысокий, что, возможно, связано с адаптацией организма к повышенным нагрузкам после нескольких лет тренировок.[24]

Оптимальные показатели были в группе школьников, занимающихся дополнительно 1-2 раза в неделю в спортивных кружках и секциях: при низких значениях свободного кортизола в слюне наблюдалось высокое содержание ионизированного кальция.

Таким образом, исследования показали, что неинвазивный, доступный и информативный экспресс-анализ слюны, проведённый по минимальному числу показателей (свободный кортизол, ионизированный кальций) даёт возможность оценить степень физической нагрузки ребёнка, подобрать ему оптимальный двигательный режим и при необходимости провести его коррекцию[24].

Факторы, влияющие на уровень гормонов в слюне [4]. В первую очередь – это механизмы их транспорта. Свободные стероидные гормоны из плазмы крови попадают в клетки слюнных желёз, а затем в слюнный проток путём диффузии по градиенту концентрации. Однако, содержание

стероидных гормонов в слюне отличается от их содержания в плазме крови. Так, например, слюна содержит только 10% свободного кортизола от его количества в плазме крови. Часть гормонов пептидной природы, например инсулин, попадает в слюну с помощью белков-переносчиков. Селективность транспорта инсулина в полость рта подтверждает тот факт, что количество этого гормона увеличивается в слюне после повышения уровня глюкозы в крови. Во-вторых, в слюне зачастую определяются не сами гормоны, а их метаболиты. В-третьих, на уровень гормонов в слюне влияют методы сбора слюны и её хранения. Существуют различные способы получения слюны. Они включают сбор данной биологической жидкости без стимуляции и с применением таких стимуляторов как парафин, лимонная кислота и др. Сниженное содержание гормонов в образцах стимулированной слюны может быть обусловлено их адсорбцией на парафине и хлопковых тампонах. На уровне гормонов в слюне сказываются и условия её хранения. Ряд гормонов, в первую очередь стероидные гормоны сохраняют свои свойства при хранении образцов слюны при комнатной температуре в течение нескольких дней. Добавление консервантов значительно продлевает стабильность стероидных молекул слюны, что имеет существенное значение, например, для пересылки образцов слюны почтой. Наиболее “капризными” при сборе и подготовке образцов слюны для исследования являются гормоны пептидной природы. Особенно это касается гормонов с коротким периодом жизни. Адсорбционная потеря и протеолиз гормонов могут быть минимизированы при сборе слюны через катетер, исследование образцов сразу после их получения, хранения образцов слюны в криобирках и добавлении консервантов. В-четвёртых, не менее важным является способ определения гормонов в слюне. Первые лабораторные методы исследования гормонов носили “кустарный” характер. Развитие радиоизотопной диагностики *in vitro* относится к началу 60-х годов прошлого столетия, когда были обоснованы первые

методики радиоконкурентного анализа. Эти методы широко использовались для определения стероидных гормонов. Расширение лабораторных возможностей ознаменовалось появлением методов иммуноферментного анализа, которые позволили детектировать не только стероиды, но и гормоны пептидной природы.

Таблица 3.

Концентрация гормонов, определяемых в слюне разными методами.

Гормоны	Метод	Концентрация
кортизол	ИФА, РИА	3.6-35.1 нмоль/л
тестостерон	ИФА	140.3±154 пг/мл
прогестерон	РИА	В лютеиновую фазу 436±34 пмоль/л В фолликулярную фазу 22.1±2.7 пмоль/л
эстрадиол	РИА	В лютеиновую фазу 20.6±0.4 пмоль/л
альдостерон	РИА	138 - 475 пмоль/л
соматропин	ИРМА	8.6 ± 11.1 мкЕ/л

Примечания: РИА - Радиоиммунный анализ , ИФА - Иммуноферментный анализ , ИРМА - иммунорадиометрический анализ.

Таблица 4.

Концентрация половых гормонов в смешанной слюне и плазме крови.

Гормоны	Обследуемые	Смешанная	Плазма	Единицы измерения
		слюна	крови	
альдостерон	женщины	29-118	80 -790	пмоль/л
андростедион	мужчины	10-630	1200-11000	пмоль/л
	женщины	62-482	1400-11900	пмоль/л

эстрадиол	женщины Фолликулярная фаза овуляционного цикла	2-18	26-650	пмоль/л
	женщины межфазовый пик овуляционного цикла	9-29	180-1420	пмоль/л
Эстриол	Женщины гестанация 40 недель	4.5-9.8	330-1596	пмоль/л
Эстрон	женщины	10-21	92-1294	пмоль/л
	мужчины	10-21	92-555	

Таблица 6.

Возрастные и гендерные показатели уровня ДГЭА в слюне в норме (в утреннее время).

Возраст	Концентрация (пг/мл)	
	женщины	мужчины
20-29	106-300	137-336
30-39	77-217	82-287
40-49	47-200	68-221
50-59	38-136	49-177
60-69	36-107	40-158
70-79	32-99	37-106

1.5 Популяционные исследования скорости секреции слюны. В состоянии покоя скорость выделения смешанной слюны в среднем колеблется от 0,3 до 0,4 мл/мин, стимуляция жеванием парафина увеличивает данный показатель до 1 - 2 мл/мин. Наиболее существенным открытием во всех исследованиях является удивительная вариабельность скорости слюноотделения, как в состоянии покоя, так и при стимулировании.

Пределы скорости базового слюноотделения для смешанной слюны составляют от 0,08 до 1,83 мл/мин, что соответствует 23-кратному

колебанию. Скорость стимулированного слюноотделения может изменяться от 0,2 до 3,7 мл/мин., что составляет почти 30-кратное перекрытие. Таким образом, становится ясным, что нормальные функции органов и тканей полости рта могут быть обеспечены очень широкими колебаниями слюноотделения. Учитывая такую гетерогенность показателей скорости слюноотделения, очень трудно оценить функциональное состояние слюнных желез по единичному определению скорости слюноотделения[15].

Анализ литературы показал, что в слюне представлены не только требуемые для пищеварительной функции вещества и ферменты, но и все основные метаболиты. Слюна выполняет множество важных функций, имеет сложный состав, который зависит от состояния организма. Динамика состава слюны коррелирует с динамикой состава плазмы крови. Следовательно, слюна, наряду с кровью, позволяет оценивать состояние организма. Проблемой такого анализа является низкая концентрация компонентов слюны.

ГЛАВА 2. Сбор и биохимический анализ слюны

Возможности слюны, в качестве объекта биохимических методов, ранее не оценивались должным образом. Единой методологии биохимического анализа слюны пока нет. Поэтому важной задачей является подбор достаточно чувствительных для определения сниженных по сравнению с кровью концентраций многих метаболитов. Кроме того, важно обращать внимание на безопасность методик, легкость их осуществления в лабораториях учебных заведений и не требующих сложного оборудования и дорогих реактивов.

2.1. Методы сбора слюны.

Сейчас существуют неинвазивные и безболезненные методики сбора как смешанной слюны, так и слюны, изолированной из больших и малых слюнных желез. Очень легко собрать смешанную слюну, ее количество в большинстве случаев является довольно точным показателем степени сухости всей полости рта. Количественное определение объема выделенной слюны называют «сиалометрией».

2.1.1. Оценка скорости выделения смешанной слюны. Смешанная слюна может быть собрана и количественно измерена рядом объемнометрических (волюмометрических) и гравиметрических методик. Методики сбора включают сбор слюны при самоистечении из полости рта, при сплевывании или посасыванием и сбором на тампон. В качестве измерительного устройства применяют мерных цилиндра емкостью примерно на 12 мл, калиброванные с точностью 0,1 мл и 2 воронки, которые можно приобрести в химическом магазине.

2.1.2. Сбор смешанной слюны в состоянии покоя . Сесть, опустить голову и сидеть в таком положении, не глотать слюну или двигать языком и губами во время всего периода сбора слюны. Слюна аккумулируется в полости рта в течение 2 мин, затем сплюнуть все содержимое полости рта в приемный сосуд. Процедуру сбора проводят еще 2 раза так, чтобы общее

время сбора составляло 6 мин. Скорость слюноотделения, выраженная в мл/мин, составляет общий объем собранной слюны, деленный на шесть.

2.1.3 Сбор стимулированной смешанной слюны. Метод с парафином. Подержать кусочек парафина в полости рта до тех пор, пока он не станет мягким (около 30 с), а затем проглотить всю слюну, накопившуюся в полости рта. После этого пожевать кусочек парафина в своей обычной манере в течение 2 мин, точно засекая время; аккумулярованную слюну сплевывают в приемный сосуд. Процедуру проводят еще 2 раза. Объем слюны определяют по делениям сосуда и вычисляют скорость в мл/мин.

2.2 Биохимический анализ слюны

2.2.1 Определение содержания общего белка в слюне. Принцип метода - интенсивность помутнения при коагуляции белка сульфосалициловой кислотой, измеренная по оптической плотности при 620 нм, пропорциональна его концентрации. Калибровка осуществляется по раствору человеческого сывороточного альбумина.

Причины выбора метода: Чувствительность биуретового метода 20-120 г/л. Концентрация общего белка в слюне составляет 1.6 -6.4 г/л. Биуретовый метод не годится из-за низкой чувствительности. Область определения концентрации общего белка сульфосалициловой кислотой – в диапазоне от 0.3 до 1г/л. Этот метод достаточно чувствителен.

Оборудование и реактивы: Диагностический набор «Белок в моче-АГАТ»; раствор натрия хлористого 9 г/л; Спектрофотометр, длина волны 620 нм (590–650 нм, оранжевый или красный светофильтр), кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм.

Ход работы: Раствор сульфосалициловой кислоты. Содержимое одной упаковки (30 г) с сульфосалициловой кислотой количественно перенести в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворить в дистиллированной воде и довести объем до метки.

Таблица 6.

Схема подготовки реактивов к анализу.

Объем , мл	Холостая проба	Опытная проба
Образец	1.0	1.0
Раствор сульфосалициловой кислоты.	-	3.0
раствор натрия хлористого 9 г/л	3.0	-

Содержимое пробирок тщательно перемешать и выдержать при температуре +18–22° С в течение 10 минут. Определить оптическую плотность опытной пробы при длине волны 620 нм (590–650 нм, оранжевый или красный светофильтр) против холостой пробы в кювете с толщиной слоя 10 или 5 мм. При стоянии образцов более 20 минут возможно уменьшение значений оптической плотности за счет оседания части преципитата. Непосредственно перед измерением пробирку с опытной пробой тщательно встряхнуть. Расчет проводят по калибровочному графику.

Таблица 7.

Схема построения калибровочного графика.

№	калибровочный раствор альбумина	раствор натрия хлористого 9 г/л	Концентрация белка мг/л
1	0.25	4.75	50
2	0.5	4.5	100
3	1.0	4.0	200
4	2.5	2.5	500
5	5.0	-	1000

Полученные разведения обрабатывают так же, как и образец.

2.2.2 Определение муцина. Определение муцина в слюне проводят аналогично методике определения общего белка. Как правило, количество муцина в слюне определяют спектрофотометрическим методом по разнице концентрации белка в исходном материале и надосадочной жидкости, образовавшейся после кислотного осаждения муцина.

Оборудование и реактивы: Диагностический набор «Белок в моче-АГАТ»; раствор натрия хлористого 9 г/л; уксусная кислота 20%; Спектрофотометр, длина волны 620 нм (590–650 нм, оранжевый или красный светофильтр), кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм.; центрифуга.

Ход работы: Осаждение муцина проводят добавлением к 0,5 мл слюны 0,05 мл 20% уксусной кислоты, через 5 минут проводят центрифугирование при 2000 оборотов в минуту в течение 10 минут. Определение белка в надосадочной жидкости проводят аналогично методике для исходной слюны, используя вместо слюны надосадочную жидкость.

Концентрация муцина в слюне вычисляется как разность между концентрациями белка в исходном материале и в надосадочной жидкости, образовавшейся после осаждения муцина. Концентрация муцина в слюне обследованной группы практически здоровых людей, определенная вышеописанным методом, составила $0,78 \pm 0,03$ г/л.

2.2.3 Определение буферной емкости слюны. Способность буферного раствора сохранять свой рН определяется её буферной ёмкостью - в г-экв. сильной кислоты или основания, которые следует прибавить к 1 л буферного раствора, чтобы его рН изменился на единицу.

Буферная емкость слюны – это количественная характеристика буферного действия тех буферных систем, которые играют защитную роль в полости рта и функционируют по принципу саморегуляции. В норме буферная емкость по кислоте составляет $V_k = 8,21 \pm 0,51$ ммоль экв/л, а по основанию $V_{ос.} = 47,52 \pm 0,40$ ммоль экв/л[10].

Оборудование и реактивы: Соляная кислота (HCl) концентрацией СЭ = 0,01 моль экв/л; Гидроксид натрия (NaOH) СЭ = 0,01 моль экв/л; рН-метр

Ход работы: Предварительно определить рН слюны на рН-метре. Записать показание прибора в таблицу 8.

Таблица 8.

Результаты определения буферной емкости слюны

№ слюны	pH слюны	Δ pH	V, моль/л
	После добавления HCl		
	После добавления NaOH		

Затем к 10 мл слюны добавить 1 мл раствора HCl с концентрацией СЭ = 0,01 моль экв/л и вновь измерить pH. К другой порции слюны (10 мл) добавьте 1 мл раствора NaOH СЭ = 0,01 моль экв/л и измерить pH. По скачку pH (Δ pH) рассчитать буферную емкость слюны по кислоте и по основанию.

Метод апробирован. Буферная емкость студентов ОЗО факультета биологии географии и химии (n=3) составляет 7.86 — 8.64, что соответствует данным литературы [10]

2.2.4 Определение содержания ионов кальция. Принцип метода. Кальций образует с красителем арсеназо-III в щелочных условиях окрашенный комплекс, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации кальция в анализируемом образце и измеряется фотометрически при 650 (620–670) нм.

Причины выбора метода: Концентрация ионов кальция в слюне 1.2 - 2.7 ммоль/л. Область определения концентрации кальция – в диапазоне от 1,0 до 3,7 ммоль/л. Метод достаточно чувствителен.

Оборудование и реактивы: Диагностический набор «Кальций-Арсеназо-АГАТ»; Спектрофотометр, длина волны 650 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 620–670 нм, кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм;

Ход работы. Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 9.

Таблица 9.

Приготовление реактивов для анализа

Объем, мл	Холостая проба	Опытная проба	холостая проба
Образец	0.02	-	-

Монореактив	-	0.02	-
Калибровочный раствор кальция	2.0	2.0	2.0

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать в течение 10 минут при комнатной температуре (+18–25° С). После окончания инкубации измерить величину оптической плотности калибровочной и опытных проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 650 (620–670) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм. Окраска устойчива в течение 1 часа после окончания инкубации.

Концентрацию кальция рассчитать по формуле:

$$C = (E_o / E_k) * 2,5 ,$$

где: С – концентрация кальция в опытной пробе, ммоль/л;

E_o – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;

E_k – оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

2,5 – концентрация кальция в калибровочном растворе, ммоль/л.

2.2.5 Определение содержания ионов фосфора. Принцип метода.

Реактив для определения неорганического фосфора («Краситель») включает в себя молибдат аммония, краситель малахитовый зеленый и соляную кислоту. Неорганический фосфор образует с молибденовой кислотой фосфорно-молибденовую кислоту, которая реагирует с малахитовым зеленым с образованием комплекса зеленого цвета, стабилизированного в растворе наличием детергента. Оптическая плотность комплекса при 630 нм пропорциональна концентрации неорганического фосфора в образце.

Причины выбора метода: Концентрация ионов кальция в слюне 2.2 - 6.5 ммоль/л. Область определения концентрации фосфора – в в интервале от 0,5 до 5,0 ммоль/л. Метод достаточно чувствителен.

Оборудование и реактивы: Диагностические набор «Фосфор-АГАТ(Биоконт)»; Спектрофотометр, длина волны 650 нм, или

фотоэлектроколориметр, длина волны 620–670 нм, кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм;

Ход работы. Рабочий раствор детергента. Содержимое флакона «Детергент» развести дистиллированной водой до общего объема 100 мл. К 20 мкл образца прилить 2 мл рабочего раствора детергента, затем 2 мл красителя, тщательно перемешать и через 10 минут определить оптическую плотность при длине волны 630 нм (600–650 нм, красный светофильтр) против холостой пробы (без добавления образца) в кювете с толщиной слоя 10 или 5 мм. Окраска устойчива в течение 2 часов.

Для построения калибровочного графика из калибровочного раствора фосфора и дистиллированной воды готовят следующие разведения:

Таблица 10.

Схема построения калибровочного графика

№	калибровочный раствор фосфора	дистиллированная вода	Концентрация фосфора ммоль/л
1	0.5	2.5	0.5
2	0.5	1.0	1.0
3	0.5	0.5	1.5
4	0.5	0	3.0

Полученные разведения обрабатывают так же, как и образец.

2.2.6 Метод прямого определения альдоз в смешанной слюне.

Принцип метода. Анализ основан на способности глюкозы при нагревании в щелочной среде обесцвечивать индикатор метиленовый синий (метиленовую синь).

Причины выбора метода: Область определения концентрации стандартными диагностическими наборами глюкозы - в диапазоне от 2 до 20 ммоль/л. В норме содержание глюкозы в слюне составляет 0,06—0,17 ммоль/л. Диагностические наборы не подходят из-за низкой чувствительности. Область определения концентрации суммы альдоз определено в 0,2 - 2,1 ммоль/л. Метод достаточно чувствителен.

Оборудование и реактивы: водяная баня; лабораторный термометр на 100°C; микробюретка на 2 мл; пипетка на 2 мл; пипетка на 0,2 мл; градуированная пипетка на 1 мл; градуированная пипетка на 10 мл; 0,00025 М раствор метиленового синего; 2 N раствор KOH; 1 М раствор KNO₃; 0,0025 М раствор глюкозы; дистиллированная вода.

К 2 мл исследуемого образца добавляют 3 мл воды и медленно 3 мл 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, через 1—2 мин центрифугируют, надосадочную жидкость сливают — пробирку переворачивают и дают стечь жидкости. Из этой жидкости в дальнейшем берутся пробы для анализа.

к пробе объемом 2,0 мл добавляют 0,2 мл 2 N раствора KOH, 0,6 мл 1 М раствора KNO₃, 7,2 мл дистиллированной воды, доводя общий объем смеси до 10 мл, и нагревают на водяной бане до $t=80^{\circ}\text{C}\pm 2,0^{\circ}\text{C}$.

Полученную смесь медленно по каплям, дожидаясь полного обесцвечивания, оттитровывают 0,00025 М раствором метиленовой сини до появления не исчезающего при 80°C(±2°C) бледно-голубого окрашивания титруемого раствора. Параллельно титруют 2 колбы с контрольными растворами, содержащими взамен 2 мл ротовой жидкости 2 мл стандартного 0,0025 М раствора глюкозы. Содержание суммы альдоз (глюкозы, рибозы, 2-дезоксирибозы) в ммоль/л рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{альдоз}} = \frac{V_{\text{м.с.}} \cdot C_{\text{м.с.}} \cdot 10^4}{V_{\text{сл.}}},$$

См.с. - концентрация раствора метиленовой сини (моль/л);

V_{м.с.} - объем раствора метиленовой сини (мл);

V_{сл.} - исходный взятый для анализа объем смешанной слюны (мл).

Таким образом, подобранные методики достаточно просты, не требуют сложного оборудования и реактивов, а следовательно могут быть осуществлены в лабораториях ВУЗов.

ГЛАВА 3 Методические рекомендации к лабораторно-практическим занятиям с использованием биохимического анализа слюны в рамках базового и элективных курсов по биологии для школьников.

Развитие представлений о химическом составе живого, о его сходстве и различиях с предметами неживой природы, об особенностях обмена веществ на разных уровнях биологической организации проходит через весь курс школьной биологии. На средней ступени школьного образования курс «Человек и его здоровье» существенно расширяет возможности раскрытия физико-химических основ жизнедеятельности. Немаловажно, что к этому времени у учащихся появляется достаточный запас знаний по физике, начинается преподавание химии. Умелое использование межпредметных связей помогает учителю биологии формировать представления о физико-химическом единстве живого, о значении знаний химических основ жизни для современной медицины, сельского хозяйства, новых генных и клеточных технологий. В старшей школе изучение общей биологии начинается с химических основ строения и функционирования клетки. Этот материал является фундаментом для изложения последующих разделов цитологии, генетики, эволюционного учения и экологии.

Глубокое усвоение этого сложного материала невозможно, если у учащегося отсутствует «интерес», мотивация. Одним из действенных, проверенных средств пробудить интерес к изучению чего-либо является опыт, наблюдение. При разработке методики проведения занятий по биохимии в качестве важнейших задач ставилось – развитие интереса к физико-химической биологии и функциональной биохимии, экспериментальному методу, развитие умений выдвигать гипотезы, ставить и решать под руководством учителя экспериментальные задачи, работать в группе, обсуждать полученные результаты, участвовать в дискуссии делать выводы. Представленные ниже конспекты составлены к занятиям кружка по биохимии человека. В тоже время они могут быть легко модифицированы

для использования на уроках биологии в школе в рамках базового курса биологии. Часть занятий направлена на знакомство учащихся с современными методами изучения живого, биохимическими методами оценки физиологических функций и уровня здоровья человеческого организма и может быть проведена на базе вузовских и научно-исследовательских лабораторий [9,18].

Занятие № 1

Химические зеркала жизни

Цель: Систематизировать и расширить имеющиеся знания о химическом составе организма, используемых методах в биохимии и физиологии человека

Тип занятия: Вводный.

Задачи:

Образовательные: Систематизировать знания о химическом составе клеток, о биологических жидкостях в организме животных и человека, о важности поддержания постоянства их состава для «здорового» функционирования клеточных белков, углубить знания о составе слюны; обосновать, почему слюна может, как кровь и моча, служить «Зеркалом организма». *Развивающие:* продолжить работу над формированием у учащихся навыков частично-поисковой деятельности, развивать межпредметные связи с химией

Воспитательные: способствовать формированию диалектико-материалистического мировоззрения; воспитывать ответственность по отношению к своему здоровью;

Методы: словесные (беседа; работа с учебником); наглядные (изобразительные пособия);

Средства обучения: учебно-материальные (учебник); дидактико-методические (схемы, таблицы);

Оборудование: Таблица «Химический состав слюны», рисунок «Виды и анатомическая локализация слюнных желез человека».

Ход занятия

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний

На уроках биологии вы уже знакомились с химическим составом нашего организма. Внутри наших клеток скрыта большая часть таблицы Менделеева. Однако многие элементы находятся в следовых количествах. Из каких веществ состоят наши клетки. Каков элементный состав белков, жиров, углеводов? Это относительно «непрочные» вещества, поэтому требуется их постоянный ресинтез, строительные блоки и топливо для которого поставляет пищеварение, кислород для сжигания топлива и извлечения энергии – дыхание.

Связующим звеном между всеми органами и системами организма является кровь. Через кровь осуществляется регуляция деятельности всех систем. Вот почему физико-химические показатели крови наглядно отражают состояние функционирования всего организма. Если кровь в достаточных количествах содержит глюкозу, аминокислоты, липиды разных видов, значит, эти вещества бесперебойно поступают в клетки и используются на их нужды. Если повышается, например, содержание глюкозы в крови, значит, либо клетки теряют способность ее поглощать, либо отсутствует потребность в ней. По появлению в крови определенных белков, ферментов можно сказать какие клетки разрушались под действием той или иной болезни. Не зря Клод Бернар называл кровь «зеркалом организма». Другим своеобразным «зеркалом» является моча. Ее анализ показывает какие вещества не нужны и даже опасны для организма.

В последнее время большое внимание уделяется экспресс-диагностике обменных биохимических процессов. Такая диагностика позволяет очень быстро оценить самочувствие и возможности спортсмена прямо на дистанции или, например, степень утомления оператора АЭС прямо на рабочем месте.. К тому же негативные эмоции, сопровождающие процедуру забора крови, могут повлиять на результаты некоторых очень чувствительных методов анализа. К сожалению, при работе с кровью не исключена возможность инфицирования (заражения) некоторыми очень опасными инфекциями. Поэтому все

чаще взоры исследователей и медиков обращаются к постоянно доступной слюне как объекту биохимического анализа организма.

Предлагаю Вам попробовать разобраться в химии вашего организма с помощью опытов со слюной. Но сначала давайте вспомним происхождение этого удивительного секрета нашего организма.

Фронтальный опрос.

Что такое слюна?

Слюна - это секрет слюнных желёз. Она выделяется большими и малыми слюнными железами. Большие слюнные железы представлены 3 парами: околоушные, поднижнечелюстные, подъязычные. Малые слюнные железы находятся в различных участках слизистой оболочки полости рта.

Основная функция слюны?

Пищеварительная - Подготавливает пищу к проглатыванию и пищеварению, обволакивает ее, делает скользкой и кашицеобразной, частично переваривает углеводы.

Непищеварительные функции?

Принимает участие в очищении полости рта от остатков пищи, налета и бактерий; благодаря буферным свойствам, она нейтрализует отрицательное действие сильных кислот и щелочей в пределах емкости буфера; обеспечивает поступление ионов, необходимых для реминерализации зубов; обладает противобактериальными, противогрибковыми и противовирусными свойствами.

Кровь омывает все ткани и органы тела. Слюнные железы не являются исключением. Некоторые вещества, разносимые током крови, например, лекарственные препараты, гормоны и вирусы, достигают слюны и с помощью современных методов могут быть обнаружены в ней.

3)Изучение новой темы

Слюна имеет сложный состав. Сравним состав слюны и плазмы крови (табл.1).

Состав слюны зависит от состояния здоровья, причем не только полости рта. Например, у больных хроническим панкреатитом увеличивается

содержание натрия и калия в слюне. При почечной недостаточности, и в слюне, и в крови увеличивается количество мочевины. При диабете в составе слюны резко снижено содержание инсулина и повышено содержание глюкозы. Состав слюны может меняться и у здоровых людей, например, с возрастом. Недавно появились данные, что состав слюны меняется при физических нагрузках и даже в зависимости от психологического состояния человека.

Поэтому слюна вполне может претендовать на роль «Зеркала организма».

На следующих занятиях мы экспериментально изучим состав слюны, значение отдельных ее компонентов. Индивидуальные, возрастные, половые особенности состава слюны – молодое недавно стартовавшее направление биохимической диагностики организма человека. Может быть нам предстоят какие-нибудь удивительные открытия. В любом случае, чтобы их не пропустить, чтобы не наделать ошибок в интерпретации полученных данных надо хорошо разбираться в принципах количественного химического анализа. Поэтому для тренировки навыков химических расчетов домашнее задание включает задачу.

4) Домашнее задание: Повторите материал о химическом строении белков, качественных реакциях на белки; Решите задачу: В состоянии покоя скорость выделения смешанной слюны в среднем колеблется от 0,3 мл/мин. Стимуляция увеличивает данный показатель до 1 - 2 мл/мин. Содержание натрия составляет 6- 23 ммоль/л, содержание магния - 0.1-0.5 ммоль/л .

1 вариант: минимальное количество натрия, выделяющегося со слюной в сутки (в граммах) .

2 вариант: максимальное количество магния, выделяющегося со слюной в сутки(в граммах).

Считать, что время стимулированного(с едой) слюноотделения составляет 2 часа.

Занятие № 2

Белки - основной структурный элемент

Цель: Систематизировать, расширить знания по теме “ Строение и принципы количественного определения белков ”, освоить количественные методы определения белка в слюне; определить концентрацию белка в слюне.

Тип занятия: комбинированный.

Задачи:

Образовательные: углубить знания о способах анализа белков.

Развивающие: установить межпредметные связи с органической химией и с физикой (раздел Оптика), продолжить работу над формированием у учащихся навыков частично-поисковой деятельности; продолжить работу над формированием у учащихся навыков обращения с лабораторным оборудованием.

Воспитательные: способствовать формированию диалектико-материалистического мировоззрения.

Методы: словесные (беседа; работа с учебником); практические (лабораторная работа);

Средства обучения: учебно-материальные

Реактивы и Оборудование: Диагностический набор «Белок в моче-АГАТ»; 9% раствор натрия хлористого; фотоэлектроколориметр или спектрофотометр

Ход занятия

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний

Важнейший структурный элемент всех живых организмов. Они составляют более половины массы сухого вещества тканей человека и почти всех животных. Ранее, на уроках биологии и химии вы изучали белки.

Фронтальный опрос.

Каково химическое строение белков?

Это очень сложные биополимеры, в которых мономерами являются 20 аминокислот. Остатки аминокислот соединены между собой пептидными связями. Во-первых, разнообразие радикалов аминокислот, во-вторых, большое количество аминокислот в одной белковой молекуле,

нековалентные и ковалентные (дисульфидные мостики) взаимодействия между удаленными аминокислотными остатками лежат в основе образования вторичной и третичной структур и формирования нативной функционально активной белковой конформации.

Как можно идентифицировать наличие белка в растворе?

Качественная реакция на белок - Биуретовая - образование в щелочной среде окрашенных в фиолетовый цвет комплексов пептидных связей с ионами меди (II).

Сегодня мы определим общее содержание белка в слюне. Это первый этап изучения белков любой ткани нашего организма. Не исключение и слюна. Сравним полученные результаты с данными литературы, оценим индивидуальные колебания этого параметра. Наша методика также базируется на цветной реакции, но для количественного анализа нам предварительно придется изучить зависимость между концентрацией белка и интенсивностью окраски. Эту зависимость в конечном итоге будет выражаться в виде графика. По оси абсцисс – концентрация белка, по оси ординат – интенсивность окраски в условных единицах.

Какие физические приборы помогут нам определить интенсивность окрашивания. Вспомним основные понятия фотометрии из курса оптики.

Вспомните из курса физики понятие оптическая плотность

Оптическая плотность — мера ослабления монохроматического света прозрачными объектами

Вспомните из курса физики понятие монохроматическое излучение.

Электромагнитное излучение, обладающее очень малым разбросом частот, в идеале — одной длиной волны.

Вспомните из курса физики Закон Бера-Бугера-Ламберта

Прямая зависимость между концентрацией вещества и его оптической плотностью сохраняется в строго определенных параметрах концентраций.

3)Изучение нового материала.

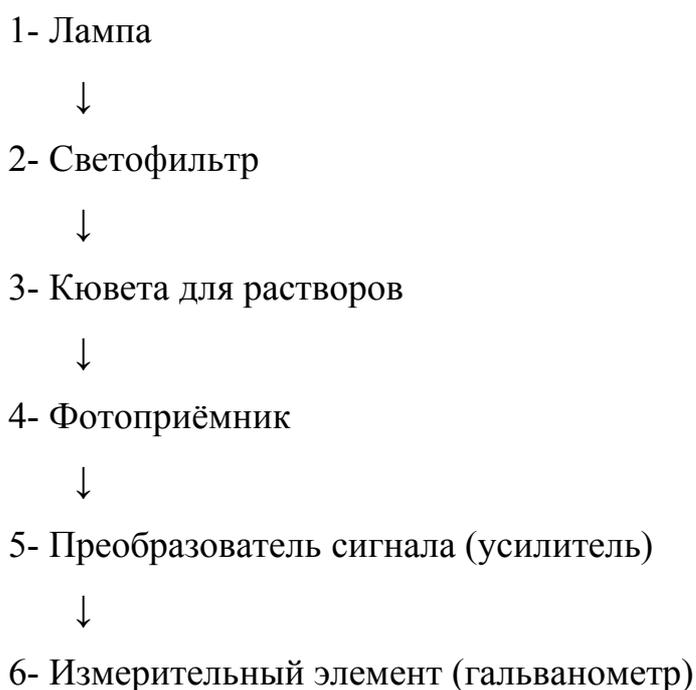
Реакции на присутствие белка основаны на открытии в нём тех или иных химических групп и на его физико-химических свойствах.

Качественной реакцией на белок является биуретовая реакция. Этот же способ может применяться для определения относительно больших концентраций белка (20 -120г/л), например, для определения общего белка в сыворотке крови.

Но в слюне содержание общего белка намного меньше (1.4-6.4 г/л). Поэтому для определения общего белка в слюне подходит метод основанный на помутнении, образовавшегося при добавлении сульфосалициловой кислоты в раствор белка .

Интенсивность помутнения раствора белка с сульфосалициловой кислотой, измеренная по оптической плотности, пропорциональна его концентрации. Интенсивность помутнения определяется спектро-фотометрическим методом с помощью фотоколориметра. Фотоколориметр — оптический прибор для измерения концентрации веществ в растворах. Действие колориметра основано на свойстве окрашенных растворов поглощать проходящий через них свет тем сильнее, чем выше в них концентрация окрашивающего вещества.

Принципиальная схема однолучевого фотоэлектроколориметра (ГДЕ):



Луч света от источника 1 проходит через светофильтр 2. Полученный монохроматический свет проходит через кювету с раствором 3. Кюветы – сосуды, в которые помещают анализируемый раствор и раствор сравнения. Они представляют собой прямоугольные сосуды с определённым расстоянием между стенками. Для аналитических измерений важна толщина слоя раствора, которая определяется расстоянием между передней и задней стенками. Кюветы изготавливают из стекла, пропускающего все лучи видимого спектра. Прошедший через раствор свет, попадает на фотоприёмник 4 – фотодиод, который преобразует энергию световой волны в электрический ток. Сигнал усиливается усилителем -5 и поступает на измерительный элемент (гальванометр) 6, где находятся две шкалы. На нижней шкале нанесены значения оптической плотности раствора, а на верхней – коэффициента пропускания в процентах.

Принцип измерения коэффициента пропускания и оптической плотности состоит в том, что на фотоприёмник направляют поочерёдно световые потоки – полный и прошедший через анализируемый раствор. Вначале в световой поток помещают кювету с раствором сравнения (растворитель или дистиллированная вода). Световой поток, прошедший через него, называют полным и условно принимается за 100%. Затем в световой поток помещают кювету с исследуемым раствором. Вследствие поглощения света раствором световой поток ослабляется, и стрелка гальванометра отклоняется от предыдущего значения. По показаниям стрелки на шкале определяют значение оптической плотности или коэффициента пропускания исследуемого раствора.

Выполнение лабораторной работы: См. методику 2.2.1

4) Выводы: Сравните содержание белка в различных пробах слюны. У каждого человека содержание общего белка в слюне различно. Сравните значения с нормами. Укладываются ли значения в нормы?

5) Домашнее задание: Попробуем сопоставить средние значения концентраций белка в слюне между мальчиками и девочками, между

посещающими физкультурные секции и непосещающими. Повторить функции белков.

Занятие №3

Функции белков.

Цель: Систематизировать, расширить знания по теме “Виды и функции белков”, освоить методы осаждения некоторых белков в растворе, освоить количественные методы определения белка в слюне; определить концентрацию определенных белков в слюне.

Тип занятия: комбинированный.

Задачи:

Образовательные: Расширить сведения о функциях белков слюны. Дать сведения о способах выделения некоторых белков;

Развивающие: продолжить работу по развитию внимания, памяти; продолжить работу над формированием у учащихся навыков обращения с химическими реактивами, лабораторным оборудованием.

Воспитательные: используя межпредметные связи, способствовать формированию научно-материалистического мировоззрения.

Методы: словесные (беседа); практические (лабораторная работа);

Средства обучения:

Реактивы и Оборудование: Оборудование и реактивы: Диагностический набор «Белок в моче-АГАТ»; 0,9% раствор натрия хлористого; уксусная кислота 20%; Спектрофотометр; центрифуга.

Ход занятия

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний

Белки являются не только важнейшим структурным элементом живых организмов. Они выполняют в организме многочисленные функции.

Фронтальный опрос.

Перечислите известные вам функции белков.

Строительная, защитная, каталитическая, регуляторная.

3)Изучение нового материала.

Белки слюны также разнообразны по своему виду, составу и функциям.

Белки ротовой жидкости по их функциональным свойствам делят на белки, участвующие в пищеварении, белки, выполняющие антибактериальные, антигрибковые, антивирусные свойства, белки, проявляющие буферные свойства, выполняющие регуляторные функции.

Сегодня мы определим один из белков слюны –муцин - в стимулированной и в нестимулированной слюне.

В белковом составе слюны одним из основных компонентов, доступных для определения является муцин. Муцин - кислый белок (гликопротеин). Он является обязательным компонентом секретов слизистых оболочек желудочно-кишечного, респираторного трактов, мочеполовой системы и конъюнктивы, выполняя функции фактора врожденного иммунитета. Муцины слюны покрывают и смазывают поверхности слизистой оболочки. Их крупные молекулы предотвращают прилипание бактерий и колонизацию ими тканей ротовой полости, защищают ткани от физического повреждения и позволяют им устоять перед тепловыми перепадами при потреблении горячей и холодной пищи. Слюнные железы выделяют слюну непрерывно. Но состав слюны например при жевании(стимуляции) изменяется. В том числе и белковый состав.

Вопрос: Как вы считаете, в какой слюне содержание муцина выше и почему?

Так как муцин играет важную роль в пищеварении в ротовой полости, содержание муцина повышено в стимулированной слюне.

Определение муцина основано на его предварительном осаждении и сопоставлении содержания белка в слюне до и после этой процедуры. При понижении рН муцин осаждается.

Выполнение лабораторной работы: См. методику 2.2.2

4)Выводы: Сравните содержание муцина в пробах стимулированной и нестимулированной слюны. Нам удалось подтвердить выдвинутую в начале

занятия гипотезу. Таким образом, мы экспериментально доказали гипотезу о связи муцинов с защитной и пищеварительной функциями слюны.

5) Домашнее задание: Повторить факторы, влияющие на функциональную активность белков, на каталитическую активность ферментов.

Занятие № 4

«Условия труда» для ферментов

Цель: Расширить представление об условиях необходимых для нормальной работы ферментов; определить буферную емкость слюны.

Тип занятия: комбинированный.

Задачи:

Образовательные: углубить представления о ферментах, ферментативном катализе и о факторах, влияющих на активность ферментов. дать сведения о буферной емкости.

Развивающие: продолжить работу над формированием у учащихся навыков частично-поисковой деятельности; продолжить работу над формированием у учащихся навыков обращения с лабораторным оборудованием.

Воспитательные: используя межпредметные связи, способствовать формированию научно-материалистического мировоззрения.

Методы: словесные (беседа); практические (лабораторная работа);

Средства обучения:

Оборудование и реактивы: HCl 0,01 моль/л; NaOH 0,01 моль/л; pH-метр.

Ход занятия

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний.

Ротовая полость это область- в которой внутренняя среда организма активно контактирует с внешней. Если внутренняя среда относительно постоянна, то внешняя среда гораздо больше подвержена изменениям. Естественно, в месте контакта двух сред могут наблюдаться значительные колебания условий.

Фронтальный опрос.

Что такое рН?

Мера активности ионов водорода в растворе, количественно выражающая его кислотность. рН в ротовой полости поддерживается благодаря буферным свойствам слюны.

3)Изучение нового материала

На уроках биологии по теме «Пищеварение в ротовой полости» вы рассматривали действие слюны на крахмал. После добавления в одну из пробирок HCl изменений крахмала в ней не происходило. Это потому, что ферменты слюны, как и любые другие, могут функционировать только при определенных условиях, например определенная температура и рН.

Способность в определенных пределах нейтрализовывать кислоты и щелочи и сохранять во рту определенный кислотно-щелочной баланс называется буферной способностью слюны. Эта способность зависит от присутствия в нем слабого основания и слабой кислоты и характеризуется её буферной ёмкостью - в г-экв. сильной кислоты или основания, которые следует прибавить к 1 л буферного раствора, чтобы его рН изменился на 1. Высокая буферная емкость слюны относится к числу факторов, повышающих резистентность зубов к кариесу.

Рассмотрим как функционируют некоторые буферные системы слюны: бикарбонатная. Бикарбонатная система состоит из слабой угольной кислоты, нейтрализующей поступающие в ротовую полость щелочесодержащие продукты. Второй компонент – гидрокарбонат натрия – слабое основание. На долю бикарбонатного буфера приходится 80% буферной емкости слюны. Попробуйте объяснить сами, как функционируют гидрофосфатная и белковая буферные системы.

На этом уроке мы измерим буферную емкость стимулированной и нестимулированной слюны.

Выполнение работы: См . методику 2.2.5

4)Выводы: Сравните показатели нестимулированной и стимулированной слюны. Потребление пищи снижает рН. Защитные и пищеварительные белки

слюны могут функционировать только при определенном уровне кислотности. Следовательно, стимулированная слюна (собранная во время еды) обладает более высокой буферной емкостью, чем слюна, выделяемая в промежутках между приемами пищи.

5) Домашнее задание: Посмотреть информацию о макро и микроэлементах. Найти сведения о последствиях их недостатка и избытка.

Занятие № 5

Элемент жизни – кальций. Определение содержания ионов кальция в слюне.

Цель: Расширить представление о роли неорганических ионов в жизнедеятельности организма; определить концентрацию ионов кальция в слюне.

Тип урока: комбинированный.

Задачи:

Образовательные: Расширить представления о роли кальция в организме, о методах его определения.

Развивающие: продолжить работу над формированием у учащихся навыков частично-поисковой деятельности; развивать межпредметные связи с неорганической химией продолжить работу над формированием у учащихся навыков обращения с лабораторным оборудованием.

Воспитательные: используя межпредметные связи, способствовать формированию научно-материалистического мировоззрения.

Методы: словесные (беседа); практические (лабораторная работа);

Средства обучения:

Оборудование: Диагностические набор «Кальций-Арсенazo-АГАТ»; Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр.

Ход урока

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний

Из курса химии вы знаете о таком химическом элементе как кальций.

Фронтальный опрос.

Что такое макроэлементы и микроэлементы?

Макроэлементы - это минералы присутствующие в нашем организме в количестве от 25 г до 1 кг. К ним относятся натрий, хлор, калий, фосфор, магnezия, кальций, сера.

Микроэлементы - это минералы, присутствующие в организме в количестве менее 0,015 г. К ним относятся: марганец, медь, молибден, никель, ванадий, кремний, олово, бор, кобальт, фтор, железо, цинк, селен.

Привести примеры последствий недостатка какого-либо неорганического элемента.

Недостаток калия: мышечная слабость, мышечные боли; сбои сердечного ритма; затруднением дыхания; падением артериального давления.

Недостаток натрия: появление сухости кожного покрова, потеря его эластичности. Нарушения нормального функционирования пищевого канала (тошнота, рвота, отсутствие аппетита); центральной нервной системы (кома, апатия, нарушения психики, спутанность сознания); сердечно-сосудистой системы (тахикардия, артериальная гипотензия); почек (анурия, олигурия).

Что вы знаете про кальций?

Главная функция кальция ?

Структурный материал - создание и поддержание полноценных зубов и костей. 99% его – в костях скелета. В составе костной ткани кальций содержится в двух формах: свободной и связанной. Играет важную роль в свертывании крови. Активирует многие ферменты и гормоны.

3)Изучение новой темы.

Содержание кальция в организме мужчины составляет приблизительно 1,5 кг, женщины – 1 кг

Кальций является одним из жизненно необходимых минералов. Принимает участие более чем в 300 биологически важных реакциях: обеспечение процессов сокращения мышц, нервной и нервно–мышечной проводимости; активация ферментов и эндокринных желез; противовоспалительное, антистрессовое, десенсибилизирующее, противоаллергическое действие; участие в

формировании кратковременной памяти и обучающих навыков. Недостаток кальция в детском возрасте приводит к задержке роста, нарушениям осанки, снижению мышечного тонуса, нарушениям нервно-мышечной возбудимости также к различной соматической патологии . Поэтому своевременная диагностика недостатка кальция имеет важное значение.

Количество кальция в организме человека составляет 1,4% из расчета 1000 г на 70 кг массы тела. У новорожденного ребенка уровень макроэлемента составляет 30 г, возрастая к периоду зрелости до 1000–1200 г. Для этого необходимо ежедневное пополнение из рациона в размере 100 - 150 мг кальция. Максимум достигается в период половой зрелости: 280 мг - для мужчин и 200 мг - для женщин.

Сегодня состояние обмена кальция в вашем организме мы оценим по уровню кальция в слюне. Кальций будем определять фотоколориметрически с помощью цветной реакции с красителем арсеназо-III.

Выполнение лабораторной работы: См . методику 2.2.4

4)Выводы: Сравните полученные результаты с известными нормами. Сильно ли они различаются? Отсутствие различий свидетельствует о том, что процессы формирования организма почти завершены. Обратите внимание на индивидуальные различия. Имеются сведения о различии содержания кальция у спортсменов и неспортсменов . Попробуйте сравнить показания у лиц ,посещающих спортивные секции и лиц, не посещающих.

5)Домашнее задание. Посмотрите информацию в учебниках и дополнительных источниках о другом макроэлементе - фосфоре.

Занятие № 6

Светоносный носитель жизни. Определение содержания ионов фосфора в слюне.

Цель: Развить представление о биологической роли фосфора . Определить концентрацию ионов фосфора в слюне.

Тип урока: комбинированный.

Задачи: *Образовательные*: Дать сведения о роли фосфора в организме .

Развивающие: продолжить работу над формированием у учащихся представление о единстве живой и неживой природы; продолжить работу над формированием у учащихся навыков обращения с лабораторным оборудованием.

Воспитательные: используя межпредметные связи, способствовать формированию диалектико-материалистического мировоззрения.

Методы: словесные (беседа;); практические (лабораторная работа);

Средства обучения:

Оборудование и реактивы: Диагностические набор «Фосфор-АГАТ(Биоконт)»; Спектрофотометр, или фотоэлектроколориметр, Ход урока

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний.

Другим , тоже важным элементом, входящим в состав человеческого организма является фосфор.

Фосфор в организме человека и в слюне содержится в 2 видах : органический и неорганический

Фронтальный опрос.

В состав чего в организме человека входит фосфор?

В основном в зубах и костях в виде фосфата кальция . В составе нуклеотидов и нуклеиновых кислот носителей наследственной информации. В составе фосфолипидов - основного структурного элемента клеточных мембран

3) Изучение новой темы.

Содержание фосфора в организме 500 - 750 г, примерно 90% сконцентрировано в зубах и костях.

Кости, зубы: в качестве компонента фосфата кальция фосфор является базовым элементом костей и зубов. И это главная функция макроэлемента.

Деление клеток: фосфор находится в составе фосфолипидов и фосфопротеинов в структуре мембран клеток, а также в составе нуклеиновых

кислот, принимающих участие в процессах деления клеток, роста, хранения и применения генетической информации.

Синтез энергии: фосфор требуется для преобразования белков, углеводов и жиров в энергию. Он входит в состав молекулы аденозинтрифосфата (АТФ), который является аккумулятором энергии, обеспечивающим энергозависимые процессы в клетках тканей, особенно в мышечной и нервной.

Баланс фосфора и кальция: данные макроэлементы тесно связаны в организме и при выполнении многих функций уравнивают друг друга. Этот баланс 2 (кальция) : 1 (фосфора) отчасти координируется гормонами. На обмен фосфора воздействуют гормоны паращитовидной железы, витамин Д, обмен кальция, кислотно-щелочное состояние крови и качественный состав пищи.

Другие функции: фосфор находится во взаимодействии со многими ферментами, активизирует работу витамина D и витаминов группы B. Он также способствует поддержанию кислотно-щелочного равновесия, являясь элементом буферной системы крови и иных биологических жидкостей организма. Кроме того, он улучшает усвоению некоторых питательных веществ, к примеру, глюкозы.

Сегодня состояние обмена фосфора в вашем организме мы оценим по уровню фосфора в слюне. Фосфор будем определять фотокolorиметрически с помощью цветной реакции с красителем включающим в себя молибдат аммония, краситель малахитовый зеленый и соляную кислоту.

Выполнение лабораторной работы: См . методику 2.2.5

4)Выводы: Сравните полученные результаты с нормами. Связаны ли индивидуальные различия содержания фосфора и кальция. ?

5)Домашнее задание: Повторить Углеводы и углеводный обмен.

Занятие № 7

Основной топливный элемент организма.

Цель: Углубить и расширить представление об углеводном обмене и методах его оценки. Определить концентрацию альдоз в слюне.

Тип урока: комбинированный.

Задачи:

Образовательные: Дать сведения о роли глюкозы в организме .

Развивающие: продолжить работу над формированием у учащихся навыков частично-поисковой деятельности; продолжить работу над формированием у учащихся навыков обращения с лабораторным оборудованием.

Воспитательные: используя межпредметные связи, способствовать формированию научно-материалистического мировоззрения. Способствовать развитию у учащихся ответственного отношения к своему здоровью.

Методы: словесные (беседа); практические (лабораторная работа);

Средства обучения:

Оборудование и реактивы: водяная баня; лабораторный термометр на 100°C; микробюретка на 2 мл; пипетка на 2 мл; пипетка на 0,2 мл; градуированная пипетка на 1 мл; градуированная пипетка на 10 мл; 0,00025 М раствор метиленового синего; 2 N раствор КОН; 1 М раствор KNO₃; 0,0025 М раствор глюкозы; дистиллированная вода.

Ход урока

1) Организационный момент.

2) Актуализация опорных знаний.

Около 60% всей энергии, которую мы получаем с пищей, приходится именно на углеводы. Они поступают в организм в виде сложных соединений, среди которых – растительные полисахариды: крахмал и сахароза, небольшие количества гликогена (полисахарид животного происхождения). Попадая в желудочно-кишечный тракт, углеводы расщепляются до более простых соединений: в процессе ферментации они превращаются в моносахариды глюкозы, фруктозы и галактозы. Около 80% моносахаридов в организме составляет глюкоза.

Фронтальный опрос.

Что такое глюкоза?

Глюкоза относится к простым углеводам. Является моносахаридом и шестиатомным сахаром.

Основная функция глюкозы?

Источник энергии, который обеспечивает работу мышечных клеток, эритроцитов крови и, что особенно важно, клеток головного мозга.

3)Изучение новой темы.

Глюкоза важна не только для восполнения энергетических запасов. Это вещество участвует в синтезе липидов, нуклеиновых кислот и аминокислот, ферментов. А полисахариды, которые образуются из глюкозы, являются основой хрящей, волос, связок.

Важная особенность усвоения глюкозы организмом: глюкоза дает человеку энергию, только если проникает внутрь клеток. Сделать это помогает инсулин – гормон, который выделяют бета-клетки поджелудочной железы. Для того чтобы инсулин начал выделяться, необходимо повышение уровня глюкозы в сыворотке крови, обычно наступающее после еды. Инсулин выделяется не только после приема пищи, но и периодически в течение суток, поскольку определенный уровень энергии постоянно требуется для поддержания обменных процессов.

Постоянный уровень глюкозы поддерживается инсулином и глюкагоном – гормонами, которые являются антагонистами. Избыток глюкозы откладывается в виде гликогена в печени – при необходимости организм использует этот резерв для получения энергии, преобразуя его вновь в глюкозу.

Нормальное содержание глюкозы в крови – от 3,3 до 5,5 ммоль/л.

Нормальное содержание глюкозы в слюне 0.1 – 0.3 г/л[15].

Гипергликемия - повышенное содержание глюкозы в крови, что влечет за собой и повышенную секрецию инсулина для того, чтобы эту глюкозу утилизировать. В результате поджелудочная железа, продуцирующая инсулин, работает с перегрузкой. И когда она истощается и начинает меньше

вырабатывать инсулина, нарушаются процессы превращения и расщепления глюкозы. А это может привести к развитию сахарного диабета. При гипергликемии подавляется секреция гормона поджелудочной железы — глюкагона, а в условиях его дефицита происходит сбой в расщеплении белков до аминокислот. Нарушение белкового и углеводного обмена ослабляет защитные силы организма.

Гипогликемия - низкий уровень глюкозы в крови. Организм человека и особенно головной мозг для нормального функционирования нуждаются в том, чтобы содержание глюкозы было постоянным. При гипогликемии страдает центральная нервная система, возможны затуманивание и двоение зрения, головная боль. Иногда возникают и психические симптомы в виде депрессии и раздражительности, дремотного состояния днем и бессонницы по ночам. Поддержание нужной концентрации глюкозы зависит от состава пищи и эффективного функционирования всех систем организма, участвующих в регуляции уровня сахара в крови. К гипогликемии может привести нарушение работы любой из этих систем. Резкое снижение уровня сахара в крови может быть также следствием беременности, поноса, голодания или длительных физических нагрузок. Гипогликемия может возникать при избыточной секреции инсулина .

Сегодня состояние углеводного обмена в вашем организме мы оценим по уровню глюкозы в слюне методом обесцвечивания метиленовой сини. Путем титрования. Это метод количественного анализа основан на измерении объёма раствора реактива точно известной концентрации, расходуемого для реакции с определяемым веществом.

Выполнение лабораторной работы: См. Методику 2.2.6

4)Выводы: Содержание глюкозы в слюне очень низкое. Это является нормой, и характерно для здорового человека. На данном занятии мы не диагностировали у вас сахарный диабет.

Сегодня мы закончили экспериментальную часть нашего курса. Вы познакомились с некоторыми широко используемыми методами биохимического

анализа, этот курс позволит вам лучше понять роль, значение различных химических компонентов нашего организма. В рамках краткого экспериментального курса мы работали с относительно малоизученным, но интенсивно изучаемым объектом. После каждой лабораторной работы требовалось провести небольшой сравнительный анализ различных компонентов слюны. На следующем занятии попробуем вместе обсудить полученные вами результаты. Слюна - малоизученный объект, поэтому возможно в ходе этого анализа выявятся новые закономерности. Традиционно новые открытия обсуждаются на конференции. Окончательный итог нашего курса — научная конференция. Лучший доклад будет направлен на краевую конференцию школьников.

Нами не ставилась задача полностью охватить программу кружка или других видов внеклассных занятий. В дальнейшем этот курс может быть дополняться. На наш взгляд кроме развития интереса к биохимии, углубления имеющихся знаний по биологии в нем предоставляются широкие возможности для развития межпредметных связей с химией, физикой, информатикой, математикой, что способствует и углублению знаний по этим предметам.

ВЫВОДЫ

1. Химический состав слюны, его половозрастные особенности, динамика состава слюны под влиянием различных факторов, легкость и безопасность сбора слюны предоставляют широкие возможности ее использования при знакомстве учащихся с важнейшими метаболитами, их свойствами, функциональным значением, основными методами определения.
2. Подобраны относительно несложные, чувствительные и безопасные методики биохимического анализа слюны для лабораторно-практических занятий школьников, расширяющие и углубляющие их представления о биохимическом составе организма, о метаболизме и возможностях его изучения с помощью биохимического анализа жидкостей человека.
3. Разработано содержание, представлены конспекты семи занятий по биохимии для учащихся 9-11 классов с использованием биохимического анализа слюны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабаева А. Г., Шубникова Е. А. Структура, функции и адаптивный рост слюнных желез. - М.: Изд-во МГУ, 1979. - 190 с.
2. Барабаш Р.Д., Варава Г.Н., Скляр В.Е. Клеточные и гуморальные механизмы антимикробной защиты ротовой полости. // Стоматология. - 1974.- Т. 53, № 5.-С. 91–98.
3. Боровский, Е. В. Биология полости рта. - М. : Медицина, 1991. - 271 с.
4. Вавилова Т.П., Островская И.Г., Медведев А.Е. Возможности и перспективы исследования гормонов в слюне. // Биомедицинская химия. - 2014. - Т 60, вып. 3. - С. 295-307
5. Вавилова Т. П., Трунилина Н. И., Петрович Ю. А Слюна и десневая жидкость. - М.: МГУ, 1986. - 38 с.
6. Васильева Т. И., Подковкин В. Г., Чикина Е. Л. Биохимическая оценка функционального состояния коры надпочечников // Вестник СамГУ - 2002. - № 4. - С.137-144.
7. Горизонтов П. Д., Федотова М. И. Стресс и система крови.- М.: Медицина, 1983. - 239 с.
8. Грицук А. И. , Свергун В. Т., Коваль А. Н. Биохимия ротовой жидкости. — Гомель: ГГМУ, 2011. - 40 с.
9. Каменский А.А., Общая биология. 10-11класс — М.:Дрофа. 2005 - С32-37.
10. Калимулина Л.С. Скорость секреции и буферная емкость слюны лиц, предрасположенных к кариесу и иммунных // Вопросы клинической стоматологии.- 1966.- Вып.1.- С. 54-55.
11. Касибина А.Ф. Биохимические показатели смешанной слюны в зависимости от состояния зубов // Сб. науч. тр. Волгоградского мед. ин-та.- 1974. - Т. 27, вып. 4. - С. 28-29.
12. Коротько Г. Ф., Кадыров Ш. К. Роль слюнных желез в обеспечении постоянства гидролитической активности крови /// Физиол. журнал им. И. М. Сеченова. - 1994. - Т. 80, № 8. - С 108-110 .

13. Куликов В. П., Киселев В. И. Потребность в двигательной активности. Физиология. Валеология. Реабилитология. - Новосибирск: Наука, 1998. - 149с.
14. Леонтьев В.К., Пахомов Г.Н. Профилактика стоматологических заболеваний. - М.: РУДН, 2006. - 416 с.
15. Леус П.А., Троцкая О.С., Лобко С.С., Палий Л.И., Смешанная слюна (состав, свойства, функции). - Минск.: БГМУ, 2004. - 42 с.
16. Лукашева Е.В., Рыскина Е.А. Жидкости полости рта. Биохимия зубного налета и зубного камня - М.: РУДН, 2011. - 48 с.
17. Носков В. Б. Слюна в клинической лабораторной диагностике // Клин. лаб. диагн. - 2008. - № 6. - С. 14-17.
18. Панина, Г.Н., Биология . Человек. 8 Класс.- М.: Дрофа, 2008 - С. 86-88.
10. Пинелис В. Г., Арсеньева Е. Н., Сенилова Я. Е., Скоблина Н. А. и др. Содержание кортизола в слюне у здоровых детей // Вопросы диагностики в педиатрии.- 2009. - Т. 1, № 1. - С. 49-52.
20. Пожарицкая М.М., Макарова О.В. Секреция и физиологические функции смешанной слюны в норме. - М.: ВУНМЦ, 1996. - 17с.
21. Розенгард Е.В., Михайлов С.С. Слюна как объект биохимического контроля в спорте // Ученые записки университета имени П.Ф. Лесгафта. - 2008. - №6. - С. 57-61.
22. Тарасенко Л.М., Непорада К.С. Биохимия органов полости рта. - Полтава: из-во Полтава, 2008. С. 2-21.
23. Фрейдин Л.И., Николаев А.А., Фрейдин Б.Л. Белковый буфер в смешанной слюне человека // Стоматология. - 1985.- №3.- С. 16-17.
24. Черкасов, Д. В. Сравнительный анализ содержания кортизола в слюне у студентов вуза с различной спортивной подготовкой // Вестник Тамбовского университета. 2011. - Т. 16. - Вып. 2. - С. 517-519.