

Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»

Кафедра биологической химии

Авторы:

О.С. Логвинович, заведующий кафедрой, к.б.н., доцент

А.Н. Коваль, доцент, к.б.н., доцент

А.В. Литвинчук, доцент, к.х.н.

М.В. Громыко, старший преподаватель

Н.С. Мышковец, старший преподаватель

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

для проведения лабораторного занятия
по учебной дисциплине «Биологическая химия»

для студентов

2-го курса лечебного факультета,
обучающихся по специальности 7-07-0911-01 «Лечебное дело»

**ТЕМА: БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ-2.
ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ.
МИКРОСОМАЛЬНОЕ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ**

Время: 3 часа

Утверждены на заседании кафедры биологической химии
(протокол от 29.08.2025 № 10)

Гомель, 2025

1. УЧЕБНЫЕ И ВОСПИТАТЕЛЬНЫЕ ЦЕЛИ, МОТИВАЦИЯ ДЛЯ УСВОЕНИЯ ТЕМЫ, ТРЕБОВАНИЯ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ ЗНАНИЙ

Биоэнергетика основывается на единственно научной точке зрения, согласно которой к явлениям жизни полностью применимы законы физики и химии, а к превращениям энергии в организме – основные начала термодинамики. Однако сложность и специфичность биологических структур и реализующихся в них процессов обуславливают ряд глубоких различий между биоэнергетикой и энергетикой неорганического мира.

Цель занятия: закрепить у студентов знания о структуре дыхательной цепи митохондрий, сформировать у них представления о принципах функционирования входящих в ее состав комплексов, освоить методику определения количества каталазы и оценивать диагностическую значимость этого фермента. Воспитать у студентов чувство гордости за избранную профессию и сформировать у них культуру бережного отношения к своему здоровью.

Задачи занятия: сформировать у студентов представления о локализации, роли и механизмах функционирования митохондриальной дыхательной цепи, дать понятие о тканевом дыхании, принципах сопряжения и разобщения; познакомить с ролью и механизмами функционирования микросомальной дыхательной цепи; обобщить знания об особенностях электронного строения атома кислорода и принципах образования активных форм кислорода, а также способах организма регулировать их образование с помощью антиоксидантной защиты.

Требования к исходному уровню знаний:

Студент должен знать:

- 1.1. Понятие о окислительных процессах, как основном пути получения энергии;
- 1.2. Локализацию и строение митохондриальной дыхательной цепи;
- 1.3. Особенности электронного строения атома кислорода и принципы образования активных форм кислорода.

Студент должен уметь:

- 1.4. Работать с полуавтоматическим биохимическим анализатором или спектрофотометром, интерпретировать полученные результаты.
- 1.5. Работать с микропипетками.

2. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИЗ СМЕЖНЫХ ДИСЦИПЛИН

- 2.1. Понятие об электродвижущей силе окислительно-восстановительных реакций (медицинская физика).
- 2.2. Электронное строение атома кислорода и его активных форм (неорганическая химия).
- 2.3. Сущность свободно-радикальных процессов (общая химия).

3. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

- 3.1. Структура и функции митохондрий. Строение и функции электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий.
- 3.2. Окислительное фосфорилирование: механизмы сопряжения, строением протонной АТФ-синтазы, коэффициент Р/О. Хемиосмотическая гипотеза П.

Митчелла, механизмы образования АТФ.

3.3. Разобщение окисления и фосфорилирования. Механизм действия и биологическое значение разобщителей и ингибиторов

3.4. Энергетический баланс одного оборота ЦТК: субстратное и окислительное фосфорилирование. Нарушения в процессах тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Митохондриальная патология. Примеры митохондриальных болезней.

3.5. Микросомальное окисление. Микросомальная дыхательная цепь: локализация, строение, биологическая роль. Сходство и отличие микросомальной и митохондриальной ДЦ.

3.6. Перекисное окисление. Особенности строения атома кислорода и механизмы образования его активных форм. Перекисное окисление в норме и при патологии.

3.7. Антиоксидантная защита (АОЗ): ферментная и неферментная. Окислительный стресс как результат нарушения баланса между реакциями перекисного окисления и системой АОЗ.

1. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ ЗАНЯТИЯ

Лабораторная работа №1 «Определение концентрации железа в плазме крови колориметрическим методом без депротеинизации» выполняются с использованием набора реагентов для определения концентрации железа в плазме крови согласно кафедральной инструкции.

2. ХОД ЗАНЯТИЯ

2.1. Введение.

2.2. Теоретическая часть занятия: рассматриваются контрольные вопросы, проводится устный опрос студентов.

5.3. Практическая часть занятия: лабораторная работа «Определение концентрации железа в плазме крови колориметрическим методом без депротеинизации» выполняется согласно инструкции, теоретическая часть с использованием рабочей тетради по биологической химии.

2.3. Контроль усвоения темы. Письменная работа включает следующие вопросы:

А). Знание схемы строения и принцип функционирования митохондриальной ДЦ.

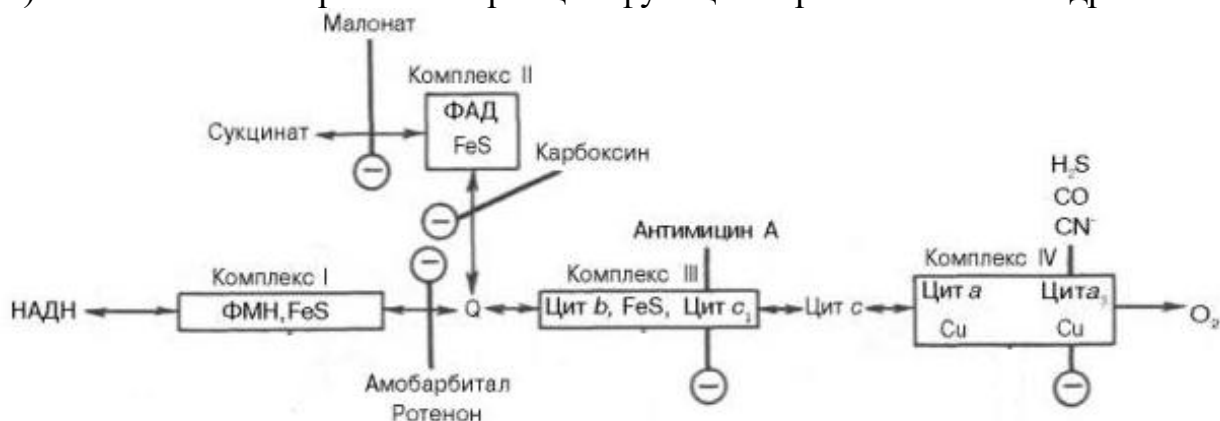


Рисунок 3 – Схема строения митохондриальной дыхательной цепи

Б). Знание схемы строения и принцип функционирования микросомальной ДЦ

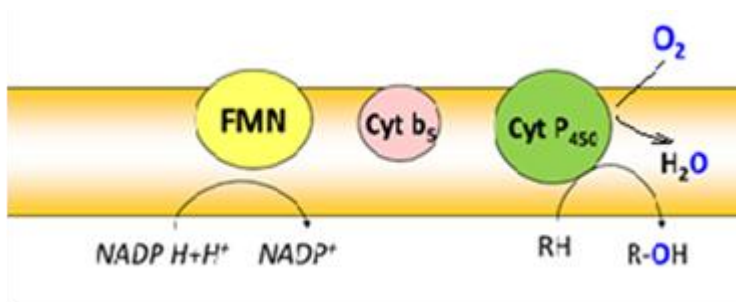
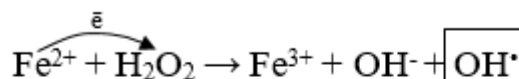


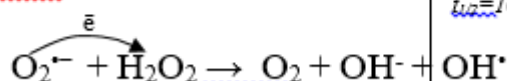
Рисунок 4 – Схема строения микросомальной дыхательной цепи

Б). Знание реакций Фентона и Хабера-Вейса

Реакция Фентона:



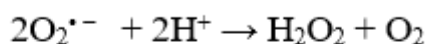
Реакция Хабера-Вейсса:



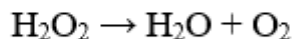
гидроксил
радикал
 $t_{1/2} = 10^{-9} \text{ c}$

Б). Знание ферментативной антиоксидантной защиты (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза).

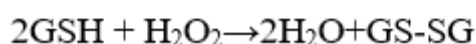
1. **СОД (супероксиддисмутаза)**



2. **Каталаза**



3. **Глутатионпероксидаза**



5.5 Заключительная часть занятия. Подведение итогов, проверка протоколов, объявление заданий к очередному занятию.

Контрольные вопросы по теме итогового занятия №1 по разделам «Введение в биохимию. Строение и функции белков», «Энзимология» и «Биологическое окисление» включает знание всех вопросов раздела.

3. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

Самоконтроль знаний по теме «Тканевое дыхание. Окислительное фосфорилирование. Микросомальное и перекисное окисление» осуществляется:

согласно изданию «Биологическая химия: Рабочая тетрадь» (в 2 ч., часть 1) / Громыко М. В. [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2024. – 93 с.

путём компьютерного тестирования с использованием платформы Moodle, режим доступа: <https://dl.gsmu.by/course/view.php?id=81>. – Дата доступа: 29.08.2025

Для подготовки к компьютерному тестированию нужно использовать учебно-методическое пособие «Сборник тестовых заданий по биологической химии : учеб.-метод. пособие для студентов 2 курса всех фак-тов учреждений высш. мед.

образования / И. А. Никитина [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2023. – 262 с.– Режим доступа: <https://elib.gsmu.by/handle/GomSMU/13804>– Дата доступа: 29.08.2025

4. ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия: учебник / под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – стр. 117-138. – Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970448816.html> – Дата доступа: 29.08.2025
2. Биологическая химия : учебник для студ. учрежд. высш. образ. по мед. спец. / под ред. А.Д. Тагановича ; [А.Д. Таганович, Э.И. Олецкий, Н.Ю. Коневалова, В.В. Лелевич]. – 2-е изд., испр. – Минск : Вышэйшая школа, 2016. – 670, [1] с. 24-36: ил., сх., табл. – Режим доступа: <http://rep.bsmu.by/handle/BSMU/2139> – Дата доступа: 29.08.2025
3. Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая) : Курс лекций / Е.Г. Зезеров. – М. : ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2014. – 456с.
4. Биологическая химия: учебник / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович; под ред. А.Д.Тагановича. – Минск: Асар, М.: Издательство БИНОМ, 2008. – 688 с. – Режим доступа: https://kingmed.info/knigi/Biohimia/book_1866/Biologicheskaya_himiya-Kuhta_VK_Morozkina_TS_Taganovich_AD-2008-pdf - Дата доступа: 29.08.2025
5. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 1 : Основы биохимии. Строение и катализ / Д. Нельсон, М. Кокс ; пер. с англ. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 448 с.
6. Основы медицинской биохимии : учеб.-метод. пособие / О. С. Логвинович [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2021. – 140 с. – Рек. УМО по высш. мед., фармацевт. образованию. – Режим доступа: <http://elib.gsmu.by/handle/GomSMU/9385>. – Дата доступа: 29.08.2025
7. Схемы и реакции основных метаболических путей : учеб.-метод. пособие для студентов учреждений высш. образования, обучающихся по специальностям 1-79 01 01 "Лечеб. дело", 1-79 01 04 "Мед.-диагност. дело" / М-во здравоохранения РБ, УО "ГомГМУ", Каф. общей, биоорганической и биологической химии ; А.И. Грицук [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2018. – 127 с. – Рек. УМО по высш. мед., фармацевт. образованию. Стр. 27-33. – Режим доступа: <http://elib.gsmu.by/handle/GomSMU/9190> – Дата доступа: 29.08.2025
8. Фармацевтическая биохимия : учеб. пособие / А.Д. Таганович, Е.А. Девина, Э.И. Олецкий ; под общ. ред. А.Д. Тагановича. – Минск : Новое знание, 2019. – 663с.
9. Самойлова, Н. А. Роль тиазиновых красителей в регуляции митохондриальных функций и их применение в медицине / Н. А. Самойлова, А. П. Гуреев, В. Н. Попов // The Scientific Heritage. – 2021. – № 80-3(80). – С. 16-19. – DOI 10.24412/9215-0365-2021-80-3-16-19. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47403722> – Дата доступа: 29.08.2025
10. Контаров, Н. А. Изучение влияния полиэлектролитов, обладающих противовирусным действием, на активность нейраминидазы вируса гриппа и процесс окислительного фосфорилирования в митохондриях клеток организма-хозяина / Н. А. Контаров, И. В. Погарская, Н. В. Юминова // Журнал микробиологии, эпидемиологии

и иммунобиологии. – 2019. – № 4. – С. 64-68. – DOI 10.36233/0372-9311-2019-4-64-68. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=40082982> – Дата доступа: 29.08.2025

11. Третий фактор инициации трансляции в митохондриях: структура, функции, взаимодействия и роль в здоровье и болезнях человека / И. В. Чичерин, М. В. Балева, С. А. Левицкий [и др.] // Биохимия. – 2019. – Т. 84. – № 10. – С. 1401-1409. – DOI 10.1134/S0320972519100038. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41032073> – Дата доступа: 29.08.2025

12. Тюнина, О. И. Изменение ферментативной активности митохондриальной сукцинатдегидрогеназы и цитохром с оксидазы после воздействия монооксида углерода на лимфоциты крови человека / О. И. Тюнина, В. Г. Артюхов, Е. В. Дорохов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. – № 3. – С. 106-111. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=36385781> – Дата доступа: 29.08.2025

13. Нарушение дыхательных комплексов в мозговых клетках и их коррекция синтетическим фрагментом RAGE на мышинной модели болезни Альцгеймера / Р. А. Симонян, А. Н. Самохин, О. М. Вольпина [и др.] // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2017. – Т. 2. – № 1. – С. 490-494. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30541416> – Дата доступа: 29.08.2025

14. Егоров, Е. Е. Здоровое старение: антиоксиданты, разобщители и/или теломераза? / Е. Е. Егоров // Молекулярная биология. – 2020. – Т. 54. – № 3. – С. 355-361. – DOI 10.31857/S0026898420030052. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42650856> – Дата доступа: 29.08.2025

15. Нефосфорилирующее окисление в митохондриях и сопряженные с ним процессы / Д. Б. Зоров, Н. В. Андрианова, В. А. Бабенко [и др.] // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 12. – С. 1849-1857. – DOI 10.31857/S032097252012009X. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44362907> – Дата доступа: 29.08.2025

16. Шевелев, О. Б. Влияние ингибитора гликолиза (2-ДГ) и разобщителя окисления и фосфорилирования (2,4-ДНФ) на метаболиты головного мозга / О. Б. Шевелев, М. П. Мошкин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – № 2. – С. 235-239. – DOI 10.18699/VJ18.353. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=32626184> – Дата доступа: 29.08.2025

17. Салтыкова, М. М. Основные физиологические механизмы адаптации человека к холоду / М. М. Салтыкова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017. – Т. 103. – № 2. – С. 138-151. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=28969039> – Дата доступа: 29.08.2025

18. Митохондриальная энцефаломиопатия, обусловленная недостаточностью пируватдегидрогеназного комплекса: восемь клинических случаев / Е. А. Николаева, С. Я. Волгина, Ч. Д. Халиуллина [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2021. – Т. 20. – № 1. – С. 81-86. – DOI 10.15690/vsp.v20i1.2239. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44784016> – Дата доступа: 29.08.2025

19. Коморбидная патология у пациентов с бронхиальной астмой: обзор литературы / Л. В. Трибунцева, А. В. Будневский, Ю. С. Иванчук [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2021. – Т. 9. – № 1. – С. 136-146. – DOI 10.23888/HMJ202191136-146. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44903970> – Дата доступа: 29.08.2025

20. Ромодин, Л. А. Дигидрокверцетин и тролокс как ингибиторы

липопероксидазной активности комплекса цитохрома с с кардиолипином / Л. А. Ромодин, Л. А. Владимиров // Вестник новых медицинских технологий. – 2021. – Т. 28. – № 1. – С. 69-71. – DOI 10.24412/1609-2163-2021-1-69-71. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44907612> – Дата доступа: 29.08.2025

21. Воробьева, О. В. Синдром усталости и когнитивные нарушения у пациентов с цереброваскулярной болезнью / О. В. Воробьева // Поведенческая неврология. – 2021. – № 1. – С. 36-43. – DOI 10.46393/2712-9675_2021_1_36-43. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45760975> – Дата доступа: 29.08.2025

22. Ульянова, О. В. Синдром MELAS: особенности диагностики, течения заболевания и лечения (клинический случай) / О. В. Ульянова, В. А. Куташов // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2021. – Т. 17. – № 1. – С. 155-159. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=45845525> – Дата доступа: 29.08.2025

23. Наследственные болезни обмена: аминокислородопатии, органические ацидемии, дефекты митохондриального β -окисления. Краткий обзор / О. В. Бугун, Н. Н. Мартынович, Г. П. Богонослова [и др.] // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2021. – Т. 6. – № 5. – С. 112-125. – DOI 10.29413/ABS.2021-6.5.11. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47218419> – Дата доступа: 29.08.2025

24. Мухаммаднабиева, Ф. А. Особенности дисбаланса митохондриальных ферментов лимфоцитов при болезни Шенлейна-Геноха у детей / Ф. А. Мухаммаднабиева, Н. Н. Ходжаева, С. Н. Давлатова // Медицинский вестник Национальной академии наук Таджикистана. – 2021. – Т. 11. – № 3(39). – С. 61-66. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47271368> – Дата доступа: 29.08.2025

25. Антиоксидантное действие природных полифенолов на митохондрии печени крыс с токсическим гепатитом / Д. И. Дергачева, О. И. Кляйн, А. А. Мариничев [и др.] // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37. – № 3. – С. 197-207. – DOI 10.31857/S0233475520020036. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42652061> – Дата доступа: 29.08.2025

26. Митохондрии: старение, метаболический синдром и сердечно-сосудистая патология. Становление новой парадигмы / А. В. Панов, С. И. Дикалов, М. А. Даренская [и др.] // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2020. – Т. 5. – № 4. – С. 33-44. – DOI 10.29413/ABS.2020-5.4.5. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43873683> – Дата доступа: 29.08.2025

27. Происхождение митохондрий и их роль в эволюции жизни и здоровья человека / А. В. Панов, М. В. Голубенко, М. А. Даренская, С. И. Колесников // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2020. – Т. 5. – № 5. – С. 12-25. – DOI 10.29413/ABS.2020-5.5.2. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44164269> – Дата доступа: 29.08.2025

28. Свеклина, Т. А. Роль митохондриального генома в развитии сердечно-сосудистой патологии / Т. А. Свеклина, С. Н. Колубаева, Р. А. Гаршин // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39. – № S3-1. – С. 53-62. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44356890> – Дата доступа: 29.08.2025

29. Лямзаев, К. Г. Митоптоз, Двадцать лет спустя / К. Г. Лямзаев, Д. А. Кнорре, Б. В. Черняк // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 12. – С. 1750-1765. – DOI 10.31857/S0320972520120027. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44362900> – Дата доступа: 29.08.2025

30. Чалова, Л. Р. Митохондриальная заместительная терапия: будущее?

Настоящее? / Л. Р. Чалова, В. Н. Локшин // Репродуктивная медицина. – 2020. – № 2(43). – С. 7-12. – DOI 10.37800/RM2020-1-9. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44406703> – Дата доступа: 29.08.2025

31. Местное применение митохондриальных антиоксидантов в комплексном лечении пациентов с одонтогенными гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области. Клинические случаи / А. М. Сипкин, О. Е. Благих, И. А. Давыдов [и др.] // Клиническая стоматология. – 2019. – № 1(89). – С. 71-75. – DOI 10.37988/1811-153X_2019_1_71. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37128733> – Дата доступа: 29.08.2025

32. Коротков, С. М. Влияние таллия на спонтанное сокращение сердечной мышцы и на энергетические процессы в митохондриях кардиомиоцитов / С. М. Коротков, В. П. Нестеров, К. В. Соболев // Биофизика. – 2019. – Т. 64. – № 5. – С. 963-97. – DOI 10.1134/S0006302919050181. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=39217965> – Дата доступа: 29.08.2025

33. Сиротина, З. В. Синдром нарушенной адаптации новорожденных. Митохондриальные нарушения и специфика заболеваний у детей (клиническая лекция) / З. В. Сиротина, В. В. Филиппова // Здравоохранение Дальнего Востока. – 2019. – № 2(80). – С. 58-66. – DOI 10.33454/1728-1261-2019-2-58-66. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=39243290> – Дата доступа: 29.08.2025

34. Котов, С. В. Митохондриальные нарушения при нервно-мышечной патологии / С. В. Котов, О. П. Сидорова, Е. В. Бородатая // Нервно-мышечные болезни. – 2019. – Т. 9. – № 3. – С. 22-31. – DOI 10.17650/2222-8721-2019-9-3-22-31. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41331825> – Дата доступа: 29.08.2025

35. Полиморфизм митохондриальной ДНК у умерших внезапной сердечной смертью / М. В. Голубенко, А. В. Цепочкина, Р. Р. Салахов [и др.] // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2019. – Т. 4. – № 4. – С. 64-69. – DOI 10.23946/2500-0764-2019-4-4-64-69. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43039331> – Дата доступа: 29.08.2025

36. Иванова, И. И. Клинические проявления нарушений клеточного энергообмена при соматических заболеваниях у детей / И. И. Иванова, С. Ф. Гнусаев, А. А. Ильина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018. – Т. 63. – № 2. – С. 27-33. – DOI 10.21508/1027-4065-2018-63-2-27-33. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=32844974> – Дата доступа: 29.08.2025

37. YouTube-канал «Рисуем Биохимию» Золотая схема БО. – Режим доступа: <https://www.youtube.com/watch?v=WxHKJf0pUVc&list=PLffmkE1fkqBPyPX9hbJtDLY60wDHFdbMb&index=1&t=7s> – Дата доступа: 29.08.2025

38. YouTube-канал «Рисуем Биохимию» Дыхательная цепь митохондрий. Строение. – Режим доступа: <https://www.youtube.com/watch?v=dY437pmb8zA&list=PLffmkE1fkqBPyPX9hbJtDLY60wDHFdbMb&index=2> – Дата доступа: 29.08.2025

39. YouTube-канал «Рисуем Биохимию» Дыхательная цепь митохондрий. Яды и блоки. – Режим доступа: <https://www.youtube.com/watch?v=NkOncxYj2LQ&list=PLffmkE1fkqBPyPX9hbJtDLY60wDHFdbMb&index=3> – Дата доступа: 29.08.2025

40. YouTube-канал «Рисуем Биохимию» Гипотеза Митчела. Как работает ДХ МХ. – Режим доступа:

<https://www.youtube.com/watch?v=cljPRnLVZ04&list=PLffmkE1fkqBPyPX9hbJtDLY60wDHFdbMb&index=4> – Дата доступа: 29.08.2025

41. YouTube-канал «Рисуем Биохимию» Гипотеза Митчела. Разобщители. –
Режим доступа: <https://www.youtube.com/watch?v=-1smePr8VhU&list=PLffmkE1fkqBPyPX9hbJtDLY60wDHFdbMb&index=5> – Дата
доступа: 29.08.2025