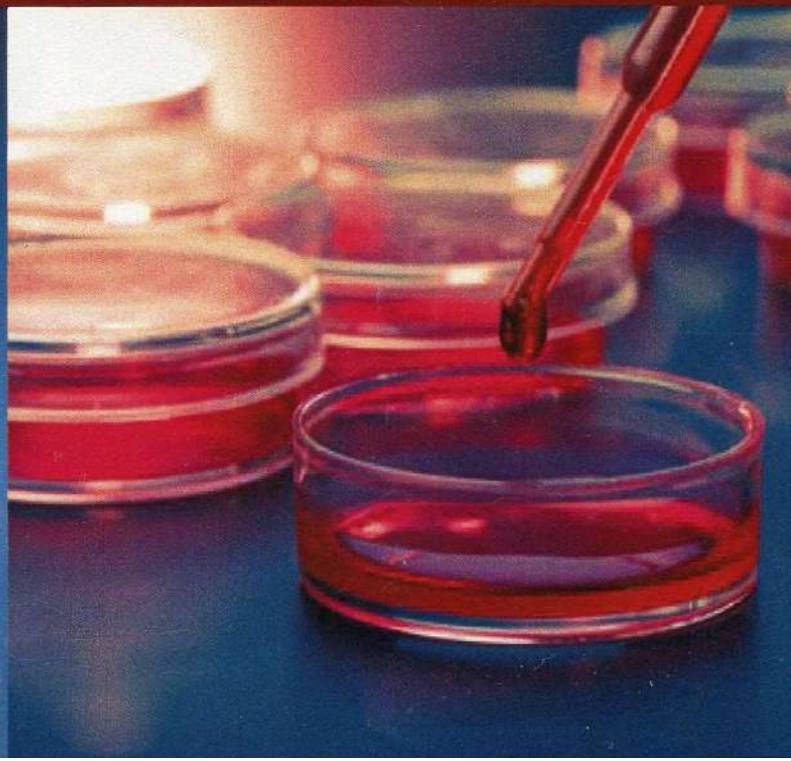




СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



# ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО И ПЕДИАТРИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТОВ



Государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«Сибирский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

# **ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ**

Издание 2-е дополненное и исправленное

Учебное пособие

Томск  
Издательство СибГМУ  
2016

УДК 577.1:615.01(075.8)  
ББК Е072Я7+Р282Я7  
Л125

#### **Авторы**

**Носарева О.Л., Степовая Е.А., Федорова Т.С., Тимин О.А., Шахристова Е. В., Спирина Л. В., Серебров В. Ю.**

Л 125 Лабораторный практикум по биохимии : учебное пособие / О. Л. Носарева и [др]. – 2-е изд., доп. и испр. – Томск : Издательство СибГМУ, 2016. – 201 с.

Пособие подготовлено по дисциплине «Биохимия» в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования для студентов, обучающихся по основным профессионально-образовательным программам – программам специалитета: «Лечебное дело» и «Педиатрия».

В каждом разделе приведены лабораторные работы, выполняемые студентами на практических занятиях. Ряд изучаемых методов используется в клинико-диагностических лабораториях для помощи лечащему врачу в постановке диагноза и для контроля эффективности лечения. По каждому разделу студенту предлагаются вопросы для самоподготовки к практическому занятию, тестовые задания и ситуационные задачи для проверки полученных знаний. Пособие способствует формированию профессиональных компетенций, а именно выявлению у пациента основных патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм.

УДК 577.1:615.01(075.8)  
ББК Е072Я7+Р282Я7

**Рецензент: Акбашева О. Е.** – профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики Сибирского государственного медицинского университета, д-р мед. наук, доцент.

*Учебное пособие утверждено и рекомендовано к печати: Центральным методическим советом ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 2 марта 2016 г.).*

© Издательство СибГМУ, 2016  
© Носарева О. Л., Степовая Е. А., Федорова Т. С.,  
Тимин О. А., Шахристова Е. В., Спирина Л. В.,  
Серебров В. Ю., 2016

## ВВЕДЕНИЕ

"Биохимия" – наука, изучающая химический состав и структуру веществ, содержащихся в живых организмах, пути и способы регуляции их метаболизма, а также энергетическое обеспечение процессов, происходящих в клетке и организме в целом. Эта наука относится к числу фундаментальных наук, знание которых необходимо врачу любой специальности.

Учебное пособие имеет разделы, которые полностью отражают программу специалитета: "Лечебное дело" и "Педиатрия". Предлагаемые вопросы для самоподготовки помогут студенту успешно подготовиться к каждому практическому занятию. Для более глубокого изучения учебного материала каждый раздел содержит контрольные вопросы. Важным условием при проведении лабораторных работ является обязательное соблюдение техники безопасности, оформление конспекта лабораторной работы, детальное обсуждение полученных результатов и их клинико-диагностического значения.

Материал настоящего учебного пособия подбирался исходя из конкретных задач, стоящих перед врачом общей практики, а именно способностью к определению биохимических показателей, характеризующих симптомы основных патологических состояний, синдромов заболеваний и их нозологических форм, которые необходимы для оценки состояния метаболизма в норме и при патологии.

Учебное пособие содержит лабораторные работы для обнаружения и количественного определения белков, витаминов, ферментов, гормонов и биохимических показателей, характеризующих некоторые параметры кислотно-основного состояния, углеводного, липидного, белкового обмена в биологических жидкостях человека. Работы подобраны с учетом доступности исследуемого материала, реактивов и оборудования, возможности выполнения в отведенное для занятий время и использования методов анализа для различных биологических объектов.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

dATФ	– дезоксиаденозинтрифосфат
dTMФ	– дезокситимидинмонофосфат
dUMФ	– дезоксиуридинмонофосфат
Na <sup>+</sup>	– катионы натрия
H <sup>+</sup>	– ионы водорода, протоны
АДФ	– аденозиндифосфат
АКТГ	– адренокортикотропный гормон
АлАТ	– аланинаминотрансфераза
АМФ	– аденозинмонофосфат
АсАТ	– аспартатаминотрансфераза
АТФ	– аденозинтрифосфат
АХАТ	– ацил-SКоА:холестерол-ацилтрансфераза
ГМФ	– гуанозинмонофосфат
ГТФ	– гуанозинтрифосфат
ДАГ	– диацилглицерол
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
ИМФ	– инозинмонофосфат
ИФ <sub>3</sub>	– инозитолтрифосфат
конц.	– концентрированный
КОС	– кислотно-основное состояние
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	– липопротеины очень низкой плотности
ЛХАТ	– лецитин:холестеролацилтрансфераза
МАО	– моноаминоксидаза
мРНК	– матричная рибонуклеиновая кислота
НАД <sup>+</sup>	– никотинамидадениндинуклеотид окисленный
НАДН	– никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
НАДФ <sup>+</sup>	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат окисленный
НАДФН	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный
ОМФ	– оротидинмонофосфат
ПФ	– пиридоксальфосфат
ПФП	– пентозофосфатный путь
P/O	– коэффициент фосфорилирования
РНК	– рибонуклеиновая кислота
р-р	– раствор
рРНК	– рибосомальная рибонуклеиновая кислота
РЭС	– ретикулоэндотелиальная система
ТАГ	– триацилглицерол
ТГФК	– тетрагидрофолиевая кислота
ТДФ	– тиаминдифосфат
ТМБ	– тетраметилбензидин

тРНК	– транспортная рибонуклеиновая кислота
ТХУ	– трихлоруксусная кислота
УДФ	– уридиндифосфат
УДФГК	– уридиндифосфатглюкуроновая кислота
УМФ	– уридинмонофосфат
УТФ	– уридинтрифосфат
ФАД	– флавинадениндинуклеотид окисленный
ФАДН <sub>2</sub>	– флавинадениндинуклеотид восстановленный
ФАФС	– 3-фосфоаденозин-5-фосфосерная кислота
ФМН	– флавинмононуклеотид
ФЭК	– фотоэлектроколориметр
цАМФ	– циклический аденозин-3',5'-монофосфат
цГМФ	– циклический гуанозин-3',5'-монофосфат
ЦТК	– цикл трикарбоновых кислот
ЦТФ	– цитидинтрифосфат

# РАЗДЕЛ 1

## СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

### ТЕМА 1.1. СТРОЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ. СТРУКТУРА БЕЛКОВ

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

Аминокислоты являются материалом для строительства белков – пластического материала клеток живого организма. Особенности аминокислотного состава обусловлены огромным разнообразием структуры и функций белковых молекул, благодаря чему белкам принадлежит ведущая роль во всех процессах жизнедеятельности. Аминокислоты участвуют в образовании биогенных аминов, азотистых оснований и мононуклеотидов, нейромедиаторов и т.д. Ряд из них используются в качестве лекарств.

#### *ЦЕЛЬ*

Знакомство со строением, физико-химическими свойствами и классификацией аминокислот, входящих в состав белков организма человека.

Приобретение практических навыков по проведению качественного анализа биологических жидкостей на присутствие аминокислот, пептидов и белков при помощи цветных реакций.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Принципы классификации аминокислот.
2. Классы аминокислот:
  - по биологической роли (заменимые и незаменимые);
  - по физико-химическим свойствам (нейтральные, кислые, основные; гидрофобные, гидрофильные);
  - по химическому строению (с алифатическими радикалами, с дополнительной функциональной группой, с ароматическим и гетероциклическим радикалами, иминокислоты);
  - по растворимости в воде (неполярные, полярные незаряженные, полярные отрицательно и положительно заряженные).
3. Структурные формулы протеиногенных аминокислот.
4. Физико-химические свойства аминокислот, роль их функциональных групп.
5. Изоэлектрическая точка аминокислот и пептидов. От чего она зависит?
6. Влияние изменения pH на заряд аминокислот.
7. Пептидная связь, реакция образования. Свойства пептидной связи.
8. Влияние изменения pH на заряд и растворимость пептидов.

9. Цветные качественные реакции на аминокислоты и белки. Принцип методов. Практическое применение реакций.

### Лабораторная работа **ЦВЕТНЫЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛОК И АМИНОКИСЛОТЫ**

#### *Реактивы*

1) 1 % р-р яичного белка, 2) 0,5 % р-р нингидрина, 3) 30 % р-р NaOH, 4) 10 % р-р NaOH, 5) 5 % р-р  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , 6) 5 % р-р нитропруссид натрия, 7) конц.  $\text{HNO}_3$ , 8) 5 % р-р  $\text{CuSO}_4$ .

#### *Материал исследования*

При изучении цветных реакций в качестве объекта исследования используют 1 % водный раствор яичного белка, содержащего полный набор аминокислот.

#### **РЕАКЦИЯ НА ПЕПТИДНУЮ СВЯЗЬ**

Для обнаружения пептидной связи в белках и пептидах используется универсальная **биуретовая реакция**. Биуретовую реакцию дают вещества, содержащие не менее двух пептидных группировок.

#### *Принцип*

Пептидная группа образует в щелочной среде с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  комплексное соединение фиолетового цвета с красным или синим оттенком в зависимости от числа пептидных связей. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству пептидных групп.

#### *Проведение анализа*

В пробирку с 5 каплями 1 % раствора белка вносят 3 капли 10 % раствора NaOH и 1 каплю 5 % раствора  $\text{CuSO}_4$ .

#### **РЕАКЦИЯ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ $\alpha$ -АМИНОГРУПП**

Для обнаружения  $\alpha$ -аминогрупп, содержащихся в аминокислотах, и концевых  $\alpha$ -аминогрупп пептидов и белков используется **нингидриновая реакция**.

#### *Принцип*

При нагревании аминокислот и пептидов с нингидрином происходят окислительное отщепление  $\alpha$ -аминогрупп и восстановление нингидрина. Восстановленный нингидрин реагирует с аммиаком и другой молекулой окисленного нингидрина с образованием комплекса сине-фиолетового цвета.

#### *Проведение анализа*

5 капель раствора белка смешивают с 5 каплями 0,5 % раствора нингидрина. Пробирки нагревают и кипятят до появления сине-фиолетового окрашивания.

#### **РЕАКЦИЯ НА АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ**

Для обнаружения ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан) используется **ксантопротеиновая реакция**.

### *Принцип*

Ароматическое кольцо при взаимодействии с концентрированной азотной кислотой образует динитросоединение желтого цвета.

### *Проведение анализа*

К 5 каплям 1 % раствора белка добавляют 2 капли конц.  $\text{HNO}_3$  и осторожно нагревают. Наблюдают за появлением желтого окрашивания, при отсутствии желтого цвета еще добавляют 1—2 капли конц.  $\text{HNO}_3$ . При добавлении избытка 30 % раствора  $\text{NaOH}$  окраска переходит в оранжевую.

## **РЕАКЦИИ НА СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ**

### *Принцип*

Сульфгидрильные группы в белке или пептиде подвергаются щелочному гидролизу, в результате чего происходит отщепление серы в виде сульфида натрия  $\text{Na}_2\text{S}$ , который вступает в дальнейшие реакции:

- **реакция Фоля** –  $\text{Na}_2\text{S}$  с ацетатом свинца  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  дает черный или бурый осадок сульфида свинца;
- **реакция с нитропруссидом** –  $\text{Na}_2\text{S}$  дает с нитропруссидом натрия соединение, окрашенное в красно-коричневый цвет.

### *Проведение анализа*

5 капель 1 % раствора белка и 5 капель 30 % раствора  $\text{NaOH}$  кипятить 1-2 минуты. Разделить содержимое на 2 части для реакций «а» и «б».

#### **а) Реакция Фоля**

К 5 каплям гидролизата добавляют 1 каплю раствора уксусно-кислого свинца и нагревают до кипения. Отмечают появление бурого или черного осадка.

#### **б) Реакция с нитропруссидом**

К 5 каплям гидролизата добавляют 2—3 капли раствора 5 % натрия нитропруссида. Отмечают появление красно-коричневого окрашивания.

### *Практическое значение цветных реакций*

Цветные реакции, являясь универсальными (биуретовая, нингидриновая) и специфическими (реакция Фоля, ксантопротеиновая), позволяют установить белковую природу вещества, обнаружить белок и аминокислоты в растворе, изучить состав белков и пептидов.

Принцип этих реакций используется для количественного определения аминокислот и белков в биологических жидкостях.

### *Оформление работы*

Результаты оформляют в виде таблицы, где отмечают полученный цвет раствора и интенсивность окраски. Интенсивность окраски обозначают следующим образом: “—” – отсутствие окраски; “+” – слабая окраска; “++” – сильная окраска; “+++” – очень сильная окраска.

Объект исследования	Реакции				
	Биуретовая	Нингидриновая	Ксантопротеиновая	Фоля	С нитропруссидом
Раствор яичного белка					

В выводах указывается на возможность обнаружения пептидных связей и некоторых типов аминокислот при помощи используемых реакций.

## ТЕМА 1.2. СТРУКТУРА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Выделение белков из раствора (в том числе высаливание и денатурация) широко используется в медицине для диагностических целей, получения и очистки белковых лекарственных препаратов, в экспериментальных исследованиях.

### ЦЕЛЬ

Изучить физико-химические свойства белков (молекулярная масса, форма, ионизация, гидратация, растворимость) и основные типы структур белковых молекул.

Научиться осажждать белки из раствора разными методами и использовать способность к осаждению белков в лабораторной практике.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Строение протеиногенных аминокислот. Образование пептидной связи в пептидах и белках.
2. Уровни организации структуры белковых молекул (первичная, вторичная, третичная, четвертичная).
3. Связи, участвующие в формировании уровней структуры белка. Функциональные группы аминокислот, ответственные за образование этих связей.
4. Четвертичная структура белков. Что такое комплементарность протомеров? В чем заключаются кооперативные изменения конформации протомеров?
5. Свойства белков: амфотерность, ионизация (заряд), гидратация, растворимость. Что такое изоэлектрическая точка?
6. Молекулярная масса пептидов и белков. Способы ее определения (ультрацентрифугирование, гель-фильтрация).
7. Свойства белковых растворов. Факторы, стабилизирующие белковую молекулу в растворе. Коллоидные свойства белков.
8. Денатурация белков. Факторы, вызывающие денатурацию белков (физические, химические, биологические). Свойства денатурированного белка.

9. Ренативация белка, ее механизмы.
10. Способы удаления белков из раствора: осаждение кислотами, тяжелыми металлами, органическими растворителями. Принцип реакций осаждения белка.
11. Способы очистки белковых растворов от примесей (высаливание, гель-фильтрация, диализ). Принцип методов.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Хроматография белков, ее виды, практическое применение.
2. Первая медицинская и первая врачебная помощь при отравлении органическими и неорганическими кислотами, солями тяжелых металлов. Биохимические основы.
3. Использование диализа и плазмафереза в клинической практике: принцип методов, эффективность и область применения.

### **Лабораторная работа 1**

#### **ВЫСАЛИВАНИЕ БЕЛКОВ**

Высаливание – процесс осаждения белка солями щелочных, щелочно-земельных металлов и нейтральными солями. Процесс обратим, так как сохраняет нативные свойства белков.

#### ***Реактивы***

1) Насыщенный р-р сульфата аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2) кристаллический сульфат аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 3) 10 % р-р NaOH, 4) 1 % р-р  $\text{CuSO}_4$ .

#### ***Материал исследования***

Сыворотка крови.

#### ***Принцип***

Под действием нейтральных солей, солей щелочных и щелочно-земельных металлов происходят нейтрализация заряда белковых частиц и их дегидратация. Благодаря этому, используя разные концентрации солей, можно разделить белки сыворотки крови на фракции, т. е. осадить одни белки, сохраняя другие в растворенном состоянии. При растворении осажденного белка в воде происходит восстановление его исходных физико-химических и биологических свойств.

#### ***Проведение анализа***

К 2 мл сыворотки крови добавляют 2 мл насыщенного раствора  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , при этом получается полунасыщенный раствор. Перемешивают и отмечают выпадение осадка глобулинов.

Через 5 минут осадок отделяют центрифугированием или фильтрованием. Надосадочную жидкость (фильтрат) отделяют. Наличие белка в осадке (на фильтре) доказывают биуретовой реакцией (см. Тема 1. 1.).

Из надосадка (фильтрата) берут 10 капель и проводят биуретовую реакцию, доказывая наличие белка в растворе. К оставшейся части надосадка добавляют порошок сульфата аммония до полного насыщения, при этом выпадает осадок альбуминов.

### *Клинико-диагностическое значение*

Метод высаливания ранее использовали в лабораторной практике для разделения альбуминов и глобулинов, определения их соотношения в сыворотке крови. В норме отношение альбумины/глобулины в сыворотке крови человека колеблется в пределах 1,2-1,8 и при патологии может изменяться в сторону повышения или снижения. Например, при воспалительных заболеваниях увеличивается содержание глобулинов.

### *Оформление работы*

Отмечают принцип метода, ход работы, регистрируют результаты анализа и делают вывод о возможности разделения альбуминов и глобулинов данным методом.

## Лабораторная работа 2

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕНАТУРАЦИИ БЕЛКОВ**

Денатурация белков – это изменение структурной организации белковой молекулы (четвертичной, третичной и вторичной структуры), приводящее к изменению физико-химических и биологических свойств белка. Денатурирующие факторы делятся на химические (кислоты, тяжелые металлы), физические (ультразвук, высокая и низкая температуры).

### *Реактивы*

1) ацетон, 2) 10 % р-р ТХУ, 3) конц.  $\text{HNO}_3$ , 4) 1 % р-р  $\text{CuSO}_4$ , 5) конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 6) 5 % р-р  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , 7) танин, 8) 20 % р-р сульфосалициловой кислоты.

### *Материал исследования*

Яичный белок, 1 % водный раствор.

### *Принцип*

Денатурация снижает заряд и гидратную оболочку белков, соответственно, гидрофильность и устойчивость их в растворе.

### *Исследование химической денатурации*

### *Проведение анализа*

В ряд пронумерованных пробирок вносят по 5 капель 1 % раствора яичного белка и добавляют реактивы, пользуясь указаниями таблицы.

N проб	Используемые реактивы	Число капель	Механизм и особенности реакции	Результат
<b>Денатурация солями тяжелых металлов</b>				
1 2	Меди сульфат Свинца ацетат	2 2	Ионы металлов связываются с заряженными группами аминокислот, в результате чего изменяется пространственная структура белка	
<b>Денатурация концентрированными минеральными кислотами</b>				
3 4	Азотная Серная	2 2	Концентрированные кислоты вызывают дегидратацию белков, нейтрализуют заряд белка, связываясь с катионными группами	
5 6	Азотная Серная	10 10	Исчезновение осадка белка при добавлении избытка серной кислоты обусловлено перезарядкой ионных групп	

Денатурация органическими кислотами				
7	Трихлоруксусная	2	Кислоты нейтрализуют заряд белка, разрушают систему водородных связей и образуют комплексы с белком	
8	Сульфосалициловая	2		
Денатурация дубильными веществами				
9	Танин	2	Образуются нерастворимые солеобразные соединения с аминогруппами основных аминокислот	
Денатурация органическими растворителями				
10	Ацетон	5	Нарушаются гидрофобные взаимодействия внутри белковой молекулы	

Знаками «+» и «–» отмечают результаты наблюдения. Интенсивность денатурации указывают числом знаков «+».

Необратимость или обратимость осаждения белка устанавливают добавлением к осадку 20—30 капель дистиллированной воды.

#### *Практическое значение*

Реакции химической денатурации используют для осаждения белка в биологическом материале с целью дальнейшего определения в фильтрате низкомолекулярных веществ, для выявления присутствия белка в различных физиологических жидкостях и количественного анализа.

В лечебной деятельности их используют при лечении и для профилактики отравлений солями тяжелых металлов в быту и на производстве; для обезвреживания отходов в санитарной практике; для дезинфекции кожи и слизистых.

#### *Оформление работы*

Отмечают принцип метода, ход работы, регистрируют механизм осаждения и результаты анализа в таблице. Делают вывод о наиболее эффективном способе осаждения белков.

## **ТЕМА 1.3. КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ. СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Пептиды и белки выполняют разнообразные специфические функции в организме: структурная, транспортная, гормональная, ферментативная и др.

Изменение в строении белков может лежать в основе развития патологических процессов (серповидно-клеточная анемия, талассемии). В то же время многие заболевания влекут за собой сдвиги содержания и соотношения белков, в частности в плазме крови, что позволяет использовать их для диагностики.

Реакции открытия белка и простетической группы позволяют понять состав и строение сложных белков, а также использовать эти данные для количественного определения белков.

### **ЦЕЛЬ**

Изучить структуру сложных белков: фосфопротеинов, нуклеопротеинов, гликопротеинов, хромопротеинов (гемо- и флавопротеинов), металлопротеинов, липопротеинов.

Научиться выделять сложные белки из различных объектов и проводить качественные реакции на компоненты сложных белков.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Структурные формулы протеиногенных аминокислот.
2. Классификация белков по функциональным признакам (защитные, структурные, транспортные, сократительные, гормональные, ферментативные). Примеры белков каждого класса.
3. Классы белков в зависимости от их строения: простые и сложные, мономеры и полимеры, глобулярные и фибриллярные. Примеры белков каждого класса.
4. Характеристика простых белков (альбумины, глобулины, гистоны, протамины). Отметьте особенности их строения и функции.
5. Характеристика и особенности строения классов сложных белков:
  - **Нуклеопротеины.** Общая структура и свойства ДНК и РНК. Каковы отличия ДНК и РНК? Строение нуклеотидов на примере АМФ, АДФ, АТФ, цАМФ. Типы гистонов, их роль в образовании нуклеосом и укладке ДНК.
  - **Хромопротеины** (гемопротеины, флавопротеины, ретинальпротеины). Понятие о химической структуре, их основные представители и функции. Представление о строении молекулы гемоглобина. Структура гема.
  - **Гликопротеины**, структура, функции в организме. Представление о строении углеводной части. Протеогликаны, структура, функции в организме. Химическая структура гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфатов.
  - **Липопротеины.** Структура липопротеиновой частицы. Основные транспортные формы липидов плазмы – хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП). Их функции.
  - **Металлопротеины**, представление о строении. Основные представители. Что такое металлоферменты? Их примеры.
  - **Фосфопротеины.** Каким образом присоединяется фосфатная группа к белку? Основные представители.

6. Анализ химического состава сложных белков – гликопротеинов и фосфопротеинов. Принцип методов.

### ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ

1. Структурные белки организма: кератин, коллаген, эластин. Особенности строения. Функции.
2. Сократительные белки мышечной ткани: актин и миозин. Особенности строения. Функция.

### Лабораторная работа 1

#### **ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ФОСФОПРОТЕИНОВ И ГЛИКОПРОТЕИНОВ**

Качественные реакции на небелковые компоненты используют для обнаружения сложных белков в различных объектах.

##### *Реактивы*

1) 1 % р-р тимола в этиловом спирте, 2) 10 % р-р NaOH, 3) молибденовый реактив, 4) конц.  $H_2SO_4$ , 5) 1 % р-р  $CuSO_4$ , 6) 10 % р-р  $CH_3COOH$ , 7) 10 % р-р трихлоруксусной кислоты (ТХУ).

##### *Анализ химического состава фосфопротеинов*

##### *Материал исследования*

Молоко.

##### *Проведение анализа*

Берут 2 пробирки, наливают по 1,0 мл молока и приливают равный объем дистиллированной воды, перемешивают. Далее проводят молибденовую и биуретовую пробы.

<b>Молибденовая проба на фосфорную кислоту</b>	<i>Принцип.</i> Присутствующая в осадке фосфорная кислота, взаимодействуя с молибденово-кислым аммонием в азотной кислоте, образует окрашенное в лимонно-желтый цвет комплексное соединение аммония фосфомолибдата. <i>Проведение реакции.</i> Половину осадка снимают палочкой с фильтра в пробирку. Для выявления фосфора добавляют 20 капель молибденового реактива. Фосфомолибдат аммония выпадает в осадок
<b>Биуретовая реакция</b>	<i>Принцип.</i> В щелочной среде образуется комплексное соединение с развитием розово-фиолетового или сине-фиолетового окрашивания. <i>Проведение реакции.</i> К оставшейся на фильтре части осадка добавляют 10 капель 10 % р-ра NaOH и 1 каплю 1 % р-ра $CuSO_4$

##### *Анализ химического состава гликопротеинов*

##### *Материал исследования*

Слюна, собранная после ополаскивания рта водой.

##### *Проведение анализа*

В 2 пробирки собирают по 1 мл слюны, по каплям приливают 10 % р-р ТХУ до появления сгустка муцина.

<b>Реакция Молиша на углеводные группы</b>	<p><i>Принцип.</i> После дегидратации пентоз серной кислотой образуется гидроксиметилфурфурол. При конденсации тимола с гидроксиметилфурфуролом развивается красное окрашивание, которое проявляется в виде розового кольца в пробирке.</p> <p><i>Проведение реакции.</i> Из 1-й пробирки жидкость сливают и к сгустку добавляют 2—3 капли р-ра тимола. Перемешивают и осторожно по стенке добавляют конц. <math>H_2SO_4</math>.</p>
<b>Биуретовая реакция</b>	<p><i>Принцип.</i> В щелочной среде образуется комплексное соединение с развитием розово-фиолетового или сине-фиолетового окрашивания.</p> <p><i>Проведение реакции.</i> В другую пробирку предварительно добавляют 10 капель 10 % р-ра NaOH для нейтрализации кислоты. Затем добавляют еще 10 капель 10 % р-ра NaOH и 1 каплю 1 % р-ра <math>CuSO_4</math>.</p>

### Оформление работы

Отмечается ход работы, результаты заносятся в таблицу. Делается вывод о наличии в составе сложных белков обнаруживаемого компонента.

Объект исп-я	Сложные белки	Выявляемый компонент	Окрашивание	Вывод о присутствии
Слюна	Гликопротеины	Белок		
		Углеводы		
Молоко	Фосфопротеины	Белок		
		Фосфорная кислота		

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

### 1. НЕЗАМЕНИМОЙ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ЯВЛЯЕТСЯ АМИНОКИСЛОТА

- 1) глицин
- 2) валин
- 3) тирозин
- 4) серин

### 2. ПРИ РН 7,4 ПОЛОЖИТЕЛЬНО ЗАРЯЖЕНА АМИНОКИСЛОТА

- 1) пролин
- 2) оксипролин
- 3) аргинин
- 4) аспартат

### 3. ПРОСТЫМ БЕЛКОМ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) гемоглобин
- 2) соматотропин
- 3) альбумин
- 4) церулоплазмин

### 4. АЛЬФА-СПИРАЛИ СТАБИЛИЗИРУЮТСЯ В ПРОСТРАНСТВЕ

- 1) дисульфидными мостиками

- 2) гидрофобными взаимодействиями
  - 3) кооперативным эффектом
  - 4) пептидными связями
  - 5) водородными связями
5. ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВ СТАБИЛИЗИРУЕТСЯ В ПРОСТРАНСТВЕ
- 1) электростатическими взаимодействиями радикалов аминокислот
  - 2) водородными связями
  - 3) гидрофобными взаимодействиями
  - 4) дисульфидными мостами
  - 5) взаимодействием в простетических группах
6. ЦЕНТР УЗНАВАНИЯ БЕЛКА ЛИГАНДОМ ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ
- 1) место связывания белка и небелкового кофактора
  - 2) «нишу» на поверхности белковой молекулы
  - 3) гидрофильный фрагмент пептидного остова
  - 4) участок белковой цепи, комплементарный лиганду
7. В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ ПРИ РН 6,8 ПЕПТИД АСП-ЛЕЙ-ГЛУ-ГЛИ БУДЕТ
- 1) двигаться к аноду
  - 2) оставаться на месте
  - 3) двигаться к катоду
8. ЦЕНТР СВЯЗЫВАНИЯ С ЛИГАНДОМ ФОРМИРУЕТСЯ НА УРОВНЕ
- 1) первичной структуры
  - 2) третичной структуры
  - 3) вторичной структуры
  - 4) четвертичной структуры
9. В АППАРАТЕ «ИСКУССТВЕННАЯ ПОЧКА» ИСПОЛЬЗОВАНО ТАКОЕ СВОЙСТВО БЕЛКОВ, КАК
- 1) неспособность проникать через полупроницаемые мембраны (диализ)
  - 2) способность связывать полярные молекулы
  - 3) создание онкотического давления
  - 4) низкая скорость диффузии
10. КООПЕРАТИВНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ НА УРОВНЕ
- 1) первичной структуры
  - 2) третичной структуры
  - 3) вторичной структуры

#### 4) четвертичной структуры

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. При частичном гидролизе инсулина (В-цепь) обнаружен тетрапептид Глу–Глу–Ала–Лей.

*Указать направление движения этого пептида в электрическом поле при рН 3,0 и 10,5.*

2. В биохимической лаборатории исследуется электрофоретическая подвижность белков.

*Указать направление движения в электрическом поле следующих белков: яичного альбумина при рН 5,0 (изоэлектрическая точка рН 4,6);  $\beta$ -лактоглобулина при рН 5,0 и 7,0 (изоэлектрическая точка рН 5,2); химотрипсиногена при рН 5,0; 9,5 и 11,0 (изоэлектрическая точка рН 9,5).*

3. При частичном гидролизе белка и последующем фракционировании получены два пептида:

а) Гли–Ала–Вал–Лей–Иле;

б) Тре–Асп–Лиз–Тир–Глу.

*Указать соединение, которое более похоже по свойствам на углеводород.*

*Выбрать соединение, которое имеет бóльшую растворимость в неводной жироподобной среде.*

*Пояснить особенности реагирования каждого из этих соединений при биуретовой пробе, нингидриновой реакции, реакции Фоля и ксантопротеиновой реакции.*

*Указать соединение, более способное к участию в образовании солевых мостиков.*

## **РАЗДЕЛ 2**

# **СТРОЕНИЕ, КЛАССИФИКАЦИЯ И РОЛЬ ВИТАМИНОВ**

### **ТЕМА 2.1. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Жирорастворимые витамины – гидрофобные органические вещества. В организме они не синтезируются и являются незаменимыми пищевыми факторами. Исключением является витамин D, синтезируемый в коже, но в недостаточном количестве. При недостаточном поступлении витаминов в организм развиваются тяжелые состояния (гипо- и авитаминозы), приводящие к нарушениям метаболизма. Биологическая роль жирорастворимых витаминов связана с регуляцией обменных процессов в организме, так как эти витамины влияют на синтез структурных белков и ферментов, что особенно актуально в детском возрасте.

Теоретические сведения о витаминах, а также практические навыки качественного определения этих веществ нужны врачу для профилактики гипо- и авитаминозов, для использования витаминов в качестве неспецифического средства при лечении заболеваний кожи, печени, мышечной и костной систем и т. п.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучить свойства, химическую структуру, классификацию, биологическую роль жирорастворимых витаминов, клиническую картину авитаминозов.

Научиться проводить качественные реакции со стандартными растворами жирорастворимых витаминов.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Общая характеристика витаминов, описать их роль. Классификация и номенклатура витаминов.
2. Характеристика гипо- и авитаминозов, гипервитаминозов, их экзогенные и эндогенные причины. Причины гиповитаминозов у детей.
3. Провитамины –  $\beta$ -каротин, эргостерол, 7-дегидрохолестерол. Превращение провитаминов в витамины на примере  $\beta$ -каротина. Понятие о каротиноидах и их роли в организме.
4. Понятие об антивитаминах. Использование антивитаминов в качестве лекарственных средств. Механизм действия и область применения дикумарола как антивитамина K.
5. Характеристика отдельных жирорастворимых витаминов по плану:
  - строение витаминов A, E, K, D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>, F;
  - строение активных форм витаминов A и D;

- пищевые источники;
- минимальная суточная потребность;
- биохимические функции, примеры реакций и/или процессов, в которых принимает участие витамин;

○ картина гипо- и авитаминоза, гипервитаминоза.

6. Биохимические проявления недостаточности витамина D, витамин D-зависимого и витамин D-резистентного рахита. Роль заболеваний печени и почек в развитии картины гиповитаминоза D.

7. Качественные реакции на ретинол, токоферол, викасол, холекальциферол. Принцип методов.

8. Составьте таблицу по жирорастворимым витаминам

Название витамина (буквенное, химическое, физиологическое)	Химическая формула	Суточная доза	Биологическая роль	Признаки гипер-, гипо- и авитаминоза	Пищевые источники	Лекарственные формы

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. История открытия витаминов. Работы отечественных и зарубежных ученых.
2. Рахит – виды, биохимические причины, профилактика, лечение. Рахитоподобные состояния.
3. Витамин А, его активные формы ретиналь и ретиноевая кислота. Участие в обмене веществ и фотохимическом акте зрения.
4. Витамин D, его активные формы. Участие в обмене веществ.

### **Лабораторная работа**

### **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ**

#### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА РЕТИНОЛ**

##### **Принцип**

Метод основан на способности концентрированной серной кислоты отнимать воду от ретинола с образованием окрашенных продуктов.

##### **Реактивы**

1) Конц.  $H_2SO_4$ , 2) бутанол.

##### **Материал исследования**

Витамин А, 3,44 % масляный раствор.

##### **Проведение анализа**

В пробирку вносят 2 капли раствора витамина А и 5 капель бутанола. Оставляют на 1 минуту, периодически встряхивая. Затем добавляют 5—7

капель конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Появляется синее окрашивание, переходящее в фиолетовое, затем в красно-бурое.

### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛ**

#### **Принцип**

При взаимодействии витамина  $\text{D}_3$  с оксиметилфурфуролом, образующимся из сахарозы под действием концентрированной серной кислоты, появляется красно-фиолетовое окрашивание.

#### **Реактивы**

1) Конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2) бутанол, 3) 20 % р-р сахарозы.

#### **Материал исследования**

Витамин  $\text{D}_3$ , масляный раствор, 15 тыс. МЕ/мл.

#### **Проведение анализа**

В пробирку вносят 3 капли раствора витамина  $\text{D}_3$  и 5 капель бутанола, добавляют 3 капли раствора сахарозы и 5—7 капель конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Появляется красно-фиолетовое окрашивание, переходящее в черно-бурое.

### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ТОКОФЕРОЛ**

#### **Принцип**

При взаимодействии токоферола с концентрированной азотной кислотой образуется соединение хиноидной структуры красного или желтовато-красного цвета.

#### **Реактивы**

Конц.  $\text{HNO}_3$ .

#### **Материал исследования**

Витамин Е, 30,0 % масляный раствор.

#### **Проведение анализа**

В сухую пробирку вносят 2 капли раствора витамина Е и добавляют 10 капель конц.  $\text{HNO}_3$ . Пробирку встряхивают и наблюдают появление красного окрашивания. Для ускорения реакции пробирку можно поместить на 3 минуты в кипящую водяную баню.

### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ВИТАМИН К**

#### **Принцип**

Викасол (синтетический аналог витамина  $\text{K}_1$ ) в присутствии цистеина в щелочной среде окрашивается в лимонно-желтый цвет.

#### **Реактивы**

1) 0,025 % р-р цистеина, 2) 10 % р-р натрия гидроксида.

#### **Материал исследования**

0,05 % р-р викасола.

#### **Проведение анализа**

К 5 каплям раствора викасола добавляют 5 капель раствора цистеина и 1 каплю 10 % раствора  $\text{NaOH}$ . Развивается лимонно-желтое окрашивание.

### *Клинико-диагностическое значение*

Качественные реакции на витамины позволяют установить подлинность (достоверность) витаминных лекарственных препаратов, а также использовать их для обнаружения и количественного определения витаминов в пищевых объектах и лекарственных растениях.

### *Оформление работы*

Отмечают принцип методов, ход работы, регистрируют результаты анализа в таблице и делают вывод о возможности обнаружения витаминов данным методом.

Исследуемые витамины	Используемый метод и реактивы	Результат

## **ТЕМА 2.2. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Водорастворимые витамины – низкомолекулярные органические вещества различной химической природы, регуляторы обменных процессов и жизнедеятельности организма. В организме они не синтезируются и являются незаменимыми пищевыми факторами. Исключением является витамин РР, синтезируемый в печени в недостаточном количестве. При недостаточном поступлении витаминов развиваются тяжелые состояния – гипо- и авитаминозы. Биологическая роль водорастворимых витаминов связана с регуляцией обменных процессов в организме, поскольку многие из них входят в состав коферментов (простетических групп) ферментов.

Теоретические сведения о витаминах, а также практические навыки качественного определения этих веществ нужны врачу для профилактики гипо- и авитаминозов, для использования витаминов в качестве специфического средства лечения ряда заболеваний кожи, печени, крови и т. п.

### **ЦЕЛЬ**

Изучить свойства, химическую структуру, классификацию, биологическую роль витаминов, клиническую картину авитаминозов.

Приобретение практических навыков по проведению качественных реакций на витамины.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Характеристика всех водорастворимых витаминов по плану:
  - строение – химическая формула витаминов В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), В<sub>3</sub> (РР, никотиновая кислота, никотинамид), В<sub>6</sub> (пиридоксин),

С (аскорбиновая кислота), Н (биотин). Представление о строении витаминов В<sub>5</sub> (пантотеновая кислота), В<sub>9</sub> (фолиевая кислота), В<sub>12</sub> (кобаламин);

- пищевые источники;
- минимальная суточная потребность;
- формула кофермента (ТДФ, ФМН и ФАД, НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>, ПФ);
- биохимические функции, примеры реакций и/или процессов, в которых принимает участие кофермент;
- возможные причины гипо- и авитаминоза и его клинические проявления.

2. Механизм антибактериальной активности сульфаниламидных препаратов.

3. Антивитамины – изониазид, авидин, птеридины. Механизм их действия. Использование антивитаминов в качестве лекарственных средств.

4. Качественные реакции на рибофлавин, никотиновую кислоту, пиридоксин, кобаламин, аскорбиновую кислоту. Принцип методов.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Витаминоподобные соединения, общая характеристика, виды, роль в метаболизме.

2. Витамин Р (биофлавоноиды), его значение и потребность для детского организма.

3. Моно- и поливитаминные препараты для неспецифической терапии. Достоинства и недостатки употребления этих препаратов в повседневной жизни.

4. Наследственные нарушения обмена и функций витамина В<sub>12</sub>.

### **Лабораторная работа**

#### **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ**

##### **Реактивы**

1) конц. HCl, 2) 1 % р-р FeCl<sub>3</sub>, 3) 10 % р-р тиомочевины, 4) 10 % р-р CH<sub>3</sub>COOH, 5) 5 % р-р Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>, 6) цинк металлический, 7) 0,01 % р-р метиленового синего.

##### **Оборудование**

Водяная баня.

##### **Исследуемый материал**

1 % р-р пиридоксина гидрохлорида, сухая никотиновая кислота, 0,025 % р-р рибофлавина, 1,0 % раствор витамина В<sub>12</sub>, 1 % раствор аскорбиновой кислоты.

#### **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА РИБОФЛАВИН**

##### **Материал исследования**

0,025 % р-р рибофлавина. Перед употреблением разводят в 5 раз.

## *Реакция восстановления*

### *Принцип*

Метод основан на восстановлении рибофлавина водородом, выделяющимся при добавлении металлического цинка к концентрированной HCl. В начале образуется промежуточный продукт родофлавин розового цвета, а затем бесцветная лейкоформа.

### *Проведение анализа*

К 10 каплям раствора рибофлавина добавляют 5 капель концентрированной HCl и гранулу металлического цинка. Жидкость окрашивается в розовый цвет, а затем обесцвечивается.

## *КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА НИКОТИНОВУЮ КИСЛОТУ*

### *Принцип*

При нагревании витамина PP с раствором уксусно-кислой меди образуется плохо растворимый синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

### *Материал исследования*

Порошок никотинамида.

### *Проведение анализа*

5—10 мг (щепотка) никотиновой кислоты помещают в пробирку с 10 каплями 10 % раствора  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и растворяют при нагревании. К нагретому до кипения раствору добавляют равный объем раствора уксусно-кислой меди ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ). Жидкость становится мутной.

При стоянии и постепенном охлаждении раствора выпадает синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

## *КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ПИРИДОКСИН*

### *Принцип*

Витамин  $\text{B}_6$  с  $\text{FeCl}_3$  образует комплексную соль красного цвета.

### *Материал исследования*

1 % р-р витамина  $\text{B}_6$ .

### *Проведение анализа*

К 5 каплям 1 % раствора витамина  $\text{B}_6$  прибавляют равное количество 1 % раствора  $\text{FeCl}_3$ . Развивается красное окрашивание.

## *КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА КОБАЛАМИН*

### *Принцип*

При взаимодействии ионов кобальта, содержащихся в витамине, с тиомочевинной при нагревании образуется роданид кобальта зеленого цвета.

### *Материал исследования*

1 % р-р витамина  $\text{B}_{12}$ .

#### *Проведение анализа*

На беззольный фильтр наносят 2—3 капли тиомочевины, высушивают в горячем воздухе над плиткой. На фильтр наносят 1—2 капли витамина В<sub>12</sub> и вновь высушивают в горячем воздухе.

На фильтре по краям пятна появляется зеленое окрашивание, свидетельствующее о наличии кобальта.

### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА АСКОРБИНОВУЮ КИСЛОТУ**

#### *Материал исследования*

1 % р-р аскорбиновой кислоты.

#### *Принцип*

Аскорбиновая кислота обладает способностью восстанавливать метиленовый синий, окисляясь при этом до дегидроаскорбиновой кислоты. Метиленовый синий при восстановлении обесцвечивается.

#### *Проведение анализа*

В 1-ю пробирку вносят 5 капель 1 % раствора аскорбиновой кислоты, во 2-ю – 5 капель дистиллированной воды. В обе пробирки вносят по капле 0,01 % раствора метиленового синего и ставят в водяную баню при +40°C. Наблюдают обесцвечивание жидкости в пробирке с витамином.

#### *Оформление работы*

Отмечают принцип методов, ход работы, регистрируют результаты анализа в таблице и делают вывод о возможности обнаружения витаминов данным методом.

Исследуемые витамины	Используемый метод и реактивы	Результат

## **ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ**

Выберите один или несколько правильных ответов.

### **1. ОСНОВНАЯ ФУНКЦИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ – ЭТО**

- 1) предшественники гормонов
- 2) защита биологических мембран
- 3) предшественники коферментов
- 4) предшественники углеводов

### **2. КОФЕРМЕНТНАЯ ФОРМА ВИТАМИНА В<sub>1</sub> НАЗЫВАЕТСЯ**

- 1) пиридоксальфосфат
- 2) флавинмононуклеотид
- 3) тиаминдифосфат
- 4) никотинамидадениндинуклеотид

### **3. КОФЕРМЕНТНАЯ ФОРМА ВИТАМИНА В<sub>2</sub> НАЗЫВАЕТСЯ**

- 1) пиридоксальфосфат

- 2) флавинадениндинуклеотид
  - 3) тетрагидрофолат
  - 4) коэнзим А
4. ПАНТОТЕНОВАЯ КИСЛОТА ЯВЛЯЕТСЯ СОСТАВНОЙ ЧАСТЬЮ КОФЕРМЕНТА
- 1) коэнзима-А
  - 2) тетрагидрофолиевой кислоты
  - 3) тиаминпирофосфата
  - 4) флавинмононуклеотида
5. ГИПОВИТАМИНОЗ В<sub>6</sub>. ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИЕМЕ АНТИБИОТИКОВ И СУЛЬФАНИЛАМИДОВ У ЧЕЛОВЕКА ОБУСЛОВЛЕН
- 1) подавлением микрофлоры кишечника
  - 2) связыванием лекарства с витамином
  - 3) действием лекарства на синтез коферментной формы
  - 4) ингибированием пиридоксин-зависимых ферментов
6. ДЕФИЦИТ ВИТАМИНА С – ЦИНГА РАЗВИВАЕТСЯ ПРИ
- 1) окислении сульфгидрильных групп ферментов
  - 2) нарушении синтеза коллагена
  - 3) нарушении синтеза альбумина
  - 4) окислении липидных мембран клеток соединительной ткани
7. ПРОСТЕТИЧЕСКОЙ ГРУППОЙ РОДОПСИНА – РЕЦЕПТОРНОГО БЕЛКА СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ЯВЛЯЕТСЯ
- 1) рибофлавин
  - 2) кальциферол
  - 3) ретиналь
  - 4) токоферол
8. В СОСТАВ ВИТАМИНА F ВХОДЯТ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ
- 1) олеиновая
  - 2) линолевая
  - 3) линоленовая
  - 4) стеариновая
  - 5) арахидоновая
9. ДЛЯ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ВИТАМИНА А ХАРАКТЕРНЫ
- 1) гиперкератоз
  - 2) снижение концентрации родопсина в крови
  - 3) кровоточивость
  - 4) остеомалация

## 10. ОСНОВНАЯ РОЛЬ ВИТАМИНА К СОСТОИТ В ТОМ, ЧТО ОН

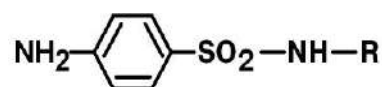
- 1) является антиоксидантом
- 2) увеличивает образование тромбоцитов
- 3) участвует в синтезе факторов свертывания крови
- 4) участвует в реакциях свертывания крови

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Бактерии *Lactobacillus casei* способны расти на простой культуральной среде, содержащей витамины рибофлавин и пиридоксин и 4 аминокислоты. Если в культуральную среду добавить полный набор аминокислот и рибофлавин, то количество пиридоксина, необходимого для оптимального роста бактерий, сократится на 90 %.

*Объяснить, почему это происходит.*

2. В качестве антибактериальных средств широкого спектра действия первыми стали использоваться сульфаниламиды, содержащие структуру, схожую с парааминобензойной кислотой.



Строение сульфаниламидов

*Обосновать использование сульфаниламидов. Дать дополнительные рекомендации при применении этих препаратов.*

3. Больному предстоит операция.

*Предложить назначение необходимых витаминов до операции.*

## РАЗДЕЛ 3 ЭНЗИМОЛОГИЯ

### ТЕМА 3.1. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

Ферменты – белковые молекулы, выполняющие в живой клетке функции биокатализаторов. Изучение строения и функционирования ферментов необходимо для понимания обмена веществ и его регуляции, а также патогенеза заболеваний, связанных с нарушением работы ферментов.

#### *ЦЕЛЬ*

Знакомство со строением и свойствами ферментов, особенностями ферментативного катализа.

Изучение влияния некоторых факторов на активность ферментов *in vitro*.

Приобретение практических навыков по исследованию специфичности ферментов и по изучению влияния на их активность температуры.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Строение простых и сложных белков.
2. Коферментные формы витаминов В<sub>1</sub> (ТДФ), В<sub>2</sub> (ФМН и ФАД), РР (НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>), В<sub>6</sub> (ПФ).
3. Биологическая роль ферментов. Понятие энергетического барьера реакции и энергии активации.
4. Этапы ферментативного катализа.
5. Характеристика структурно-функциональной организации ферментов по плану:
  - простые ферменты;
  - сложные ферменты: понятие холофермента, апофермента, кофактора, кофермента, простетической группы;
  - активный центр (контактный и каталитический участки);
  - аллостерический центр.
6. Кислотно-основной и ковалентный механизмы катализа.
7. Сходство и различие в действии ферментов и неорганических катализаторов.
8. Общие принципы количественного определения активности ферментов. Единицы активности ферментов.
9. Мультиферментный комплекс, строение, принципы самосборки, роль. Примеры.

10. Изоферменты, особенности их строения на примере лактатдегидрогеназы и креатинкиназы.

11. Основные свойства ферментов. Графики зависимости скорости ферментативной реакции:

- от температуры;
- от pH среды;
- от концентрации субстрата;
- от концентрации фермента.

12. Специфичность, виды специфичности. Механизмы специфичности – теория Фишера и теория Кошланда.

13. Практическое использование ферментов в медицине: энзимодиагностика и энзимотерапия. Примеры.

14. Энзимопатии, первичные и вторичные формы. Примеры. Роль отсутствия коферментов в развитии энзимопатий.

15. Исследование специфичности действия ферментов на примере амилазы и уреазы. Принцип метода.

16. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры на примере амилазы слюны. Принцип метода.

### *ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ*

1. Роль эссенциальных микроэлементов в функционировании и регуляции активности ферментов.

### Лабораторная работа 1

## **ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ**

### *Исследование влияния температуры на активность амилазы слюны*

#### *Реактивы*

1) 1 % р-р крахмала, 2) р-р Люголя.

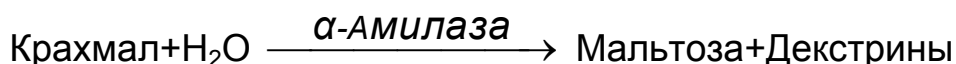
#### *Материал исследования*

Слюна, разведенная 1:10 (источник  $\alpha$ -амилазы).

#### *Принцип*

Для исследования зависимости скорости ферментативной реакции от температуры в работе используется гидролиз крахмала амилазой (диастаза, 1,4- $\alpha$ -D-глюкангидролаза, КФ 3.2.1.1.) слюны. При инкубации смеси субстрата (крахмал) и фермента (амилаза слюны) в разных температурных условиях фермент будет гидролизовать неодинаковое количество субстрата.

Гидролиз крахмала под действием амилазы проходит через стадии образования декстринов до дисахарида мальтозы.



Количество расщепленного крахмала оценивают по цветной реакции с йодом. Нерасщепленный крахмал с йодом дает синее окрашивание. Продукты гидролиза крахмала (декстрины) в зависимости от размера молекул дают с йодом окрашивание: • амилодекстрины – фиолетовое, • эритродекстрины – красно-бурое, • ахродекстрины и мальтоза – цветная реакция отсутствует, желтый цвет соответствует цвету водного раствора йода.

*Проведение реакции.*

Приготовление препарата слюны (выполняет дежурный для всей группы).

Собирают 1 мл слюны в мерную пробирку и доводят дистиллированной водой до метки 10 мл, хорошо перемешивают (не встряхивая!).

1. В 4 пробирки (1, 2, 3, 4) вносят по 10 капель крахмала. Флакон с раствором крахмала предварительно взболтать! В следующие 4 пробирки (5, 6, 7, 8) вносят по 10 капель разведенной слюны (раствор  $\alpha$ -амилазы). Пробирки делят по парам – 1-5, 2-6, 3-7, 4-8.

2. Чтобы исключить ферментативную реакцию до достижения необходимой температуры, растворы слюны и крахмала сначала прогревают по отдельности:

1-ю пару пробирок помещают в баню со льдом (0°C). 2-ю пару оставляют при комнатной температуре (20°C). 3-ю пару выдерживают при температуре 38-40°C. 4-ю пару пробирок помещают в кипящую водяную баню (100°C).

3. Через 3 минуты содержимое каждой пары пробирок объединяют, перемешивают и немедленно помещают на 10 минут в те же условия.

4. Проверяют ход реакции. Для этого из 3-й пробирки (38-40°C) отбирают на предметное стекло 3 капли смеси и добавляют 1 каплю реактива Люголя:

- если окраска синяя, то это указывает на низкую скорость гидролиза крахмала. В этом случае необходимо продлить время инкубации;
- появление красного или желтого окрашивания указывает на завершение гидролиза крахмала амилазой (можно переходить к п. 5).

5. По завершении гидролиза крахмала в 3-й пробе во все пробирки одновременно добавляют по 2 капли реактива Люголя и сравнивают цвет раствора в пробах.

*Оформление работы*

Отмечают принцип метода, ход работы. Результаты работы оформляют в виде таблицы. В выводах отмечают оптимальную температуру действия фермента.

№ пробы	Температура инкубации	Окраска	Относительная скорость реакции
1	0°C		
2	20°C		
3	38°C		
4	100°C		

## Лабораторная работа 2

### **ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ**

#### *Реактивы*

1) 1 % р-р мочевины, 2) 1 % р-р тиомочевины, 3) 0,5 % спиртовой р-р фенолфталеина, 4) 1 % р-р крахмала, 5) 1 % р-р сахарозы, 6) реактивы Фелинга: Фелинг I и Фелинг II.

#### *Материал исследования*

Приготовленный из семечек арбуза препарат уреазы.

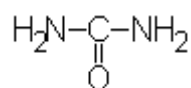
Слюна, разведение 1:10 (источник  $\alpha$ -амилазы).

### *Обнаружение абсолютной специфичности действия фермента уреазы*

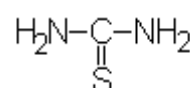
#### *Принцип*

Метод основан на сравнении возможности гидролиза уреазой (КФ 3.5.1.5.), сходных по строению субстратов – мочевины и тиомочевины.

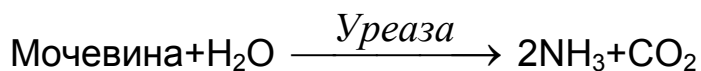
Действие фермента обнаруживается по изменению окраски индикатора фенолфталеина в щелочной среде, которая создается при выделении аммиака при гидролизе мочевины ферментом уреазой.



Мочевина



Тиомочевина



#### *Проведение реакции*

#### Приготовление препарата уреазы:

Очистить 3-4 семечка арбуза, зерна растереть в ступке в 1 мл дистиллированной воды, затем довести объем до 10 мл. Полученную эмульсию фильтруют и используют как препарат фермента уреазы.

	<b>Опыт 1, капли</b>	<b>Опыт 2, капли</b>
1 % р-р мочевины	10	—
1 % р-р тиомочевины	—	10
Препарат уреазы	10	10
Р-р фенолфталеина	1-2	1-2
	Перемешивают. Выдерживают 3-5 минут. Наблюдают за появлением розовой окраски в одной из пробирок	

### Оформление работы

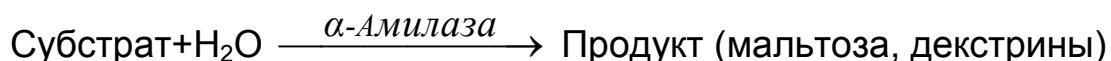
Отмечают принцип метода и ход работы. Результаты работы оформляют в виде таблицы. В выводах отмечают причину отсутствия окраски в одной из проб и специфичность фермента.

Пробы	Субстрат реакции	Окраска	Наличие реакции
Опыт 1			
Опыт 2			

### Обнаружение специфичности действия амилазы слюны

#### Принцип

Метод основан на сравнительном изучении способности фермента амилазы (КФ 3.2.1.1.) гидролизовать разные углеводные субстраты – полисахарид крахмал и дисахарид сахарозу.



Действие фермента на субстрат выявляют при помощи качественной реакции на свободную альдегидную группу углеводов (реакция Троммера).

Реакция Троммера может быть положительной (красно-оранжевая окраска) только в случае расщепления субстратов до восстанавливающих сахаров (мальтоза, глюкоза и другие), которые имеют свободную альдегидную группу и обладают восстанавливающими свойствами. Субстраты реакции (крахмал и сахароза) не имеют свободной альдегидной группы, поэтому не дают положительной реакции Троммера.

#### Проведение реакции

Приготовление раствора слюны (выполняет дежурный для всей группы).

Собирают 1 мл слюны в мерную пробирку и доводят дистиллированной водой до метки 10 мл, хорошо перемешивают.

	Опыт 1, капли	Опыт 2, капли
1 % р-р крахмала	—	10
1 % р-р сахарозы	10	—
р-р слюны	5	5
	Перемешивают. Инкубируют при температуре 37°C в течение 10 минут	
Реактив Феллинга I	3	3
Реактив Феллинга II	3	3
	Перемешивают. Выдерживают в кипящей водяной бане при температуре 100°C до появления желтого или красно-оранжевого окрашивания в одной из пробирок	

### *Оформление работы*

Отмечают принцип метода и ход работы. Результаты работы оформляют в виде таблицы. В выводах отмечают причину отсутствия реакции в одной из проб и специфичность фермента.

Пробы	Субстрат реакции	Окраска	Наличие реакции
Опыт 1			
Опыт 2			

## **ТЕМА 3.2. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Значительное количество лекарственных средств влияет на активность ферментов организма и знание роли тех или иных ферментов позволяет грамотно использовать медицинские препараты.

Исследование регуляции активности ферментов дает возможность их использования в лечебных или диагностических целях.

### **ЦЕЛЬ**

Знакомство с особенностями ферментативного катализа и изучение регуляции активности ферментов в клетке.

Знакомство с методами обнаружения ферментов в тканях и биологических жидкостях, освоение метода определения активности амилазы в сыворотке крови и моче.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Способы регуляции скорости ферментативных реакций в клетке (in vivo):
  - компартментализация;
  - изменение количества фермента – на примере влияния глюкокортикоидов на глюконеогенез;
  - изменение доступности субстрата на примере оксалоацетата и цикла трикарбоновых кислот;
  - проферменты и их ограниченный протеолиз на примере ферментов желудочно-кишечного тракта;
  - белок-белковое взаимодействие на примере активации аденилатциклазы (присоединение регуляторных белков) и на примере протеинкиназы А (диссоциация белка на протомеры). Схемы процессов;
  - аллостерические механизмы регуляции ферментов: а) схема изменения активности фермента при воздействии эффектора, б) роль аллостерической регуляции метаболизма на примере фосфофруктокиназы;

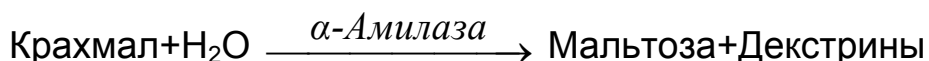
- ковалентная модификация ферментов на примере ферментов гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы. Схема механизма регуляции.
2. Характеристика ингибирования ферментов. Конкурентное и неконкурентное ингибирование. Обратимое и необратимое ингибирование. Примеры.
  3. Применение ингибиторов ферментов в качестве лекарственных средств. Примеры.
  4. Определение активности амилазы в сыворотке крови и моче. Принцип метода. Клинико-диагностическое значение и нормальные величины.

### Лабораторная работа

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИЛАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

#### *Принцип*

$\alpha$ -Амилаза (диастаза, 1,4- $\alpha$ -D-глюкангидролаза, КФ 3.2.1.1) катализирует гидролиз  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей крахмала и гликогена до мальтозы и декстринов.



Количество оставшегося крахмала, пропорциональное каталитической активности фермента, определяют по цветной реакции с йодом.

#### *Реактивы*

1) Субстрат, 0,04 % р-р крахмала в дистиллированной воде, 2) 0,01 М рабочий раствор йода.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови. Моча.

#### *Проведение анализа*

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Контроль, мл
Раствор крахмала	1,0	1,0	1,0
	Инкубируют при 37°C в течение 5 минут		
Сыворотка крови	0,02	—	—
Моча	—	0,02	—
	Инкубируют при 37°C точно 5 минут		
0,01 М рабочий р-р йода	1,0	1,0	1,0
Холодная дистил. вода	8,0	8,0	8,0
	Перемешивают. Измеряют оптическую плотность опытных и контрольного растворов против воды при длине волны 670 нм (красный светофильтр)		

## Расчет

$$\text{Активность амилазы, г/л}\cdot\text{ч} = \frac{E_{\text{контр}} - E_{\text{опыт}}}{E_{\text{контр}}} \times 240, \text{ где}$$

$E_{\text{контр}}$  и  $E_{\text{опыт}}$  – соответственно оптическая плотность контрольной и опытных проб, 240 – коэффициент пересчета.

## Нормальные величины

Сыворотка крови 16-30 г/л·ч

Моча 28-160 г/л·ч

## Клинико-диагностическое значение

У здорового человека в крови содержится амилаза 2 изоферментных типов: панкреатическая – Р-тип (около 30 %) и слюнная – S-тип (около 70 %), которые попадают в кровь в результате естественного старения и отмирания клеток слюнных желез и поджелудочной железы. Фермент имеет относительно низкую молекулярную массу (около 48000 Да), фильтруется в почечных клубочках и присутствует в моче. Соотношение изоферментов в моче иное, чем в крови: Р-тип – 70 %, S-тип – до 30 %.

## Сыворотка крови и моча

Повышение активности фермента в сыворотке крови и в моче происходит главным образом при заболеваниях поджелудочной железы. При остром панкреатите активность фермента в крови достигает максимума через 12-24 часа от начала заболевания (повышение в 10-30 раз) и при правильной терапии нормализуется на 2-6-е сутки. При хронических панкреатитах повышение активности фермента умеренное. Возрастание активности фермента выявляется также при поражении слюнных желез, холецистите, заболеваниях желчных путей, беременности, почечной недостаточности, кишечной непроходимости, диабетическом кетоацидозе, некоторых опухолях легких и яичников.

Снижение активности в клинической практике выявляется редко, обычно диагностического значения не имеет. Иногда отмечается у больных с заболеваниями печени (цирроз), злокачественными опухолями, гипотиреозом, кахексией, при токсикозе беременных.

## Оформление работы

Отмечают принцип метода, ход работы, регистрируют результаты анализа, отмечают клинико-диагностическое значение и делают вывод о возможных патологиях.

## ТЕМА 3.3. КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ (СЕМИНАР)

### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

Ферменты – белковые молекулы, выполняющие в живой клетке функции биокатализаторов. Знание принципов классификации ферментов необходимо для изучения обмена веществ, для понимания их роли в осуществлении биохимических реакций.

### *ЦЕЛЬ*

Знакомство с классификацией ферментов и с реакциями, характерными для каждого класса ферментов.

### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Роль ферментов и коферментов в катализе.
2. Коферментные формы витаминов (ТДФ, ФМН и ФАД, НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>, ПФ).
3. Принципы современной классификации и номенклатуры ферментов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтетазы) (Приложение 1).
4. Характеристика каждого класса ферментов по плану:
  - название и номер класса;
  - биохимическая роль;
  - основные подклассы (1—3 подклассы);
  - основные коферменты данного класса;
  - правила систематического названия ферментов;
  - напишите примеры биохимических реакций данного класса ферментов (1-3 реакции).

### *ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ*

1. Применение ферментов и их ингибиторов в качестве лекарственных средств.
2. Использование ферментов в промышленности, в биохимических и иммунологических исследованиях.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

1. ФЕРМЕНТ ОТ НЕБЕЛКОВОГО КАТАЛИЗАТОРА ОТЛИЧАЕТ ТО, ЧТО ОН
  - 1) снижает энергию активации
  - 2) не расходуется в результате реакции
  - 3) не претерпевает необратимых изменений
  - 4) обладает специфичностью
2. ПЕРЕНОС ГРУПП ВНУТРИ МОЛЕКУЛЫ КАТАЛИЗИРУЮТ
  - 1) изомеразы
  - 2) трансферазы
  - 3) лиазы
  - 4) гидролазы
3. ПРИСОЕДИНЕНИЕ ГРУПП ПО ДВОЙНЫМ СВЯЗЯМ И ОБРАТИМЫЕ РЕАКЦИИ СИНТЕЗА-РАСПАДА КАТАЛИЗИРУЮТ
  - 1) изомеразы
  - 2) лигазы
  - 3) лиазы
  - 4) трансферазы
4. АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗА ВХОДИТ В КЛАСС ФЕРМЕНТОВ
  - 1) оксидоредуктазы
  - 2) гидролазы
  - 3) лигазы
  - 4) трансферазы
5. ПРЕДСТАВИТЕЛЕМ КЛАССА ГИДРОЛАЗ ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) каталаза
  - 2) алкогольдегидрогеназа
  - 3) пепсин
  - 4) гемоглобин
6. СНИЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ПРИ ПОВЫШЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ ВЫШЕ 50°C ОБУСЛОВЛЕНО
  - 1) денатурацией апофермента
  - 2) денатурацией кофермента
  - 3) распадом холофермента
  - 4) гидролизом

## 7. СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ОБУСЛОВЛЕНА

- 1) набором определенных функциональных групп в активном центре
- 2) химическим соответствием активного центра субстрата
- 3) наличием кофермента
- 4) пространственным соответствием активного центра субстрата
- 5) комплементарностью активного центра субстрату

## 8. ДЕЙСТВИЕ КОНКУРЕНТНОГО ИНГИБИТОРА МОЖНО СНЯТЬ, ЕСЛИ

- 1) увеличить концентрацию ингибитора
- 2) увеличить концентрацию субстрата
- 3) снизить концентрацию фермента
- 4) изменить условия реакции: pH и температуру

## 9. КОВАЛЕНТНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПРИ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ – ЭТО

- 1) присоединение к нему какой-либо химической группы
- 2) внутримолекулярная перестройка структуры фермента
- 3) присоединение или удаление небольшого фрагмента от субстрата
- 4) присоединение или удаление небольшого фрагмента от фермента

## 10. В ОТЛИЧИЕ ОТ НЕОРГАНИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ ФЕРМЕНТЫ

- 1) ускоряют наступление реакции
- 2) являются регулируемыми
- 3) расходятся в процессе реакции
- 4) не катализируют энергетически невозможные реакции

## СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Обнаружено, что если аллостерический фермент аспарат:карбамоил-трансферазу (молекула состоит из 12 протомеров) выдержать в течение 4 минут при 60°C, то он теряет чувствительность к аллостерическому ингибитору (ЦТФ). При этом ферментативная активность сохраняется. Схожие свойства проявляют и другие аллостерические ферменты.

*Указать возможные механизмы подобного нарушения.*

2. Объяснить биохимический смысл некоторых требований (подчеркнуты), предъявляемых к хранению и использованию ферментных препаратов:

- растворение сухого препарата дистиллированной водой комнатной температуры.
- при растворении препарата перемешивать осторожно.

- хранение раствора препарата при низкой температуре.
- при необходимости длительного хранения – высушивание препарата и запаивание в вакуумированные ампулы.

3. Липаза – фермент жировой ткани, обеспечивающий расщепление нейтральных жиров, может находиться в двух формах с различной активностью: в виде простого белка и в виде фосфопротеина.

*Объяснить, почему переход одной формы в другую сопровождается изменением активности.*

*Указать, в каком состоянии липаза является активной, если известно, что выделяющийся при физической нагрузке гормон адреналин запускает каскад реакций, ведущих к фосфорилированию внутриклеточных белков.*

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛАМ 1, 2, 3)**

1. Классификация аминокислот по биологической роли, по химическому строению, по физико-химическим свойствам, по растворимости в воде.

2. Строение протеиногенных аминокислот. Физико-химические свойства аминокислот. Понятие изоэлектрической точки.

3. Пептидная связь, реакция ее образования. Свойства пептидной связи.

4. Биологическая роль белков. Классификация белков по функции и строению. Физико-химические свойства белков и белковых растворов. Факторы, стабилизирующие белковую молекулу в растворе. Коллоидные свойства белков.

5. Влияние смещения pH на заряд аминокислот и белков. Факторы, вызывающие осаждение белков. Свойства денатурированного белка. Характерные особенности денатурации и ренативации.

6. Уровни структурной организации белковой молекулы. Типы связей, стабилизирующие структуру белковой молекулы. Аминокислоты, образующие эти связи.

7. Простые белки (альбумины, глобулины, гистоны, протамины), их представители, роль в организме.

8. Сложные белки: фосфопротеины, нуклеопротеины, гликопротеины и протеогликаны, хромопротеины, металлопротеины, липопротеины. Структура нуклеотидов на примере АМФ, АДФ, АТФ, цАМФ. Формулы гема, гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфатов.

9. Принцип цветных качественных реакций на аминокислоты и белки. Возможность использования в практике.

10. Удаление белков из раствора и очистка белковых растворов от примесей. Механизмы реакций. Использование в биохимии и медицине.

11. Методы осаждения белков, применимые для получения белков и ферментов в нативном состоянии.

12. Составление произвольных тетрапептидов с заданными свойствами, умение назвать их, определение суммарного заряда и растворимости, зоны рН, в которой находится их изоэлектрическая точка.

13. Определение составных компонентов фосфопротеинов и гликопротеинов.

14. Перечислить общие свойства витаминов, их классы. Провитамины и антивитамины, приведите примеры. Общие причины возникновения гипо- и авитаминозов. Гипервитаминозы.

15. Характеристика жирорастворимых витаминов А, D, Е, К, F: физиологическое название, химическая структура витаминов А, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, Е, К, F, активных форм витаминов А и D, суточная потребность, пищевые источники. Биохимические функции и процессы, в которых принимает участие витамин. Возможные причины и клинические проявления гипер-, гипо- и авитаминозов. Что такое каротиноиды? Укажите их роль в организме.

16. Характеристика водорастворимых витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub> (никотиновая кислота), В<sub>5</sub> (пантотеновая кислота), В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>, С, Н: физиологическое название, строение (кроме витаминов В<sub>12</sub>, фолиевой и пантотеновой кислот), суточная потребность, пищевые источники. Биохимические функции и реакции, в которых принимают участие витамины. Структурные формулы коферментов (для В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>). Возможные причины и клинические проявления гипо- и авитаминоза. Роль витаминов для правильного роста и развития ребенка.

17. Механизм антибактериальной активности сульфаниламидных препаратов.

18. Качественные реакции открытия витаминов А, Е, К, D<sub>3</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, С. Принцип методов, ход определения, практическое значение методов.

19. Ферменты, их роль в осуществлении биохимических реакций. Сравните ферменты и неорганические катализаторы.

20. Структурно-функциональная организация ферментов (уровень структуры, простые и сложные ферменты). Холофермент, апофермент, кофактор, кофермент, простетическая группа, активный и аллостерический центры. Роль апофермента и кофермента в катализе. Строение мультиферментных комплексов клетки.

21. Особенности строения изоферментов. Общая характеристика и примеры изоферментов.

22. Классификация ферментов. Основные подклассы в каждом классе. Номенклатура ферментов. Что такое классификационный номер? Примеры биохимических реакций, ферменты этих реакций.

23. Этапы ферментативного катализа. Особенности ковалентного и кислотно-основного катализа.

24. Количественное определение активности ферментов в биологических объектах. Единицы активности ферментов.

25. Основные свойства ферментов, графики зависимости активности фермента от различных воздействий. Специфичность фермента, виды специфичности. Механизмы специфичности (теории Фишера и Кошланда).

26. Способы регуляции метаболической активности в клетке: компартиментализация, изменение концентрации фермента, изменение концентрации субстрата, наличие изоферментов, аллостерические механизмы регуляции ферментов, ковалентная модификация ферментов, проферменты и их ограниченный протеолиз, белок-белковое взаимодействие.

27. Основные виды ингибирования ферментов: конкурентное и неконкурентное, обратимое и необратимое. Примеры.

28. Использование ферментов в медицине. Энзимотерапия и энзимодиагностика. Использование ингибиторов ферментов в качестве лекарств. Примеры.

29. Отличие первичных и вторичных форм энзимопатий. Примеры.

30. Практическое обнаружение влияния температуры на активность ферментов на примере амилазы слюны. Принцип метода и ход определения.

31. Исследование специфичности действия ферментов на примере амилазы слюны и уреазы. Принцип метода и ход определения.

32. Принцип метода и ход определения активности амилазы в сыворотке крови и моче. Нормальные величины и клинико-диагностическое значение метода.

## **РАЗДЕЛ 4 БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ**

### **ТЕМА 4.1. ОБЩИЕ ПУТИ КАТАБОЛИЗМА: ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ ПИРУВАТА. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ. ФЕРМЕНТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ (СЕМИНАР)**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Биологическое окисление протекает во всех живых клетках организма в виде совокупных окислительных реакций. При этом происходит многократная передача протонов и электронов или только электронов от донора к акцептору. Конечными продуктами этого процесса являются вода окисления и диоксид углерода ( $H_2O$  и  $CO_2$ ). Основной функцией биологического окисления является обеспечение организма энергией для процессов жизнедеятельности. Формой энергии, доступной для использования, является аденозинтрифосфорная кислота (АТФ).

Некоторые вещества, как лекарственные (барбитураты), так и токсические (цианиды, окись углерода), подавляют окислительное фосфорилирование и синтез АТФ.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение реакций пируватдегидрогеназного комплекса и цикла трикарбонных кислот, строения цепи дыхательных ферментов митохондрий и механизмов окислительного фосфорилирования.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Пластическая (анаболизм) и энергетическая (катаболизм) функции метаболизма.
2. Стадии катаболических превращений питательных веществ в организме, связанные с высвобождением свободной энергии. Чему равно высвобождение и запасание энергии на каждом из этапов?
3. Строение и функции митохондрий.
4. Химическая формула АТФ (аденозинтрифосфорная кислота), роль АТФ? Значение циклов АТФ – АДФ и НАДФН – НАДФ<sup>+</sup>.
5. Основные макроэнергетические соединения клетки – АТФ, 1,3-дифосфоглицерат, фосфоенолпируват, креатинфосфат, ацетил~S-KoA? Что такое субстратное фосфорилирование?
6. Источники ключевых продуктов метаболизма – ацетил~S-KoA и пировиноградной кислоты. Дальнейшая судьба веществ.

7. Строение мультиферментного пироватдегидрогеназного комплекса, его ферменты и коферменты. Суммарная реакция окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Химизм пяти отдельных реакций. Регуляция процесса.

8. Реакции цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса, цикл лимонной кислоты). Механизм окисления ацетильной группы. Ферменты и коферменты процесса. Биологическое значение ЦТК. Роль оксалоацетата, НАДН и метаболитов ЦТК в регуляции скорости цикла.

9. Взаимосвязь ЦТК с катаболизмом углеводов, липидов, белков.

10. Характеристика процесса окислительного фосфорилирования по плану:

- молекулярная организация и последовательность ферментных комплексов цепи переноса электронов, нарисуйте схему цепи дыхательных ферментов;

- перенос электронов по комплексам дыхательной цепи, роль коферментов (ФМН, FeS-белки, коэнзим Q, гемовые группы цитохромов);

- роль кислорода – конечного акцептора электронов восстановленных субстратов биологического окисления;

- выкачивание протонов из матрикса митохондрий – участки трансмембранного переноса (участки сопряжения окисления и фосфорилирования), формирование электрохимического градиента;

- строение АТФ-синтазы, роль электрохимического градиента в работе АТФ-синтазы.

11. Коэффициент фосфорилирования P/O. Его величина для НАДН и ФАДН<sub>2</sub>. Расчет количества АТФ, полученной при окислении некоторых субстратов (аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты).

12. Комплексы ферментов дыхательной цепи, на которые могут действовать ингибиторы. Как ингибируется процесс окислительного фосфорилирования?

13. Разобщение окисления и фосфорилирования. Механизм этого явления. Вещества, вызывающие разобщение.

14. Бурая жировая ткань: ее функция, локализация. Функция белка термогенина. Его роль в термогенезе.

15. Причины гипознергетических состояний.

16. Регуляция окислительного фосфорилирования. Дыхательный контроль. Роль соотношения АТФ и АДФ в регуляции работы дыхательной цепи.

17. Примеры применения нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ, ФМН) в качестве лекарственных препаратов.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

1. СКОРОСТЬ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ РЕАКЦИИ ИНГИБИРУЮТ
  - 1) АТФ, кальций, НАД
  - 2) кальций, ацетил-КоА, НАД
  - 3) АДФ, ФАДН<sub>2</sub>, НАДН
  - 4) ацетил-КоА, НАДН, АТФ
2. В ЦИКЛЕ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ МОЛЕКУЛА ФАДН<sub>2</sub> ОБРАЗУЕТСЯ ПРИ РАБОТЕ
  - 1) малатдегидрогеназы
  - 2) изоцитратдегидрогеназы
  - 3) сукцинатдегидрогеназы
  - 4)  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы
3. СКОРОСТЬ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ
  - 1)  $\alpha$ -кетоглутарата
  - 2) оксалоацетата
  - 3) янтарной кислоты
  - 4) цитрата
4. ДВИЖУЩЕЙ СИЛОЙ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ ПО ЦЕПИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) энергия распада АТФ
  - 2) перекачивание протонов водорода через мембрану
  - 3) работа железосерных центров
  - 4) различная электроотрицательность переносчиков
5. В ДЫХАТЕЛЬНОМ КОНТРОЛЕ ПРОЯВЛЯЕТСЯ ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ ПО ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ОТ
  - 1) соотношения концентрации АДФ и АТФ
  - 2) концентрации НАДН
  - 3) величины потребляемого кислорода
  - 4) активности АТФ-синтетазы
6. УВЕЛИЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ГРАДИЕНТА ПРИВЕДЕТ К
  - 1) увеличению скорости перекачивания протонов
  - 2) ускорению синтеза АТФ
  - 3) повышению скорости переноса электронов
  - 4) повышенному выделению CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O

7. ЭНЕРГИЯ, ВЫСВОБОЖДАЕМАЯ ПРИ ПЕРЕНОСЕ ЭЛЕКТРОНОВ ПО ЦЕПИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ, ИСПОЛЬЗУЕТСЯ НА

- 1) перекачивание ионов  $H^+$  через мембрану
- 2) окисление железосерных центров
- 3) образование молекул воды
- 4) синтез АТФ

8. СОЗДАНИЕ ПРОТОННОГО ГРАДИЕНТА НА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЕ ОБУСЛОВЛЕНО

- 1) распадом АТФ
- 2) окислением НАДН
- 3) движением электронов
- 4) выкачиванием ионов  $H^+$  в обмен на  $Na^+$

9. ВНЕДРЕНИЕ РАЗОБЩИТЕЛЯ В МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ МЕМБРАНУ ПРИВЕДЕТ К

- 1) снижению окисления НАДН
- 2) активации синтеза АТФ
- 3) снижению переноса электронов по дыхательной цепи
- 4) увеличению протонного градиента

10. ОБРАЗУЮЩИЕСЯ В ЦИКЛЕ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ВОССТАНОВЛЕННЫЕ ЭКВИВАЛЕНТЫ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ

- 1) в цепи дыхательных ферментов
- 2) в реакциях синтеза глюкозы, жирных кислот и т. д.
- 3) для работы АТФ-синтетазы
- 4) для синтеза ацетил-КоА

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Прием внутрь разобщающих агентов вызывает обильное потоотделение и повышение температуры тела. Дайте этому объяснение на молекулярном уровне.

*Пояснить изменение соотношения  $P/O$  в присутствии разобщающих агентов.*

2. Особая жировая ткань – бурый жир – хорошо развита у некоторых животных, впадающих в зимнюю спячку или приспособленных к обитанию в холодных местностях. В митохондриях бурого жира выход АТФ на 1 атом поглощенного кислорода составляет менее 1 молекулы, в то время как других тканях 2-3 молекулы.

*Указать физиологическую функцию, которая может определяться этим низким отношением  $P/O$  в буром жире новорожденных. Предложить возможные механизмы, которые могли бы определять столь низкое отношение  $P/O$ , характерное для митохондрий бурого жира.*

## **РАЗДЕЛ 5**

### **ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ**

#### **ТЕМА 5.1. ВНЕШНИЙ ОБМЕН БЕЛКОВ**

##### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Источником белков для человека являются пищевые продукты животного и растительного происхождения. Отклонения состава пищеварительных соков от нормы или появление в них компонентов, не содержащихся в физиологических условиях, приводит к патологии пищеварения. Ухудшение переваривания белков и всасывания аминокислот может повлечь за собой недостаток синтеза белков в организме и нарушение деятельности органов и систем.

Методы анализа состава желудочного сока имеют большое значение для оценки переваривающей способности желудочного сока в норме и при патологии.

##### **ЦЕЛЬ**

Изучить ферменты, условия и механизмы переваривания белков в желудке и кишечнике.

Освоение методов качественного анализа желудочного сока для исследования секреторной функции желудка здорового организма и возможных отклонений при патологии.

##### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Строение аминокислот и белков, роль пептидной связи в организации белковой молекулы.
2. Характеристика класса ферментов «Гидролазы».
3. Понятие «азотистый баланс» и причины его изменения (равновесие, положительный и отрицательный азотистый баланс). Особенности азотистого баланса у детей.
4. Пищевые источники белка. Суточная потребность в белке у детей разного возраста и взрослых.
5. Биологическая ценность белков. Понятие эталонного белка. Клинические проявления белковой недостаточности у детей. Заболевание «квашиноркор».
6. Механизм синтеза и биологическая роль соляной кислоты желудочного сока. Понятия «гиперхлоргидрия», «гипохлоргидрия», «ахлоргидрия», «ахилия».
7. Переваривание белков в желудке и кишечнике. Характеристика ферментов желудочного сока (пепсин, гастриксин, химозин (реннин), пан-

креатического сока (трипсин, химотрипсин, эластаза, карбоксипептидазы) и кишечного сока (аминопептидазы, дипептидазы) по плану:

- место синтеза;
- механизм активации;
- оптимальные условия для работы;
- субстратная специфичность.

8. Вторичный активный транспорт аминокислот через клеточные мембраны.

9. Возрастные особенности переваривания белков и всасывания аминокислот у детей. Причины нарушения нормальных процессов переваривания и всасывания у детей и связь этих нарушений с развитием аллергических реакций. Причины и клинические проявления заболевания «целиакия».

10. Общая характеристика процесса «гниения белков» в толстом кишечнике. Причины и последствия этого процесса. Вещества, образующиеся при гниении белков.

11. Реакции превращения аминокислот под действием ферментов микрофлоры кишечника:

- реакции образования крезола и фенола;
- реакции образования скатола и индола;
- реакции образования кадаверина и путресцина;
- источники метилмеркаптана и сероводорода.

12. Обезвреживание токсичных продуктов в печени: микросомальное окисление и система конъюгации. Какие ферменты участвуют в микросомальном окислении? Строение УДФ-глюкуроновой кислоты (УДФГК) и фосфоаденозинфосфосерной кислоты (ФАФС). Реакции образования животного индикана.

13. Качественные реакции на свободную соляную кислоту. Принцип методов. Нормальная величина pH желудочного сока, клинко-диагностическое значение определения pH в желудочном соке.

14. Качественная реакция на молочную кислоту в желудочном соке. Принцип метода и нормальные показатели. Клинико-диагностическое значение.

15. Обнаружение крови и гемоглобина в желудочном соке. Принцип метода. Нормальные показатели. Клинико-диагностическое значение.

16. Беззондовый метод определения кислотности желудочного сока (ацидотест). Клинико-диагностическое значение.

### *ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ*

1. Заболевания желудочно-кишечного тракта, сопровождающиеся нарушением переваривания белков и всасывания аминокислот.
2. Характерные нарушения при белковой недостаточности и болезни «квашиноркор».

## Лабораторная работа 1

### **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА СВОБОДНУЮ СОЛЯНУЮ КИСЛОТУ В ЖЕЛУДОЧНОМ СОКЕ**

В клинической практике используют методы анализа желудочного сока для диагностики и контроля лечения заболеваний.

#### *Материал исследования*

Модельные образцы N 1, 2, 3 желудочного сока с разной кислотностью.

#### *При помощи индикатора конго красный*

##### *Принцип*

В присутствии свободной соляной кислоты в желудочном соке индикатор конго красный меняет окраску на синюю, оставаясь в слабокислой, нейтральной и щелочной среде красным (зона перехода рН 3,0-5,2).

##### *Реактивы*

Индикаторная бумага «конго красный».

##### *Проведение анализа*

На полоски индикаторной бумаги наносят стеклянной палочкой по 1 капле образцов желудочного сока.

#### *При помощи индикатора метилоранж*

##### *Принцип*

Индикатор метилоранж в присутствии свободной соляной кислоты имеет красную окраску, в щелочной среде – оранжево-желтую (зона перехода рН 3,1-4,4).

##### *Реактивы*

Индикатор метилоранж.

##### *Проведение анализа*

В пробирки вносят по 10 капель исследуемого желудочного сока, добавляют по 2 капли метилоранжа.

#### *Нормальные величины*

Желудочный сок рН 1,5-1,8

#### *Клинико-диагностическое значение*

Повышенная кислотность может отмечаться при язве двенадцатиперстной кишки и некоторых случаях язв желудка. При стрессе наблюдается vagus-опосредованное усиление секреции кислоты.

Снижение кислотности наблюдается при атрофическом гастрите, пернициозной анемии, карциноме желудка. При патологии кислотность может быть нулевой, повышенной или пониженной.

**Гиперхлоргидрия** (увеличение содержания свободной HCl и общей кислотности) имеет место при гиперацидном гастрите и часто сопровождается язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

**Гипохлоргидрия** (пониженная кислотность) встречается при гипоацидном гастрите, иногда при язвенной болезни желудка. Как следствие, снижается усвоение витаминов группы В и всасывание железа, развива-

ется железодефицитная анемия, активируются процессы гниения белков в кишечнике.

**Ахлоргидрия** (полное отсутствие соляной кислоты) и значительное снижение общей кислотности отмечается при атрофическом гастрите, пернициозной анемии, карциноме желудка. Диагноз ахлоргидрии ставится только после теста со стимуляцией секреции.

Так как при отсутствии соляной кислоты в желудке под влиянием микроорганизмов развиваются процессы брожения, то ахлоргидрия сопровождается появлением в желудке продуктов брожения – молочной, масляной, уксусной кислот, в результате у больных может быть неприятный запах изо рта.

**Ахилия** (отсутствие соляной кислоты и пепсина) связана со злокачественными новообразованиями желудка, пернициозной анемией.

#### *Оформление работы*

Отмечают принцип методов, регистрируют результаты в таблице, отмечают клинко-диагностическое значение, делают вывод о наличии патологий.

Образец желудочного сока	Изменение окраски индикатора		Величина pH
	Конго красный	Метилоранж	
1			
2			
3			

### Лабораторная работа 2

#### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА МОЛОЧНУЮ КИСЛОТУ В ЖЕЛУДОЧНОМ СОКЕ**

##### *Принцип*

Молочная кислота превращает фенолят железа (III) фиолетового цвета в малодиссоциирующую соль лактата железа желто-зеленого цвета.

##### *Реактивы*

1) 1 % р-р фенола, 2) 1 % р-р  $\text{FeCl}_3$ , 3) 40 % р-р молочной кислоты.

##### *Материал исследования*

Нормальный желудочный сок и желудочный сок с молочной кислотой.

##### *Проведение анализа*

Готовят раствор фенолята железа (III), смешивая 2,0 мл 1 % раствора фенола с 3 каплями 1 % раствора  $\text{FeCl}_3$ .

Разливают смесь в 4 пробирки:

- в первую по каплям вносят раствор молочной кислоты,
- в остальные – образец нормального желудочного сока и патологического желудочного сока с молочной кислотой.



#### *Клинико-диагностическое значение*

Кровотечение в полость желудка наблюдается при гастрите, изъязвлении стенок желудка, злокачественных опухолях. При этом под действием соляной кислоты кровь преобразуется в гематин темно-коричневого цвета, напоминающий кофейную гущу, обнаруживаемый либо при зондировании, либо окрашивающий кал в черный цвет. Кровоточивость десен также может давать положительный результат.

Свежая кровь в кале может появляться в результате травмы или кровотечения в тонком кишечнике или прямой кишке.

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

#### Лабораторная работа 4 (теоретически)

### **БЕЗЗОНДОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТНОСТИ ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА (АЦИДОТЕСТ)**

Метод беззондового определения кислотности желудочного сока удобен, надежен, щадит больного. Рекомендуются при противопоказаниях к фракционному зондированию (гипертоническая болезнь, невропатии), а также у детей младшего возраста.

#### *Принцип*

Введенный *per os* краситель (2,4-диамино-4-этоксиазо бензол) в желудке при наличии и под действием свободной соляной кислоты ( $\text{pH} < 3$ ) освобождается из драже и всасывается. Через 1,5 часа в моче определяют количество красителя. При подкислении мочи 25 % раствором  $\text{HCl}$  образуется солянокислая соль красителя красного цвета. Степень окраски мочи (количество красителя) прямо пропорциональна кислотности желудочного сока. Сопоставление окраски со шкалой служит количественным показателем кислотности.

#### *Реактивы*

1) 25 % р-р соляной кислоты, 2) драже красителя 2,4-диамино-4-этоксиазобензола, 3) таблетки кофеинбензоата натрия.

#### *Материал исследования*

«Контрольная» порция мочи и собранная через 1,5 часа после приема красителя.

#### *Проведение анализа*

Подготовка пациента: после голодания в течение 8 часов и опорожнения мочевого пузыря пациент принимает кофеинбензоат натрия (в 100 мл воды), стимулирующего желудочную секрецию и диурез.

Через 1 час собирают «контрольную» мочу. После этого пациент, не разжевывая, проглатывает драже красителя и через 1,5 часа снова собирают мочу.

Анализ проводят одновременно с обеими порциями мочи: доводят водой до 200 мл, отбирают по 5 мл разбавленной мочи, добавляют по 5 мл 25 % р-ра HCl и сравнивают со шкалой.

#### *Оформление работы*

Отмечают принцип метода и методику проведения анализа.

## **ТЕМА 5.2. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Белки выполняют ряд уникальных функций, свойственных живой материи, поддерживая в значительной мере динамичное состояние между организмом и внешней средой. Свыше 20 природных аминокислот, часть из которых являются незаменимыми, включаются в общие и специфические пути превращения, что объясняет разнообразие и разветвленность метаболизма аминокислот.

В медицине описаны многочисленные случаи нарушения этапов обмена аминокислот.

### **ЦЕЛЬ**

Изучить главные пути превращений аминокислот и транспортную систему их проникновения через клеточные мембраны.

Изучить основные реакции внутриклеточного обмена аминокислот (дезаминирование, трансаминирование, декарбоксилирование).

Научиться определять активность аминотрансфераз в сыворотке крови.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны.
2. Источники и пути превращений аминокислот в тканях. В чем особенность метаболизма глюкогенных и кетогенных аминокислот?
3. Виды дезаминирования аминокислот (восстановительное, гидролитическое, внутримолекулярное, окислительное).
4. Окислительное дезаминирование. Отличие прямого и непрямого окислительного дезаминирования.
5. Реакция прямого окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты.
6. Непрямое окислительное дезаминирование – трансдезаминирование.

7. Механизм реакций трансаминирования. Роль витамина В<sub>6</sub>. Строение витамина В<sub>6</sub> и его коферментных форм.
8. Значение реакций трансаминирования. Характеристика аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ). Реакции, катализируемые этими ферментами.
9. Особенности непрямого дезаминирования в мышечной ткани – цикл ИМФ-АМФ.
10. Судьба  $\alpha$ -кетокислот, образовавшихся в процессах дезаминирования, на примере пирувата, оксалоацетата,  $\alpha$ -кетоглутарата.
11. Реакции синтеза биогенных аминов (на примере  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, гистамина, серотонина, дофамина). Роль этих биогенных аминов.
12. Способы обезвреживания биогенных аминов. Реакции дезаминирования с участием моноаминоксидазы (МАО) и реакции метилирования.
13. Анаболическая роль аминокислот на примере креатина. Строение креатина и креатинфосфата, реакции их синтеза, локализация процесса. Биологическая роль креатинфосфата. В чем причина физиологической креатинурии у детей?
14. Определение активности АсАТ и АлАТ в сыворотке крови. Принцип метода, его клинко-диагностическое значение. Нормальные показатели.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Анаболические процессы, в которых принимают участие аминокислоты. Использование аминокислот в медицинской практике.
2. Аминоацидурии, виды, этиология и патогенез, клинические проявления, основы лечения.

### Лабораторная работа

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ**

### *Принцип*

В результате реакций трансаминирования, происходящих под действием аспартатаминотрансферазы (АсАТ, L-аспартат:2-оксоглутарат аминотрансфераза, КФ 2.6.1.1.) и аланинаминотрансферазы (АлАТ, L-аланин:2-оксоглутарат аминотрансфераза, КФ 2.6.1.2.), из аспарагиновой кислоты и аланина образуются, соответственно, оксалоацетат и пируват. Оксалоацетат, подвергаясь самопроизвольному декарбоксилированию, превращается в пируват. При добавлении кислого 2,4-динитрофенилгидразина ферментативная реакция останавливается и образуется гидразон пировиноградной кислоты. Последний в щелочной среде дает бурое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшейся пировиноградной кислоты.

### *Реактивы*

1) Р-р субстрата АсАТ: смесь  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и аспарагиновой кислоты, 2) р-р субстрата АлАТ: смесь  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и

аланина, 3) р-р 2,4-динитрофенил гидразина в 1,0 М НСl, 4) 0,4 М р-р NaOH.

Стандартный р-р пировиноградной кислоты, 0,1 ммоль/л.

*Материал исследования*

Сыворотка крови.

*Проведение анализа*

	Проба 1, стандартная, мл	Проба 2, опытная для АлАТ, мл	Проба 3, опыт- ная для АсАТ, мл
Субстратный р-р АлАТ	0,25	0,25	—
Субстратный р-р АсАТ	—	—	0,25
Стандартный раствор пировиноградной кислоты	0,05	—	—
Сыворотка крови	—	0,05	0,05
Инкубируют 30 минут при 37°C			
2,4-ДНФГ	0,25	0,25	0,25
Инкубируют при комнатной температуре в течение 20 минут			
NaOH	2,5	2,5	2,5
Инкубируют при комнатной температуре в течение 10 минут. Колориметрируют опытные и стандартную пробы против воды при 540 нм (зеленый светофильтр)			

*Расчет*

$$\text{Активность АлАТ, ммоль/л}\cdot\text{ч} = \frac{E_{\text{оп2}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 2$$

$$\text{Активность АсАТ, ммоль/л}\cdot\text{ч} = \frac{E_{\text{оп3}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 2, \text{ где}$$

$E_{\text{ст}}$ ,  $E_{\text{оп2}}$ ,  $E_{\text{оп3}}$  – соответственно оптическая плотность стандартной и опытных проб для АлАТ и АсАТ,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора, 2 – коэффициент перевода 30 минут в 1 час.

*Нормальные величины*

Сыворотка	Активность АлАТ	0,10-0,68 ммоль/л·ч
крови	Активность АсАТ	0,10-0,45 ммоль/л·ч

Коэффициент де Ритиса ( $\frac{\text{Активность АсАТ}}{\text{Активность АлАТ}}$ )	1,33±0,40
---	-----------

*Клинико-диагностическое значение*

Наиболее часто определение активности АсАТ и АлАТ используется в клинической практике для выявления патологических процессов в миокарде и печени.

В **миокарде** гораздо более высокая активность АсАТ, чем АлАТ. Повышение в крови активности обоих ферментов, особенно АсАТ, в остром периоде инфаркта миокарда является достоверным диагностическим тестом и имеется в 95 % случаев. Активность АсАТ достигает максимума

через 24—36 часов (обычно повышена в 4-5 раз) и при адекватном лечении снижается к 3-7-м суткам. При стенокардии активность ферментов в крови изменяется незначительно.

При поражении **печени** (токсический, сывороточный и инфекционный гепатит) в сыворотке крови высока активность также обоих ферментов, однако более выражено повышается активность АлАТ, чем АсАТ. При инфекционном гепатите активность ферментов повышается еще до появления желтухи. В половине случаев цирроза печени, однако, наблюдается более высокая активность АсАТ, чем АлАТ.

Коэффициент де Ритиса (отношение АсАТ/АлАТ) при инфаркте миокарда значительно увеличивается, при гепатитах снижается.

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## **ТЕМА 5.3. ПУТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ АММИАКА И ЕГО ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Непрерывное образование больших количеств аммиака в организме определяет необходимость его постоянного обезвреживания и выведения. Врожденные и приобретенные нарушения процессов обезвреживания аммиака вызывают серьезные клинические осложнения. Знание этих процессов необходимо для адекватной терапии заболеваний печени и почек, нарушений азотистого обмена.

### **ЦЕЛЬ**

Изучить основные пути обезвреживания аммиака с образованием конечных продуктов белкового обмена.

Научиться определять содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови и моче.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Основные источники аммиака в тканях. Реакции обезвреживания биогенных аминов, прямого дезаминирования глутаминовой кислоты.
2. Основные пути связывания аммиака в клетках:
  - реакция восстановительного аминирования (реаминирование), фермент и значение реакции;
  - реакции образования амидов глутаминовой и аспарагиновой кислот, отметьте их биологическое значение, опишите, в каких органах проходят эти реакции;

- реакция синтеза карбамоилфосфата.
- 3. Транспортные формы аммиака в крови (глутамин, аспарагин, аланин). Схема глюкозоаланинового цикла.
- 4. Роль печени, почек и кишечника в связывании и выведении аммиака.
- 5. Реакции орнитинового цикла синтеза мочевины. Его локализация, ферменты, значение. Связь орнитинового цикла и ЦТК.
- 6. Представление о гипераммониемиях, их причинах и последствиях. Нормальный и предельно допустимый уровни концентрации аммиака в крови. Причины токсичности аммиака.
- 7. Аммониегенез, химизм, локализация, значение.
- 8. Креатин и креатинфосфат, реакции синтеза. Биологическая роль креатинфосфата.
- 9. Креатинин, реакция образования, выведение.
- 10. Количественное определение мочевины в сыворотке крови и моче. Принцип метода, его клинко-диагностическое значение, нормальные показатели.
- 11. Количественное определение концентрации креатинина в сыворотке крови и моче. Принцип метода, его клинко-диагностическое значение, нормальные показатели.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Гипераммониемии: причины, патогенез, клинические проявления, основы лечения. Гипераммониемия новорожденных. Молекулярные механизмы токсичности аммиака.

## **Лабораторная работа 1**

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МОЧЕВИНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

#### **Принцип**

Мочевина под действием фермента уреазы гидролизуеться с образованием аммиака и  $\text{CO}_2$ . Ионы аммония в щелочной среде в присутствии нитропруссиды реагируют с салицилат-гипохлоритным реагентом, образуя окрашенный комплекс индофенола зелёного цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию мочевины.

#### **Реактивы**

1) Стабилизированный раствор уреазы, 2) салицилат-нитропруссидный реагент, 3) гипохлорит.

Стандартный раствор мочевины (8,33 ммоль/л).

#### **Материал исследования**

Сыворотка крови, моча (разведение 1:100).

#### **Проведение анализа**

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Стандарт, мл
Стабилизированный раствор уреазы	0,1	0,1	0,1
Сыворотка крови	0,01	—	—
Моча (разведение	—	0,01	—

1:100) Стандартный раствор мочевины	—	—	0,01
	Перемешивают и инкубируют при комнатной температуре 5 минут		
Салицилат-нитропруссидный реагент	1,0	1,0	1,0
Гипохлорит	1,0	1,0	1,0
	Перемешивают и инкубируют при 37°С 5 минут. Измеряют оптическую плотность проб против воды при 620 нм (красный светофильтр).		

#### Расчет

$$\text{Концентрация мочевины сыворотки, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

$$\text{Концентрация мочевины мочи, ммоль/сут} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 100 \times Д, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  – концентрация мочевины в стандартной пробе, 100 – разведение мочи,

Д – величина диуреза (1,3-1,5 л/сут).

#### Нормальные величины

Сыворотка крови	дети	1,8-6,4 ммоль/л
	взрослые	2,5-8,3 ммоль/л
Моча		330-580 ммоль/сут

#### Клинико-диагностическое значение

Уровень мочевины в сыворотке крови и моче зависит от скорости ее синтеза в печени и выделения через почки, от величины и направленности белкового обмена.

#### Сыворотка крови

Повышение уровня мочевины в крови наблюдается при заболеваниях почек (нарушении выделительной функции), нарушении почечной перфузии (застойная сердечная недостаточность), истощении запасов воды в организме при рвоте, поносах (относительное повышение концентрации), при повышенном катаболизме белка (лихорадки, голодание), при диете с высоким содержанием белка.

Снижение концентрации отмечается при диете с низким содержанием белка, при повышенной утилизации белка в тканях (дети, поздние сроки беременности), тяжелых заболеваниях печени, сопровождающихся нарушением синтеза мочевины (паренхиматозная желтуха, гепатиты, цирроз печени).

## Моча

Определение мочевины в моче позволяет следить за состоянием процессов анаболизма и катаболизма белков в организме (азотистый баланс).

Повышение концентрации мочевины в моче наблюдается при отрицательном азотистом балансе, при избыточном белковом питании, в послеоперационный период, при гиперфункции щитовидной железы, при лихорадке, голодании.

Уменьшение выделения мочевины свидетельствует о положительном азотистом балансе и наблюдается во время беременности, в период роста.

### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## Лабораторная работа 2

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КРЕАТИНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

#### *Принцип*

Креатинин в щелочной среде образует с пикриновой кислотой пикрат креатинина оранжевого цвета. Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации креатинина в биологической жидкости.

#### *Реактивы*

1) 10 % р-р NaOH; 2) насыщенный р-р пикриновой кислоты; 3) 10 % р-р трихлоруксусной кислоты (ТХУ).

Стандартный раствор креатинина, 177 мкмоль/л.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови, моча (разведение 1:50).

#### *Проведение анализа*

	<b>Опыт 1, мл</b>	<b>Опыт 2, мл</b>	<b>Стандарт, мл</b>
Сыворотка крови	0,5	—	—
Дистил. вода	1,0	—	—
10 % р-р ТХУ	0,5	—	—
	Перемешивают, затем центрифугируют при 1500 об/мин или фильтруют, предварительно смочив фильтр дистиллированной водой		
Фильтрат	1,0	—	—
Дистиллированная вода	—	0,5	0,5
Моча (разведение 1:50)	—	0,5	—
Стандартный р-р креатинина	—	—	0,5

10 % р-р NaOH	0,5	0,5	0,5
Насыщенный р-р пикриновой кислоты	0,5	0,5	0,5
	Перемешивают, через 20 минут измеряют оптическую плотность проб против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).		

#### Расчет

$$\text{Концентрация креатинина сыворотки, мкмоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 2,$$

$$\text{Концентрация креатинина мочи, ммоль/сут} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}} \times 1000} \times C_{\text{ст}} \times 50 \times Д, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб, 1000 – коэффициент пересчета мкмоль в ммоль;  $C_{\text{ст}}$  – концентрация креатинина в стандартной пробе, 2 – разведение сыворотки крови, 50 – разведение мочи,  
Д – величина диуреза (1,3-1,5 л/сут).

#### Нормальные величины

Сыворотка крови	дети до 1 года	18-35 мкмоль/л
	дети от 1 года до 12 лет	27-62 мкмоль/л
	женщины	44-97 мкмоль/л
	мужчины	52-132 мкмоль/л
Моча		4,4-17,7 ммоль/сут

#### Клинико-диагностическое значение

##### Сыворотка крови

Концентрация креатинина в крови здоровых людей относительно постоянна и зависит от состояния мышечной массы.

**Повышение** уровня креатинина в крови в 2-7 раз отмечается при острой почечной недостаточности, в особо тяжелых случаях – в 15-25 раз. Кроме того, выход креатинина из миоцитов в кровь выражен при гипертиреозе, сахарном диабете, мышечной дистрофии, обширных ожогах, при лихорадочных состояниях, частых внутримышечных инъекциях.

**Уменьшение** содержания креатинина в крови диагностического значения не имеет.

##### Моча

**Увеличение** концентрации креатинина в моче наблюдают у лиц с повышенной физической активностью, с лихорадочными состояниями. Оно отмечается при выраженной недостаточности функции печени, при сахарном и несахарном диабете, при синдроме длительного раздавливания, острых инфекциях.

*Снижение* содержания креатинина в моче обнаруживается при хроническом нефрите и других заболеваниях почек, при мышечной атрофии, лейкозах и голодании.

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## **ТЕМА 5.4. ОСОБЕННОСТИ И НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Помимо превращений, свойственных всем аминокислотам, имеются еще реакции, характерные для каждой аминокислоты. Образовавшиеся продукты могут играть важную, а иногда и решающую роль в процессах обмена веществ и определять физиологическое состояние организма. Известно более 100 болезней, обусловленных наследственными дефектами метаболизма аминокислот.

### **ЦЕЛЬ**

Изучить основные пути превращений отдельных аминокислот: глицина, серина, цистеина, метионина, фенилаланина, тирозина, триптофана и дикарбоновых аминокислот и их нарушения.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Строение протеиногенных аминокислот.
2. Источники и общие пути превращений аминокислот в тканях.
3. Пути использования дикарбоновых аминокислот (глутаминовой и аспарагиновой) и их амидов в реакциях метаболизма. Связь обмена дикарбоновых аминокислот с циклом трикарбоновых кислот.
4. Синтез глюкозы из серина, аланина, глутаминовой и аспарагиновой кислот.
5. Пути использования цистеина и его серы. Реакции синтеза таурина. Характеристика заболевания «цистиноз», его причина, клинические проявления. Цистинурия и ее причины.
6. Использование глицина и серина в организме. Реакции взаимопревращения глицина и серина, роль тетрагидрофолиевой кислоты.
7. Взаимосвязь обмена глицина, серина, метионина и цистеина:
  - реакция синтеза S-аденозилметионина из S-аденозил гомоцистеина, его роль в процессах трансметилирования при синтезе ряда веществ;
  - реакция образования гомоцистеина и пути его дальнейших превращений;

○ участие витамина В<sub>9</sub> (фолиевой кислоты), витаминов В<sub>6</sub> (пиридоксина) и В<sub>12</sub> (цианкобаламина).

8. Причины гомоцистеинемии и гомоцистинурии. Каковы сопутствующие заболевания и основы лечения?

9. Пути использования фенилаланина и тирозина. Анаболические и катаболические пути превращений тирозина. Реакция превращения фенилаланина в тирозин.

10. Характеристика заболеваний фенилкетонурия I типа (классическая) и фенилкетонурия II типа (вариантная). Дефектные ферменты, клинические проявления, основы лечения.

11. Реакции катаболизма тирозина. Ферменты, дефект которых приводит к характерным особенностям заболеваний. Основы лечения.

12. Нарушения анаболической функции тирозина – альбинизм и паркинсонизм. Молекулярные причины, характерные особенности заболеваний, основы лечения.

### *ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ*

1. Способы разделения веществ. Хроматография, ее виды. Применение разделения веществ в исследовательских и медицинских целях.

2. Искусственная почка. Гемодиализ. Принцип очищения крови и его использование при коррекции патологических состояний.

3. Фенилкетонурия, ее типы (классическая I типа, вариантная II и III типов). Материнская фенилкетонурия. Молекулярные причины, патогенез заболеваний, клинические проявления, основы лечения.

4. Катаболизм глицина до аммиака, углекислого газа или низкомолекулярных органических кислот (муравьиной, щавелевой). Глиоксилатный цикл. Нарушения катаболизма – гиперглицинемия, гипероксалурия.

5. Катаболизм аминокислот с разветвленным радикалом (лейцин, изолейцин, валин). Болезни «моча с запахом кленового сиропа» и изовалератацидемия. Клинические проявления, основы лечения.

6. Метаболизм триптофана. Причины пеллагры при нарушении обмена триптофана. Болезнь Хартнупа. Клинические проявления, основы лечения.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ БЕЛКОВ ОБУСЛОВЛЕНА
  - 1) порядком чередования аминокислот в молекуле белка
  - 2) аминокислотным составом
  - 3) молекулярной массой белков
  - 4) зарядом белковой молекулы
2. ДЛЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ В ТОЛСТОМ КИШЕЧНИКЕ, В ПЕЧЕНИ ПРИСУТСТВУЕТ ФЕРМЕНТ
  - 1) гексокиназа
  - 2) аминотрансфераза
  - 3) глюкуронилтрансфераза
  - 4) сахараза
3. ЭНТЕРОПЕПТИДАЗА ЯВЛЯЕТСЯ АКТИВАТОРОМ ФЕРМЕНТА
  - 1) пепсиноген
  - 2) трипсиноген
  - 3) химотрипсиноген
  - 4) проэластаза
4. ВЫСОКОАКТИВНЫЙ ФЕРМЕНТ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗА СОДЕРЖИТ
  - 1) никотинамидадениндинуклеотид (НАД)
  - 2) флавинадениндинуклеотид (ФАД)
  - 3) флавинмононуклеотид (ФМН)
  - 4) пиридоксальфосфат (ПАЛФ)
5. СЕРОТОНИН В РЕАКЦИИ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЯ ОБРАЗУЕТСЯ ИЗ
  - 1) гистидина
  - 2) триптофана
  - 3) тирозина
  - 4) 5-гидрокситриптофана
6. ОБРАЗОВАНИЕ  $\gamma$ -АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ КАТАЛИЗИРУЕТ
  - 1) гистидиндекарбоксилаза
  - 2) тирозинмонооксигеназа
  - 3) глутаматдекарбоксилаза
  - 4) орнитиндекарбоксилаза
7. В СОСТАВ АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ ВХОДИТ КОФЕРМЕНТ
  - 1) никотинамидадениндинуклеотид

- 2) флавинадениндинуклеотид
- 3) тиаминдифосфат
- 4) пиридоксальфосфат

#### 8. СИНТЕЗ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В ЖЕЛУДКЕ СТИМУЛИРУЕТ

- 1) тирамин
- 2) гистамин
- 3) дофамин
- 4) триптамин

#### 9. ПРИ ГИПОВИТАМИНОЗЕ С НАРУШЕН ОБМЕН АМИНОКИСЛОТЫ

- 1) тирозина
- 2) лейцина
- 3) метионина
- 4) цистеина

#### 10. СВЯЗЫВАНИЕ АММИАКА ПРОИСХОДИТ ПРИ

- 1) синтезе глутамата из 2-оксоглутарата
- 2) синтезе креатина
- 3) трансаминировании аланина
- 4) синтезе серотонина

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Больного беспокоят боли в области желудка, отрыжка с неприятным запахом «тухлых яиц», урчание и газообразование в кишечнике.

*Назвать процессы, которые могут быть причиной появления такого запаха. Дать рекомендации для нормализации процессов пищеварения.*

2. В эксперименте установлено, что добавка глутаминовой кислоты в раствор, питающий сердце, оказывает положительное воздействие на физиологическую функцию сердечной мышцы, особенно в условиях недостаточного обеспечения кислородом.

*Объяснить механизм положительного действия указанной аминокислоты на деятельность сердца.*

3. У пациента содержание мочевины в крови 2 ммоль/л, за сутки с мочой выведено 180 ммоль.

*Определить орган, функция которого нарушена. Назвать ферменты, которые необходимо исследовать для проверки предположения.*

## **РАЗДЕЛ 6**

# **СТРОЕНИЕ И ОБМЕН ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ**

### **ТЕМА 6.1. СТРОЕНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды выполняют ряд важнейших функций в клетке, одной из которых является построение нуклеиновых кислот. Нуклеиновые кислоты не являются незаменимыми пищевыми факторами, и поэтому большинство клеток организма способно к синтезу нуклеотидов. Синтез нуклеиновых кислот определяется скоростью обмена нуклеотидов.

К патологиям обмена пуриновых нуклеотидов относятся подагра, нефропатии и мочекаменная болезнь (образование уратных камней), синдром Леша-Нихана. К заболеваниям, связанным с нарушением обмена пиримидиновых нуклеотидов, относится оротатацидурия.

Нуклеотиды – лекарственные препараты (метилурацил, оротат калия), успешно применяющиеся в спортивной медицине и в клинике с лечебной целью.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение биосинтеза и катаболизма пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, знакомство с нарушениями этих процессов.

Приобретение навыков определения концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови и моче.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте, ферменты. Дальнейшая судьба пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов и оснований.

2. Синтез пуриновых нуклеотидов:

- реакции образования 5-фосфорибозиламина;
- источники атомов азота и углерода пуринового кольца;
- реакции синтеза АМФ и ГМФ из ИМФ;
- реакции превращения АМФ в АТФ, ГМФ в ГТФ.

3. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов по механизму обратной отрицательной связи. Перекрестная положительная регуляция с участием АТФ и ГТФ.

4. Катаболизм пуриновых нуклеотидов:

- реакции распада АМФ;
- реакции распада ГМФ;
- реакция образования мочевой кислоты из гипоксантина и ксантина, роль ксантиноксидазы.

5. Первичные и вторичные гиперурикемии:

- мочекаменная болезнь, причины, основы лечения;
- подагра, причины, клинические проявления, основы лечения. Механизм действия аллопуринола при лечении подагры.

6. Синдром Леша-Нихана, причины, основы лечения, прогноз.

7. Синтез пиримидиновых нуклеотидов:

- реакции синтеза УМФ и УТФ.
- реакции синтеза ЦТФ из УТФ.

8. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов по механизму обратной отрицательной связи.

9. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Роль тиоредоксина и НАДФН.

10. Синтез dТМФ. Роль тетрагидрофолиевой кислоты. Причина развития мегалобластической анемии при дефиците фолиевой кислоты. Механизм антибактериальной активности сульфаниламидных препаратов.

11. Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов. Конечные продукты процесса.

12. Заболевания, связанные с пиримидиновым обменом. Оротатацидурия, причина, клинические проявления, основы лечения.

13. Использование в медицине ингибиторов синтеза пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов на примере метотрексата, 5-фторурацила, азидотимидина.

14. Количественное определение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови и моче. Принцип метода, клинко-диагностическое значение, нормальные показатели.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Подагра: этиология, молекулярные механизмы развития, клинические проявления, лечение.

2. Мочекаменная болезнь: этиология, виды мочевых камней, диагностика и клинические проявления, лечение.

3. Ферменты синтеза рибо- и дезоксирибонуклеотидов как мишени для противовирусных и противоопухолевых препаратов.

### **Лабораторная работа**

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

### **Принцип**

Мочевая кислота расщепляется ферментом уриказой до аллантаина с одновременным образованием пероксида водорода. Последний при участии пероксидазы взаимодействует с дихлоргидроксibenзолсульфо-

натом и 4-амино-антипирином с образованием окрашенных в розово-малиновый цвет продуктов. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию мочевой кислоты и определяется фотоколориметрически.

#### *Реактивы*

1) Рабочий реактив, содержащий фенол, уриказу, пероксидазу, дихлоргидроксibenзолсульфонат и 4-аминоантипирин в калиево-фосфатном буфере.

Стандартный раствор мочевой кислоты, 500 мкмоль/л.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови. Моча (разведение 1:5).

#### *Проведение анализа*

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Стандарт, Мл
Сыворотка крови	0,025	—	—
Моча (разведение 1:5)	—	0,025	—
Стандартный раствор мочевой кислоты	—	—	0,025
Рабочий реактив	1,0	1,0	1,0
Выдерживают 10 минут при температуре 37°C. Измеряют оптическую плотность проб против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр)			

#### *Расчет*

$$\text{Концентрация мочевой кислоты сыворотки, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}},$$

$$\text{Концентрация мочевой кислоты мочи, ммоль/сут} = \frac{E_{\text{оп}} \times 5 \times Д}{E_{\text{ст}} \times 1000} \times C_{\text{ст}}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб,

$C_{\text{ст}}$  – концентрация мочевой кислоты в стандартной пробе,

5 – разведение мочи, 1000 – коэффициент пересчета мкмоль в ммоль,

Д – суточный диурез (1,3-1,5 л/сут).

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	дети	0,12-0,32 ммоль/л
	взрослые	0,16-0,45 ммоль/л
Моча		1,46-4,43 ммоль/сут

#### *Клинико-диагностическое значение*

##### Сыворотка крови

Уровень уратов в крови (мононатриевая соль в комплексе с белком) определяется интенсивностью синтеза мочевой кислоты и скоростью ее выведения из организма. Белки сыворотки стабилизируют ураты, но при снижении pH ураты кристаллизуются в тканях.

Для **первичной** гиперурикемии выделяют метаболический (наиболее частый) и почечный типы. *Метаболический* тип является следствием

усиления синтеза пуриновых нуклеотидов, например, повышенная активность фосфорибозилдифосфатсинтетазы или недостаточная активность гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы. *Почечный* тип может быть при генетически обусловленном уменьшении экскреции мочевой кислоты почками.

**Вторичная** гиперурикемия наблюдается при всех состояниях, связанных с усиленным распадом нуклеопротеинов: лейкозы, лечение цитостатиками, облучение, обширный псориаз, пернициозная анемия, гемолитическая анемия. Наиболее частой причиной является почечная недостаточность с нарушением процессов фильтрации и канальцевой секреции мочевой кислоты. Также замедление выведения уратов из организма отмечается при микседеме, гиперпаратиреозе, сахарном диабете, гестозе.

Обнаружение **гипоурикемии** диагностически малозначимо, иногда отмечается при анемии, после приема салицилатов, при избытке кортикостероидов.

### Моча

Повышение содержания мочевой кислоты в моче наблюдается при гиперурикемии непочечного происхождения. Также повышают экскрецию уратов салицилаты, соли лития.

Уменьшают концентрацию мочевой кислоты злоупотребление алкоголем, отравление солями тяжелых металлов, заболевания почек.

Так как при подагре мочевая кислота откладывается в тканях, суставных сумках, хрящах, сухожилиях, ее суточное количество в моче иногда может снижаться.

### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

1. СОЕДИНЕНИЕ, ЯВЛЯЮЩЕЕСЯ ДОНОРОМ АЗОТА В СИНТЕЗЕ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ, ЭТО
  - 1) глицин
  - 2) аспарагин
  - 3) аспартат
  - 4) глутамат
2. СОЕДИНЕНИЕ, ЯВЛЯЮЩЕЕСЯ ДОНОРОМ УГЛЕРОДА В СИНТЕЗЕ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ, ЭТО
  - 1) аспарагиновая кислота
  - 2) формил-ТГФК
  - 3) глутамин
  - 4) триптофан
3. РЕГУЛЯТОРНЫМ ФЕРМЕНТОМ СИНТЕЗА ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) ксантиноксидаза
  - 2) карбамоилфосфатсинтетаза II
  - 3) дигидрооротаза
  - 4) карбамоилфосфатсинтетаза I
4. ПРИЧИНАМИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЛЛОПУРИНОЛА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОДАГРЫ ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) конкурентное ингибирование ксантиноксидазы
  - 2) понижение концентрации гипоксантина в моче
  - 3) увеличение скорости выведения мочевой кислоты почками
  - 4) уменьшение скорости образования пуриновых оснований
5. АНТИВИТАМИНЫ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ БЛОКИРУЮТ РЕАКЦИИ
  - 1) образования dТМФ из dУМФ
  - 2) образования оротовой кислоты
  - 3) синтеза карбамоилфосфата
  - 4) образование ЦТФ из УТФ
6. ИНГИБИТОРОМ КАРБАМОИЛФОСФАТСИНТЕАЗЫ II ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) ЦТФ
  - 2) ГМФ
  - 3) dАТФ
  - 4) 5-фосфорибозил-1-пирофосфат
7. К РАЗВИТИЮ ОРОТАЦИДУРИИ ПРИВОДИТ ДЕФЕКТ ФЕРМЕНТА
  - 1) карбамоилфосфатсинтетаза I
  - 2) карбамоилфосфатсинтетаза II

- 3) ксантиноксидаза
  - 4) ОМФ-декарбоксилаза
8. КОНЕЧНЫМ ПРОДУКТОМ РАСПАДА ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ ЯВЛЯЕТСЯ
- 1) мочевины
  - 2) мочеваы кыслота
  - 3) молочная кыслота
  - 4) малоновая кыслота
9. ПРИ РАСПАДЕ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ ОБРАЗУЕТСЯ
- 1) ацетил-S-CoA
  - 2) урат натрия
  - 3) ксантин
  - 4) β-аминоизомаcляная кыслота
10. У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ЛЕША-НИХАНА ИМЕЕТСЯ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ДЕФЕКТ
- 1) ксантиноксидазы
  - 2) гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы
  - 3) гексозо-1-фосфат-уридилтрансферазы
  - 4) фосфорибозилдифосфат-синтетазы

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ**

1. Ребенок в возрасте 1 год поступил в детскую больницу с явлениями отсталости физического и умственного развития. При исследовании мочи выявлена высокая концентрация мочевоы кыслоты.

*Указать причину появления молочной кыслоты.*

2. При недостатке в рационе фолиевоы кыслоты развиваются мегалоблаcтичеcкая анемия, лейкопения, нарушаеcья cоcтояние cлизистых оболочек и кожи.

*Указать биохимическую причину описанных нарушений.*

## **РАЗДЕЛ 7 МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ**

### **ТЕМА 7.1. СИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Нуклеиновые кислоты отвечают за хранение и передачу наследственной информации. Ошибки, возникающие в процессе репликации и репарации ДНК, биосинтеза белка приводят к появлению аномального продукта и нарушению биохимических процессов в клетке. Этиология и патогенез многих заболеваний обусловлены наличием подобных наследственных или приобретенных ошибок.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение основных этапов биосинтеза нуклеиновых кислот.

Научиться выделять компоненты нуклеопротеинов из дрожжей и проводить качественные реакции для их обнаружения.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Структура нуклеиновых кислот ДНК и РНК. Строение нуклеопротеинов. Виды гистонов, особенности их строения и роль. Негистоновые белки, их функция.
2. Строение рибосом, их роль в клетке.
3. Биосинтез ДНК (репликация) у эукариот по плану:
  - суммарное уравнение,
  - связь с фазами клеточного цикла,
  - локализация процесса,
  - компоненты ДНК-синтезирующей системы,
  - основные этапы, последовательность реакций, субстраты и ферменты,
  - конечные продукты,
  - источники энергии для синтеза,
  - схема репликативной вилки, укажите расположение фрагментов Оказаки и каждого фермента репликации с учетом его функции.
4. Репарация ДНК, значение процесса.
5. Биосинтез РНК (транскрипция) у эукариот по плану:
  - суммарное уравнение,
  - связь с фазами клеточного цикла,
  - локализация процесса,
  - компоненты РНК-синтезирующей системы,
  - основные этапы, последовательность реакций, субстраты и ферменты,

- конечные продукты,
- источники энергии для синтеза,
- схема транскрипционной вилки, укажите положение промотора, ТАТА-бокса, терминатора и РНК-полимеразы.

6. Регуляция транскрипции у прокариот путем индукции синтеза (схема Жакоба-Моно) на примере лактозного оперона и путем репрессии синтеза на примере триптофанового оперона.

7. Основные способы регуляции транскрипции у эукариот.

8. Процессинг матричной РНК: сплайсинг, кэпирование, присоединение поли-А-последовательности.

9. Вторичная структура транспортной РНК, понятие о процессинге тРНК. Локализация в тРНК и роль модифицированных нуклеотидов (псевдоуридил, дигидроуридил). Адапторная роль тРНК.

10. Понятие о процессинге рибосомальной РНК. Типы рРНК у эукариот. Функция рРНК.

11. Использование ингибиторов биосинтеза РНК и ДНК в качестве лекарственных препаратов на примере доксорубина, мелфалана, новобеоцина, рифамицина. В чем состоит механизм их действия?

12. Анализ химического состава сложных белков – нуклеопротеинов. Принцип метода.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Генная инженерия, сущность, значение. Использование генной инженерии для получения лекарственных средств.
2. Генномодифицированные пищевые продукты. Перспективы развития, проблемы и решения.
3. Клонирование организмов, сущность, значение. Потенциальные возможности использования в медицине.
4. Гибридизация нуклеиновых кислот, сущность, значение. Использование в медицине и биологии.
5. Рибозимы: строение, классификация, свойства. Рибозимы как лекарственные препараты.

### **Лабораторная работа**

#### **АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА НУКЛЕОПРОТЕИНОВ**

В составе нуклеопротеинов выделяют белковую часть, пуриновые или пиримидиновые основания, углеводы рибозу и дезоксирибозу, фосфорную кислоту. В работе определяется наличие всех перечисленных компонентов.

#### **Реактивы**

1) 1 % р-р тимола в этиловом спирте, 2) 10 % р-р NaOH, 3) конц. NH<sub>4</sub>OH (аммиак), 4) молибденово-кислый аммоний, 5) конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6) 1 % р-р CuSO<sub>4</sub>, 7) 1 % аммиачный р-р AgNO<sub>3</sub>.

## Материал исследования

Гидролизат пекарских дрожжей.

## Проведение анализа

<b>Биуретовая реакция</b>	<p><i>Принцип</i> Белок с сульфатом меди в щелочной среде образует комплексное соединение с развитием розово-фиолетового или сине-фиолетового окрашивания</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель 10 % раствора NaOH и 1 каплю 1 % раствора CuSO<sub>4</sub></p>
<b>Серебряная проба на пуриновые основания</b>	<p><i>Принцип</i> Пуриновые основания (аденин и гуанин) при взаимодействии с нитратом серебра образуют через 5-10 минут рыхлый светло-коричневый осадок серебряных солей</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 10 каплям гидролизата добавляют 10 капель конц. раствора аммиака, 10 капель 1 % аммиачного раствора нитрата серебра. При стоянии образуется осадок с характерной окраской</p>
<b>Реакция Молиша на углеводные группы (β-D-рибоза)</b>	<p><i>Принцип</i> После дегидратации серной кислотой из пентоз образуется гидроксиметилфурфурол. При конденсации тимола с гидроксиметилфурфуролом развивается красное окрашивание</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 10 каплям гидролизата добавляют 2 капли раствора тимола, перемешивают и осторожно по стенке добавляют конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Наблюдают появление розового кольца в пробирке</p>
<b>Молибденовая проба на фосфорную кислоту</b>	<p><i>Принцип</i> Присутствующая в гидролизате дрожжей фосфорная кислота, взаимодействуя с молибденово-кислым аммонием в азотной кислоте, образует окрашенное в лимонно-желтый цвет комплексное соединение аммония фосфомолибдата</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 10 каплям гидролизата добавляют 20 капель молибденового реактива. Нагревают в кипящей водяной бане. После охлаждения пробирки в струе воды фосфомолибдат аммония выпадает в осадок лимонно-желтого цвета</p>

## Оформление работы

Результаты работы заносят в таблицу. Делают вывод о составе нуклеопротеинов:

Объект иссл-я	Сложные белки	Выявляемый компонент	Окрашивание	Вывод о присутствии
Дрожжи	Нуклео-протеины	Белок		
		Пуриновые основания		
		Пентозы		
		Фосфорная кислота		

## ТЕМА 7.2. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Белки, как и другие компоненты клетки, находятся в состоянии динамического равновесия, то есть непрерывно обновляются. Знание механизма биосинтеза белка и принципов его регуляции необходимо для понимания молекулярных основ и рационального использования лекарственных средств.

### ЦЕЛЬ

Изучить основные этапы биосинтеза белка и механизмы его регуляции.

Познакомиться с методом определения концентрации белка в сыворотке крови.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Строение протеиногенных аминокислот, нуклеиновых кислот ДНК и РНК. Как построены рибосомы, какова их роль в клетке?
2. Генетический код, его свойства.
3. Адапторная роль транспортной РНК. Синтез аминоксил-тРНК, специфичность аминоксил-тРНК-синтетазы.
4. Характеристика биосинтеза белка по плану:
  - суммарное уравнение,
  - связь с фазами клеточного цикла,
  - локализация процесса,
  - компоненты белок-синтезирующей системы
  - основные этапы, последовательность реакций и ферменты,
  - конечные продукты,
  - источники энергии для синтеза.
5. Посттрансляционная модификация белковых молекул. Примеры белков, созревающих при участии этих процессов. Что такое фолдинг, в чем состоит роль шаперонов?
6. Лекарственные препараты как ингибиторы биосинтеза белка. Механизм действия на примере тетрациклинов, левомицетина, эритромицина, стрептомицина.
7. Количественное определение белка в сыворотке крови биуретовым методом. Принцип метода, клинико-диагностическое значение и нормальные показатели.

### ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ

1. Шапероны. Их виды, строение, участие в стабилизации и созревании белковой молекулы. Фолдинг белков.
2. Прионы. Их происхождение и свойства. Прионные болезни.

3. Лекарственные препараты как ингибиторы матричного биосинтеза РНК, ДНК и белка. Механизм действия лекарств.

### Лабораторная работа

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БЕЛКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

### *Биуретовый метод*

#### *Принцип*

Пептидная связь в щелочной среде образует с медью комплексное соединение (биуретовая реакция). Интенсивность развивающегося сине-фиолетового окрашивания пропорциональна содержанию белка.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

#### *Реактивы*

1) Биуретовый реактив: смесь  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{NaOH}$ ; 2) 0,9 % р-р  $\text{NaCl}$ .

Стандартный р-р альбумина, 70 г/л.

#### *Проведение анализа*

	Опыт, мл	Стандарт, мл
Сыворотка крови	0,04	—
Стандартный раствор альбумина	—	0,04
Биуретовый реактив	3,0	3,0
	Выдерживают 15 минут. Измеряют оптическую плотность проб против воды на ФЭК при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр)	

#### *Расчет*

$$\text{Концентрация белка, г/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  – концентрация белка в стандартной пробе.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	дети от 1 года до 3 лет	54-85 г/л
	старшие дети и	
	взрослые	65-85 г/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Изменения концентрации общего белка в крови могут иметь как абсолютный (истинный), так и относительный характер. Изменения абсолютного характера являются следствием колебаний содержания белка в крови. Относительные изменения зависят от объема крови, то есть наблюдаются при обезвоживании или гипергидратации.

### Гиперпротеинемия

**Истинное** повышение концентрации белка в крови чаще всего связано с увеличением фракции глобулинов. Встречается при острых инфекциях (увеличение синтеза белков острой фазы), при хронических инфекциях (за счет  $\gamma$ -глобулинемии), при миеломной болезни, лимфогрануломатозе, саркоидозе.

**Относительная** гиперпротеинемия вызывается потерями внутрисосудистой жидкости в результате профузных поносов (например, холере), усиленном потоотделении, неукротимой рвоте, несахарном диабете, тяжелых и обширных ожогах, генерализованных перитонитах.

### Гипопротеинемия

Снижение концентрации белка в крови чаще всего связано с уменьшением фракции альбуминов крови.

**Абсолютная** (истинная) гипопротеинемия связана:

- с недостаточным потреблением белка с пищей – заболевания желудочно-кишечного тракта, сужение пищевода при опухолях, полное или частичное голодание;
- со снижением синтеза белка – несбалансированный аминокислотный состав пищи, хронические паренхиматозные гепатиты, интоксикации, злокачественные новообразования, лечение кортикостероидами;
- с усиленным распадом белков – кахексия, тяжелые инфекции, длительные воспалительные процессы, лихорадочные состояния, тиреотоксикозы;
- с потерей белка – нарушения проницаемости капиллярных стенок, кровоизлияния, ожоги, острые и хронические кровотечения, нефротический синдром.

**Относительная** гипопротеинемия связана с нарушением водного баланса – гипергидратация при гиперальдостеронизме, при почечной недостаточности со снижением экскреции солей, при использовании для питья морской воды, при неадекватных инфузиях солевых растворов.

### *Оформление работы*

Указывают принцип методов, ход работы, нормальные величины и результаты исследования биуретовым и рефрактометрическим методами, отмечают клинко-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. ПРАВИЛЬНО ХАРАКТЕРИЗУЕТ СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКОГО КОДА СЛЕДУЮЩЕЕ ПОЛОЖЕНИЕ
  - 1) каждому кодону соответствует до трех аминокислот
  - 2) одну аминокислоту могут кодировать несколько триплетов
  - 3) каждой аминокислоте соответствует только один кодон
  - 4) кодоны м-РНК считываются в направлении от 3' к 5' концу
2. ДЛЯ ПРОЦЕССА ТРАНСКРИПЦИИ МАТРИЦЕЙ ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) ДНК
  - 2) мРНК
  - 3) тРНК
  - 4) рРНК
3. ДЛЯ РЕАКЦИЙ ТРАНСЛЯЦИИ НЕОБХОДИМО НАЛИЧИЕ
  - 1) лизосом
  - 2) РНК-полимеразы
  - 3) м-РНК
  - 4) АТФ
4. ДЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ ПЕПТИДНЫХ СВЯЗЕЙ В ПРОЦЕССЕ СИНТЕЗА БЕЛКА НЕОБХОДИМА
  - 1) аминоксил-т-РНК синтетаза
  - 2) пептидилтрансфераза
  - 3) транслоказа
  - 4) карбоксипептидаза
5. К ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫМ ИЗМЕНЕНИЯМ, КОТОРЫЕ МОГУТ ПРОИСХОДИТЬ С БЕЛКОВЫМИ МОЛЕКУЛАМИ, ОТНОСИТСЯ
  - 1) частичный протеолиз
  - 2) полиаденилирование
  - 3) ковалентное присоединение простетической группы
  - 4) карбоксилирование
6. СИНТЕЗ БЕЛКА СТИМУЛИРУЕТ ГОРМОН
  - 1) инсулин
  - 2) глюкагон
  - 3) адреналин
  - 4) вазопрессин
7. ПРИЧИНОЙ, КОТОРАЯ ОБУСЛОВЛИВАЕТ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ МНОГОКЛЕТОЧНОГО ОРГАНИЗМА, ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) стойкая репрессия отдельных генов
  - 2) аллостерическое ингибирование различных ферментов
  - 3) различия в наборе ДНК
  - 4) различия в посттрансляционной модификации белков
8. СИНТЕЗ БЕЛКА НА СТАДИИ ИНИЦИАЦИИ ИНГИБИРУЕТ
- 1) пенициллин
  - 2) стрептомицин
  - 3) эритромицин
  - 4) хлорамфеникол
9. ПЕПТИДИЛТРАНСФЕРАЗНУЮ РЕАКЦИЮ ИНГИБИРУЕТ
- 1) хлорамфеникол
  - 2) ампициллин
  - 3) рифампицин
  - 4) эритромицин
10. ТРАНСЛОКАЗНУЮ РЕАКЦИЮ ИНГИБИРУЕТ
- 1) эритромицин
  - 2) тетрациклин
  - 3) ампициллин
  - 4) хлорамфеникол

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ**

1. В кодоне 5'-ГАА-3' информационной РНК, ответственной за синтез  $\beta$ -полипептидной цепи гемоглобина, обнаружено замещение последнего аденилового нуклеотида на уридиловый.

*Указать причину такой замены и заболевание, к которому это приведет.*

2. Противоопухолевый препарат цисплатин является ингибитором ферментов топоизомераз.

*Описать состояние опухолевых клеток при действии этого препарата.*

3. Для транспорта жиров в крови присутствуют надмолекулярные структуры – липопротеины. Некоторые из липопротеинов содержат белки, называемые апоВ-48 и апоВ-100. Известно, что синтез обоих апоВ-белков кодирует один ген, но масса белков отличается примерно в 2 раза (апоВ-48 – 241 кДа, апоВ-100 – 512 кДа).

*Предположить причину такого различия.*

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛАМ 5, 6, 7)

1. Баланс азота в организме. Понятие азотистого равновесия. Биологическая ценность белков. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Нормы потребления белка у детей и взрослых и пищевые источники белка. Что такое эталонный белок? Симптомы белковой недостаточности.

2. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Реакции образования соляной кислоты, роль  $\text{HCl}$ . Регуляция секреции соляной кислоты. Ферменты ЖКТ, экзо- и эндопептидазы, их локализация, механизм активации ферментов, их оптимум pH, специфичность. Механизм всасывания аминокислот.

3. Особенности переваривания белков и всасывания аминокислот у детей разного возраста. Причины нарушения переваривания и всасывания у детей и связь этих нарушений с развитием аллергических состояний. Что такое целиакия? Укажите причины и клинические проявления заболевания.

4. Процесс гниения белков в кишечнике. Его причины и последствия. Вещества, образующиеся в этом процессе. Системы обезвреживания токсичных продуктов в печени: микросомальное окисление, реакции конъюгации, укажите строение и роль ФАФС и УДФГК. Реакции образования животного индикана.

5. Качественные реакции на соляную кислоту в желудочном соке.

6. Обнаружение молочной кислоты в желудочном соке. Принцип метода, ход определения, нормальные показатели и клинικο-диагностическое значение.

7. Обнаружение крови и гемоглобина в желудочном соке. Принцип метода, ход определения, нормальные показатели и клинικο-диагностическое значение.

8. Беззондовый метод определения кислотности желудочного сока (ацидотест), принцип метода.

9. Источники и пути превращений аминокислот в тканях. По какому признаку аминокислоты делятся на глюкогенные и кетогенные? Использование аминокислот в медицинской практике.

10. Четыре вида реакций дезаминирования аминокислот. Особенности окислительного дезаминирования. Характеристика трансдезаминирования – механизм реакций, ферменты, коферменты, локализация процесса. Значение реакций трансаминирования. Роль цикла ИМФ-АМФ, его реакции.

11. Характеристика аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), катализируемые реакции. Метод количественного определения активности аминотрансфераз АсАТ и АлАТ в сыворотке крови. Укажите клинικο-диагностическое значение определения их активности в крови, нормальные показатели.

12. Глутаматдегидрогеназа: локализация, строение, роль, регуляция активности. Судьба азота и  $\alpha$ -кетокислот, образовавшихся в процессах дезаминирования.

13. Значение декарбоксилирования аминокислот. Роль биогенных аминов – гистамин, серотонин,  $\gamma$ -аминомасляная кислота, дофамин. Реакции синтеза биогенных аминов – химизм, ферменты, коферменты, продукты, локализация процесса. Реакции инактивации биогенных аминов.

14. Пути образования и связывания аммиака в тканях (схема). Роль печени, почек и кишечника в выведении аммиака. Каков допустимый уровень концентрации аммиака в крови? Основные причины токсичности аммиака, гипераммониемии, укажите их причины и последствия. Глюкозо-аланиновый цикл, значение, реакции.

15. Синтез мочевины, реакции, локализация, значение. Нарушения синтеза мочевины. Количественное определение мочевины в сыворотке крови и моче. Принцип метода, ход определения, нормальные показатели и клинко-диагностическое значение.

16. Аммонийогенез, реакции, их локализация, значение.

17. Синтез креатина и креатинфосфата, реакции. Биологическая роль креатинфосфата. Физиологическая креатинурия детей.

18. Синтез креатинина, реакция, локализация. Определение концентрации креатинина в сыворотке крови и моче. Принцип метода, ход определения, нормальные показатели и клинко-диагностическое значение.

19. Пути метаболизма глутаминовой и аспарагиновой кислот (схема). Реакции, в которых они принимают участие. Связь обмена аминокислот с циклом трикарбоновых кислот.

20. Пути использования цистеина и его серы (схема). Реакции синтеза таурина. Причина и последствия нарушений при цистинозе и цистинурии.

21. Пути использования серина и глицина (схема). Реакции взаимопревращения глицина и серина, реакция катаболизма глицина. Роль тетрагидрофолиевой кислоты.

22. Реакции, отражающие взаимосвязь обмена глицина, серина, метионина и цистеина. Участие фолиевой кислоты и витамина В<sub>12</sub>. Роль аденозилметионина в процессах трансметилирования. Гомоцистеинемия и гомоцистинурия, их причины и последствия.

23. Реакции синтеза веществ с участием ТГФК (dТМФ, серин, метионин). Механизм антибактериальной активности сульфаниламидных препаратов.

24. Метаболизм фенилаланина и тирозина. Пути использования тирозина (схема). Реакции синтеза тирозина из фенилаланина и его катаболизма.

25. Фенилкетонурия I и II типов: причина, клинические проявления, основы лечения.

26. Тирозинемии I, II и III типов, алкаптонурия, паркинсонизм, альбинизм: причины, характерные особенности заболеваний, основы лечения.

27. Строение нуклеопротеинов: белки, нуклеиновые кислоты. Структурные формулы азотистых оснований, нуклеозидов, нуклеотидов. Ферменты переваривания нуклеопротеинов в ЖКТ. Дальнейшая судьба пуринов и пиримидинов.

28. Строение пуринов, источники атомов азота и углерода пуринового кольца. Первые две реакции синтеза пуриновых нуклеотидов, реакции синтеза АМФ и ГМФ, превращения АМФ в АТФ, ГМФ в ГТФ. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов.

29. Реакции катаболизма пуриновых нуклеотидов до мочевого кислоты. Реутилизация гуанина и гипоксантина.

30. Нарушения катаболизма пуринов:

- гиперурикемия, ее причины, типы и последствия, основы лечения;
- мочекаменная болезнь, ее причины, типы и последствия, основы лечения;
- подагра, ее причины, типы и последствия, основы лечения;
- синдром Леша-Нихана, его причины, типы и последствия, основы лечения.

31. Синтез пиримидиновых нуклеотидов УТФ и ЦТФ, реакции, локализация, регуляция. Оротатацидурия.

32. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Роль тиоредоксина и НАДФН. Реакции синтеза dТМФ, участие метилен-ТГФК.

33. Реакции распада пиримидиновых нуклеотидов до углекислого газа, аммиака и воды.

34. Лекарственные препараты – ингибиторы синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Механизм их действия.

35. Особенности строения и отличия первичной и вторичной структур РНК и ДНК. Типы РНК, их локализация, функции. Роль гистонов в формировании третичной структуры ДНК (суперспирализация).

36. Репликация ДНК эукариот. Суммарное уравнение, ферменты ДНК-синтезирующей системы, основные этапы и особенности репликации ДНК. Связь с фазами клеточного цикла. Репарация ДНК.

37. Транскрипция РНК, ферменты и компоненты РНК-синтезирующей системы. Понятие экзонов и интронов. Процессы созревания тРНК, рРНК и мРНК. Регуляция транскрипции у прокариот путем индукции и репрессии. Способы регуляции транскрипции у экариот.

38. Этапы трансляции, компоненты белок-синтезирующей системы, ферменты, регуляция процессов. Что такое генетический код? Свойства генетического кода. Адапторная роль транспортной РНК. Реакция синтеза аминоацил-тРНК.

39. Посттрансляционная модификация белков, примеры. Что такое фолдинг? Роль шаперонов.

40. Лекарственные препараты – ингибиторы биосинтеза РНК, ДНК, белка. Механизм их действия.

41. Принцип и ход определения количества белка в сыворотке крови биуретовым методом. Нормальные показатели и клинико-диагностическое значение.

42. Определение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови и моче. Принцип метода, ход определения, нормальные показатели и клинико-диагностическое значение.

43. Анализ химического состава нуклеопротеинов. Принцип метода и ход определения.

## **РАЗДЕЛ 8**

### **СТРОЕНИЕ И ОБМЕН УГЛЕВОДОВ**

#### **ТЕМА 8.1. СТРОЕНИЕ И ВНЕШНИЙ ОБМЕН УГЛЕВОДОВ. ОБМЕН ГЛИКОГЕНА**

##### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

В организме человека и животных углеводы играют важную роль и выполняют разнообразные функции: 1) служат источником энергии, обеспечивая до 67 % суточного энергопотребления организма; 2) являются пластическим материалом клеток; 3) используются в качестве исходных продуктов для синтеза липидов, белков и нуклеиновых кислот; 4) углеводные компоненты входят в состав иммуноглобулинов и т. д. К заболеваниям, связанным с патологией углеводного обмена, относятся сахарный диабет, гликогенозы, мукополисахаридозы, галактоземии, фруктоземии, интолерантность к лактозе и сахарозе.

##### **ЦЕЛЬ**

Изучение переваривания углеводов в пищеварительном тракте. Изучение обмена гликогена – энергетического резерва организма.

##### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Биологическая роль углеводов. Суточная потребность в углеводах у взрослых и детей. Пищевые продукты – источники углеводов.

2. Классификация углеводов в зависимости от количества мономеров в молекуле (моно-, ди-, олиго- и полисахариды), в зависимости от числа углеродных атомов (триозы, тетрозы, пентозы, гексозы) и по положению карбонильной группы (альдозы и кетозы).

3. Структура и функции представителей углеводов:

- моносахаридов (глюкоза, фруктоза, галактоза, рибоза, дезоксирибоза, глицеральдегид, диоксиацетон),
- дисахаридов (мальтоза, лактоза, сахароза, целлобиоза),
- полисахаридов (крахмал, гликоген, целлюлоза).

4. Производные моносахаридов. Что такое сиаловые кислоты? Химическая формула N-ацетилнейраминовой кислоты.

5. Сложные углеводы – гликозаминогликаны. Строение гиалуроновой и хондроитинсерной кислот, их биологическая роль. Строение и роль гликопротеинов.

6. Переваривание углеводов в ротовой полости и кишечнике. Характеристика ферментов переваривания:  $\alpha$ -амилаза ротовой полости, ферменты панкреатического сока ( $\alpha$ -амилаза, олиго-1,6-глюкозидаза), фер-

ментные комплексы тонкого кишечника, отвечающие за гидролиз дисахаридов (сахаразо-изомальтазный, гликоамилазный,  $\beta$ -гликозидазный).

7. Возрастные особенности переваривания и всасывания углеводов. Биохимические причины непереносимости сахарозы и лактозы у детей.

8. Причины непереваривания целлюлозы в желудочно-кишечном тракте человека. Роль целлюлозы в пищеварении человека.

9. Транспорт моносахаридов через клеточные мембраны.

10. Пути превращения глюкозы в клетке. Источники глюкозы в клетке. Фосфорилирование глюкозы, роль реакции.

11. Превращение фруктозы в глюкозу. Пути метаболизма фруктозы. Каково значение фруктозы в обмене веществ плода и новорожденных? Эссенциальная фруктозурия.

12. Роль галактозы в организме. Превращение галактозы в глюкозу. Галактоземия, молекулярные причины, клинические проявления и основы лечения.

13. Синтез гликогена из глюкозо-6-фосфата (гликогеногенез). Распад гликогена до глюкозо-6-фосфата (гликогенолиз). Особенности обмена гликогена в печени и мышцах при некоторых физиологических состояниях (потребление пищи, голодание, мышечная активность).

14. Регуляция ферментов обмена гликогена – гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы.

- гормональная – влияние адреналина и глюкагона (аденилатциклазный механизм, роль цАМФ и протеинкиназы А); роль инсулина и участие фосфодиэстеразы в снижении концентрации цАМФ в клетке;

- аллостерическая регуляция активности гликогенфосфорилазы при участии АМФ;

- кальций-зависимая активация киназы фосфорилазы гликогена.

15. Генетические нарушения распада гликогена: печеночные, мышечные и смешанные гликогенозы. Что такое агликогеноз?

16. Особенности обмена углеводов в печени. Участие глюкокиназы и глюкозо-6-фосфатазы в обеспечении роли печени по поддержанию постоянной концентрации глюкозы в крови.

17. Углеводы – лекарственные препараты (глюкоза, гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, декстраны, гепарин, сердечные гликозиды).

18. Обнаружение глюкозы в моче. Принцип метода. Клинико-диагностическое значение.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Сиаловые кислоты. Гликозаминогликаны (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гепарин). Их характеристика: строение, биологическая роль. Использование в медицине.

2. Фруктоза: ее значение в обмене плода и новорожденных. Химизм процессов обмена фруктозы. Нарушения обмена фруктозы: эссенциальная фруктоземия, наследственная непереносимость фруктозы.

## Лабораторная работа

### **ОБНАРУЖЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПОЛОСОК «ГЛЮКОФАН»**

#### *Принцип*

Принцип определения глюкозы основан на ферментной глюкозооксидазной реакции. Зона индикации пропитана растворами ферментов глюкозооксидазы, пероксидазы и красителем тетраметилбензидином. Глюкоза с помощью глюкозооксидазы окисляется кислородом воздуха до глюконовой кислоты с образованием перекиси водорода. Перекись водорода в присутствии фермента пероксидазы окисляет краситель, и происходит переход желтой окраски в зеленую.

#### *Нормальные величины*

##### Моча

Глюкоза	тест-полоски «Глюкофан»	проба отрицательна
	другие методы	0,1-0,8 ммоль/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Уровень глюкозы в моче возрастает при всех случаях гипергликемии свыше 10 ммоль/л (почечного порога).

Глюкозурии могут быть физиологическими и патологическими. К *физиологическим* относятся алиментарная глюкозурия, глюкозурия беременных и нейрогенная глюкозурия стрессовых состояний.

*Патологическая* глюкозурия возникает чаще всего в результате выраженной гипергликемии при патологических изменениях в поджелудочной железе (острый панкреатит, сахарный диабет), надпочечниках («бронзовый» или стероидный диабет), также при тиреотоксикозе, акромегалии, инфаркте миокарда, кровоизлияниях во внутренние органы, отравлениях морфином, фосфором, при острых инфекциях.

Поражение почечных канальцев и отсутствие реабсорбции глюкозы также приводят к глюкозурии.

#### *Оформление работы*

Записывают принцип метода, результаты исследования заносят в таблицу, отмечают клинико-диагностическое значение, делают вывод о возможной патологии.

Исследуемый материал	Реакция	Результат
Нормальная моча Моча с глюкозой		

## **ТЕМА 8.2. ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Гликолиз – центральный путь катаболизма глюкозы. В анаэробных условиях гликолиз – единственный процесс в организме, поставляющий энергию. Именно благодаря гликолизу организм может существовать в условиях гипоксии. В эритроцитах анаэробное превращение углеводов является единственным процессом, продуцирующим АТФ и поддерживающим их целостность и функции. В аэробных условиях гликолиз представляет собой начальную стадию расщепления глюкозы, завершающуюся аэробным окислением образовавшихся промежуточных продуктов.

Поддержание стабильного уровня глюкозы при физической работе или голодании обеспечивается реакциями глюконеогенеза. Это вносит вклад в снижение ацидоза при данных состояниях и обеспечивает глюкозой нервную ткань и эритроциты.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение процессов гликолиза, спиртового брожения, глюконеогенеза, регуляции процессов распада и синтеза глюкозы.

Приобретение практических навыков по проведению количественного определения глюкозы в моче и сыворотке крови, молочной кислоты в гомогенате мышечной ткани.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Источники и пути превращения глюкозы в клетке. Роль глюкозо-6-фосфата в метаболизме глюкозы.

2. Характеристика процесса гликолиза (молочнокислое брожение) по плану:

- локализация и условия протекания процесса,
- последовательность реакций и ферменты,
- конечные продукты,
- участие адениловых нуклеотидов и энергетический эффект,
- необратимые реакции гликолиза,
- реакции гликолиза, сопряженные с потреблением АТФ,
- реакции субстратного фосфорилирования, их сущность и значение,
- гликолитическая оксидоредукция НАД<sup>+</sup> и НАДН, ее сущность и значение.

3. Характеристика процесса глюконеогенеза по плану:

- локализация и условия протекания реакций,

○ субстраты (молочная кислота, глицерол, аминокислоты). Откуда поступают эти вещества?

- последовательность реакций и ферменты,
- реакции глюконеогенеза, сопряженные с потреблением ГТФ и АТФ,
- необратимые реакции глюконеогенеза,
- значение при голодании и физической работе,
- расход энергии для синтеза одной молекулы глюкозы.

4. Роль гликолиза и глюконеогенеза в метаболизме плода и новорожденных.

5. Гормональная регуляция гликолиза и глюконеогенеза. Роль инсулина, адреналина, кортизола, глюкагона. Ферменты, регулируемые этими гормонами.

6. Аллостерическая регуляция гликолиза и глюконеогенеза, роль АТФ, АДФ, АМФ, цитрата, жирных кислот, глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата, фруктозо-1,6-дифосфата, ацетил-SKoA. Регулируемые ферменты.

7. Глюкозолактатный цикл (цикл Кори), его значение при физической работе. Источники молочной кислоты в организме.

8. Глюкозоаланиновый цикл, его значение при физической работе и голодании.

9. Энергетический эффект окисления глюкозы в анаэробных условиях. Сравнение энергетического эффекта анаэробного окисления глюкозы и распада гликогена до лактата.

10. Спиртовое брожение: локализация процесса, специфические реакции, условия протекания реакций, последовательность реакций, энергетический эффект, конечные продукты. Сходство и отличие спиртового брожения и гликолиза.

11. Метаболизм этилового спирта в печени при участии алкогольдегидрогеназы и ацетальдегиддегидрогеназы, последовательность реакций, конечные продукты. Энергетический эффект окисления одной молекулы этанола.

12. Влияние этилового алкоголя на обмен углеводов в организме человека. Каковы причины гиперлактатемии и гипогликемии при алкогольной интоксикации?

13. Синтез глюкозы из аланина, аспартата и глутамата. При каких условиях и где протекают реакции? В чем их значение?

14. Количественное определение содержания глюкозы в сыворотке крови и моче. Принцип метода. Нормальные показатели. Клинико-диагностическое значение.

15. Как обнаружить молочную кислоту в мышечной ткани с помощью реакции Уффельмана?

## ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ

1. Молекулярный механизм развития алкогольной интоксикации. Причины повышенной чувствительности детей к алкоголю. Хронический алкоголизм. Клинико-лабораторная диагностика.

2. Алкогольдегидрогеназа, катализируемые реакции, субстраты. Участие в биохимических и физиологических процессах. Изоферменты.

3. Глюконеогенез и его значение в метаболизме плода и новорожденного. Гипогликемия новорожденных, критерии, причины возникновения.

### Лабораторная работа 1

## ГЛЮКОЗООКСИДАЗНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ

### Принцип

Глюкоза с помощью глюкозооксидазы окисляется до глюконовой кислоты с образованием пероксида водорода. Пероксид водорода в присутствии хлорфенола при участии фермента пероксидазы окисляет краситель 4-аминоантипирин, превращая его в хинонимин, окрашенный продукт розово-малинового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию глюкозы и определяется фотоколориметрически.

### Материал исследования

Сыворотка крови. Моча.

### Реактивы

1) Рабочий реагент, содержащий фенол, глюкозооксидазу, пероксидазу, 4-аминоантипирин в калиево-фосфатном буфере.

Стандартный раствор глюкозы, 5,5 ммоль/л.

### Проведение анализа

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Стандарт, мл
Сыворотка крови	0,02	—	—
Моча	—	0,02	—
Стандартный раствор глюкозы	—	—	0,02
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0
Инкубируют в течение 25 минут при 37°C. Измеряют оптическую плотность против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр)			

### Расчет

$$\text{Концентрация глюкозы, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытных и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	взрослые	3,5-5,5 ммоль/л
Моча		0,06-0,83 ммоль/л

### *Клинико-диагностическое значение*

#### Сыворотка крови

Увеличение содержания глюкозы в крови наблюдается как при физиологических, так и при патологических состояниях.

#### Физиологические гипергликемии

К физиологическим гипергликемиям относится *алиментарная*, возникающая при одномоментном приеме больших количеств легкоусвояемых углеводов – моно- и дисахаридов, и *нейрогенная*, например, при стрессовых ситуациях в результате выброса в кровь больших количеств катехоламинов. Физиологические гипергликемии носят транзиторный характер и быстро проходят.

#### Патологические гипергликемии

Патологические гипергликемии, как правило, обусловлены нейроэндокринными расстройствами:

- сахарный диабет, связанный с абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью,
- заболевания гипофиза, сопровождающиеся повышенной секрецией в кровь соматотропина и кортикотропина (акромегалия, болезнь Иценко-Кушинга, опухоли гипофиза и др.),
- опухоли мозгового слоя надпочечников, когда усилено образование катехоламинов (феохромоцитомы),
- опухоли коркового слоя надпочечников с усиленной продукцией глюкокортикоидов,
- гиперфункция щитовидной железы, некоторые болезни печени (инфекционный гепатит, цирроз печени).

Снижение концентрации глюкозы в крови также может быть физиологическое и патологическое.

#### Физиологические гипогликемии

К физиологической гипогликемии относят избыточную секрецию в кровь инсулина в ответ на алиментарную гипергликемию; гипогликемию после тяжелой и длительной мышечной работы, при полном или частичном голодании. Гипогликемия может возникать у женщин в период лактации в результате усиленного поглощения глюкозы молочной железой. У новорожденных часто наблюдается гипогликемия, обусловленная резким прекращением поступления «материнской» глюкозы, незрелостью структуры печени и повышенной чувствительностью клеток к инсулину.

#### Патологические гипогликемии

Наблюдаются при гиперинсулинизме при гиперплазии β-клеток островков Лангерганса (инсулинома, аденома и рак поджелудочной железы). Самая распространенная причина гипогликемий – передозировка инсулина. Кроме того, гипогликемию вызывает недостаток гормона кортизола

при гипофункции коры надпочечников (Аддисонова болезнь, опухоли надпочечников), гипофункции передней доли гипофиза (болезнь Симмондса), гипофункции щитовидной железы. Гипогликемия может возникать при токсических поражениях печени, гликогенозах, при заболеваниях почек вследствие глюкозурии.

#### Моча

См. Тема 8.1.

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинко-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

### Лабораторная работа 2

## **ОБНАРУЖЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ УФФЕЛЬМАНА**

#### *Принцип*

Метод основан на взаимодействии комплексного соединения фенолята железа фиолетового цвета с молочной кислотой с образованием лактата железа желто-зеленого цвета.

#### *Материал исследования*

Мышечная ткань.

#### *Реактивы*

1) Фосфатный буфер, pH 7,2; 2) 1 % р-р фенола; 3) 1 % р-р  $\text{FeCl}_3$ .

#### *Проведение анализа*

#### 1. Приготовление экстракта мышечной ткани.

Кусочек мышечной ткани тщательно растирают в ступке с 5,0 мл фосфатного буферного раствора, перемешивают. Полученную мышечную кашицу фильтруют через 2 слоя марли или центрифугируют при 1500 об/мин.

#### 2. Цветная реакция на молочную кислоту.

В пробирке к 10 каплям 1 % раствора фенола добавляют 1 % раствор  $\text{FeCl}_3$  до появления фиолетовой окраски. Затем к содержимому пробирки добавляют 3 капли экстракта мышц и наблюдают за изменением окраски. В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска раствора переходит в желто-зеленую вследствие образования лактата железа.

#### *Практическое значение*

Молочная кислота является конечным продуктом катаболизма глюкозы в анаэробных условиях, небольшое количество лактата в мышце образуется и при аэробных условиях. Нарботка лактата активируется при мышечной нагрузке как физиологического (физическая работа), так и патологического характера (нарушение кровообращения и гипоксия мышцы, приступ эпилепсии, столбняк, тетания).

При гипоксических состояниях, связанных с сердечной и легочной недостаточностью, при анемиях и нарушениях реологии крови производство молочной кислоты активируется в большинстве тканей.

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы и результаты исследования, отмечают практическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## **ТЕМА 8.3. АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Аэробный распад глюкозы – основной путь ее катаболизма у аэробных организмов. При аэробном распаде глюкозы выделяется гораздо больше энергии, чем при анаэробном гликолизе. Промежуточные продукты окислительного катаболизма глюкозы используются также в качестве предшественников при биосинтезе аминокислот, липидов и других биомолекул. В наибольшей зависимости от аэробного распада глюкозы находится мозг. Он расходует около 120 г глюкозы в сутки.

Пентозофосфатный путь выполняет анаболическую функцию. Он обеспечивает клетку молекулами НАДФН для восстановительных синтезов и пентозами для синтеза нуклеотидов.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение реакций аэробного распада глюкозы до углекислого газа и воды и реакций пентозофосфатного пути. Изучение нервной и гормональной регуляции обмена глюкозы. Изучение нарушений обмена углеводов.

Приобретение практических навыков по проведению теста толерантности к глюкозе и построению гликемических кривых.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Источники глюкозы крови. Нормальная концентрация глюкозы в крови. Возможные причины гипо- и гипергликемий.

2. Специфические и общие пути катаболизма глюкозы. Суммарное уравнение аэробного распада глюкозы.

3. Этапы аэробного распада глюкозы: 1 – окисление глюкозы до пирувата; 2 – окислительное декарбоксилирование пирувата; 3 – цикл трикарбоновых кислот, 4 – цепь переноса электронов и образование эндогенной воды.

4. Суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувиноградной кислоты и его отдельные реакции. Компоненты мульти-

ферментного пируватдегидрогеназного комплекса, ферменты и коферменты. Регуляция процесса. Какие витамины принимают участие в работе ПВК-дегидрогеназы? Их характеристика. Какие еще ферментативные комплексы обладают подобным строением?

5. Цикл трикарбоновых кислот, ферменты и коферменты, биологическая роль цикла. Регуляция процесса.

6. Глицеролфосфатная и малатаспартатная челночные системы. Каково их значение?

7. Преимущества аэробного окисления глюкозы. Эффект Пастера, его биохимический механизм.

8. Характеристика пентозофосфатного пути окисления глюкозы по плану:

- распространение и роль пентозофосфатного пути,
- реакции окислительного этапа,
- представление о неокислительном этапе (схематично),
- ферменты, коферменты, витамины,
- взаимосвязь процесса с гликолизом,
- значение пентозофосфатного пути, например. в жировой клетке, эритроците, в делящихся клетках.

9. Образование АТФ при аэробном и анаэробном распадах глюкозы. Роль анаэробного и аэробного распадов глюкозы при мышечной работе. Как проявляется зависимость метаболизма нервной ткани от аэробного распада глюкозы?

10. Особенности окисления глюкозы в эритроците. Роль гликолиза, пентозофосфатного шунта, 2,3-дифосфоглицератного шунта.

11. Наследственная энзимопатия глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы. Факторы, провоцирующие проявление недостаточности фермента. Последствия.

12. Нервная регуляция обмена углеводов. Роль симпатической и парасимпатической систем.

13. Гормональная регуляция обмена углеводов. Влияние инсулина, адреналина, глюкагона, кортизола на уровень глюкозы крови и на внутриклеточные процессы превращения глюкозы. Гормоночувствительные ферменты обмена углеводов.

14. Характеристика сахарного диабета I и II типов. Какие пути обмена углеводов нарушены? Биохимия осложнений сахарного диабета.

15. Тест толерантности к глюкозе. Диагностическое значение параметров гликемической кривой – крутизна подъема, величина подъема, время возвращения к исходным значениям. При каких заболеваниях изменяется вид гликемической кривой?

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Функции НАДФН в метаболизме. Реакции, сопровождающиеся образованием НАДФН. Реакции синтеза веществ с его участием.

2. Молекулярные механизмы развития сахарного диабета I и II типов. Биохимические механизмы быстрых и отсроченных осложнений сахарного диабета.

### Лабораторная работа

## **ТЕСТ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ**

Тест толерантности к глюкозе (проба с сахарной нагрузкой) является информативным тестом для выявления сахарного диабета на ранних этапах, нарушений гликогенообразовательной функции печени и оценки состояния тонкого кишечника.

### *Принцип*

Тест толерантности к глюкозе основан на определении концентрации глюкозы в крови через определенные промежутки времени после приема глюкозы внутрь.

Концентрация глюкозы в крови определяется глюкозооксидазным методом (см. Тема 8. 2.).

### *Проведение теста толерантности к глюкозе*

В **клинико-диагностических лабораториях** исследуют пробы капиллярной крови, взятой натощак и через определенные промежутки времени после нагрузки глюкозой. Тест проводят следующим образом:

У обследуемого натощак берут кровь из пальца, затем дают глюкозу с теплой водой или слабым чаем. Детям в возрасте от 1,5 до 3 лет рекомендуется давать глюкозу из расчета 2,0 г на 1 кг массы тела, от 3 до 12 лет – 1,75 г/кг, после 12 лет – 1,25 г/кг. Взрослые принимают глюкозу в количестве 1,0-1,5 г/кг. Через 30, 60, 90 и 120 минут после приема глюкозы повторно берутся пробы крови. Далее определяют концентрацию глюкозы в пробах.

На **практическом занятии** метод сахарной нагрузки проводится с модельными образцами сыворотки крови, взятыми до глюкозной нагрузки, через 30, 60 и 120 минут после нагрузки. Во всех взятых пробах определяют концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом (см. Тема 8. 2.).

### *Материал исследования*

Три набора модельных образцов сыворотки крови, содержащие нормальные, сниженные и повышенные концентрации глюкозы.

### *Реактивы*

Рабочий реагент, содержащий фенол, глюкозооксидазу, пероксидазу, 4-аминоантипирин в калиево-фосфатном буфере.

Стандартный раствор глюкозы, 5,5 ммоль/л.

### Определение концентрации глюкозы

	Опытные пробы, мл				Стандартная проба, мл
	до нагруз- ки 1	время после нагрузки			
		30 минут 2	60 минут 3	120 минут 4	
Рабочий раствор	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Сыворотка крови	0,02	0,02	0,02	0,02	—
Стандарт глюкозы	—	—	—	—	0,02
	Содержимое пробирок перемешивают, инкубируют при 37°С в течение 15 минут. Измеряют оптическую плотность при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр)				

### Расчет

В каждом образце крови рассчитывают концентрацию глюкозы по формуле:

$$\text{Концентрация глюкозы, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  — оптическая плотность опытной и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  — концентрация стандартного раствора глюкозы.

### Нормальные величины

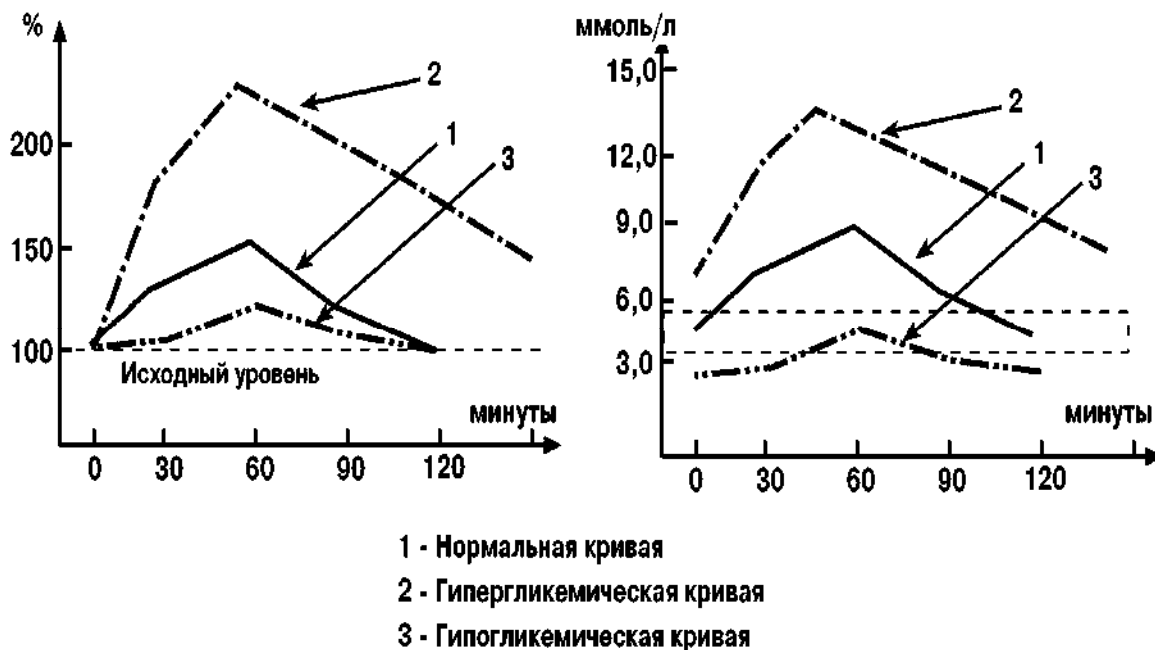
Натощак	3,5-5,5 ммоль/л	100 %
Через 60 минут	5,3-9,6 ммоль/л	150-175 %
Через 120 минут	ниже 5,3 ммоль/л	около 100 %

### Оценка гликемической кривой

Выделяют следующие типы гликемических кривых:

Тип кривой	Исходный уровень глюкозы	Максимальный подъем	Гипогликемическая фаза	Уровень глюкозы к концу 2 часа
Нормальная	Норма	Через 1 час	Через 2 часа или отсутствует	Исходный уровень
Гипергликемическая	Гипергликемия	Через 1,0-1,5 часа	Нет	Исходного уровня не достигает
Гипогликемическая	Гипогликемия	1 час	Нет	Исходный уровень

Результаты обследования обычно выражают графически, при этом их можно отражать в относительных или абсолютных единицах:



У здорового человека уровень глюкозы в крови после нагрузки глюкозой изменяется следующим образом:

1. Через 30 минут после приема глюкозы наблюдается увеличение содержания глюкозы в крови. Скорость повышения концентрации глюкозы в течение первых 30 минут (крутизна подъема) отражает силу рефлекторного раздражения окончаний симпатических нервов при попадании глюкозы в пищеварительный тракт и эффективность всасывания глюкозы в ЖКТ.

2. К 60-й минуте наблюдается максимальное повышение концентрации глюкозы в крови – на 50-75 % выше исходного. Промежуток от 30 до 60 минут связан с быстротой всасывания глюкозы, с общим состоянием печени и с ее гликогенсинтезирующей функцией.

3. Через 90-120 минут содержание глюкозы в крови возвращается к норме. Снижение уровня глюкозы в крови в этом периоде объясняется усиленным выделением инсулина из поджелудочной железы. Степень снижения отражает функциональную активность парасимпатического отдела нервной системы, гликогенсинтезирующую функцию печени, чувствительность к инсулину мышечной и жировой тканей. В ряде случаев концентрация глюкозы может опускаться ниже исходной величины, так как обычно выделяется больше инсулина, чем это требуется для восстановления нормального уровня глюкозы в крови, что и приводит к небольшой гипогликемии.

У здорового человека нагрузка глюкозой не вызывает глюкозурию.

#### *Клинико-диагностическое значение*

Гипергликемические кривые отмечаются при повреждениях паренхимы печени, заболеваниях центральной нервной системы, скрытых формах сахарного диабета, гиперфункции щитовидной железы и коры

надпочечников, инфекционных заболеваниях (ревматизм, дифтерия, тиф, дизентерия, сепсис, бронхопневмония), панкреатите, гликогеновых болезнях.

Гипогликемические кривые наблюдаются при аденоме островков Лангерганса, гипотиреозе, аддисоновой болезни, энцефалите, заболеваниях кишечника, дисбактериозах, гельминтозах.

#### *Оформление работы*

Записывают принцип построения гликемических кривых, отмечают полученные значения, строят по ним гликемическую кривую в абсолютных и относительных единицах.

Номер пробы	Концентрация глюкозы в крови			
	до нагрузки	Время после нагрузки		
		30 минут	60 минут	120 минут

Отмечают клинико-диагностическое значение метода. Делают вывод о возможных причинах изменения формы гликемических кривых.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

### 1. МАЛЬТАЗА СИНТЕЗИРУЕТСЯ КЛЕТКАМИ

- 1) поджелудочной железы
- 2) слизистой желудка
- 3) слизистой тонкого кишечника
- 4) слизистой толстого кишечника

### 2. УГЛЕВОД СО СТРУКТУРОЙ ГЛЮКОЗА–ФРУКТОЗА, СОЕДИНЕННЫХ $\alpha$ -1,2-ГЛИКОЗИДНОЙ СВЯЗЬЮ, НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) лактоза
- 2) мальтоза
- 3) сахароза
- 4) фрагмент крахмала

### 3. ПРИ ПИЩЕВАРЕНИИ ПРОИСХОДИТ

- 1) распад дисахаридов до  $\text{CO}_2$  и воды
- 2) расщепление полисахаридов до олиго- и моносахаридов
- 3) гидролиз целлюлозы
- 4) распад глюкозы с образованием лактата

### 4. КЛЮЧЕВОЙ ФЕРМЕНТ МОБИЛИЗАЦИИ ГЛИКОГЕНА НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) гликогенсинтаза
- 2) амилаза
- 3) гексокиназа
- 4) гликогенфосфорилаза

### 5. ПРОЦЕССЫ АНАЭРОБНОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В ЛАКТАТ АКТИВНО ПРОТЕКАЮТ В

- 1) клетках нервной ткани
- 2) клетках коркового слоя почек
- 3) эритроцитах
- 4) миокардиоцитах

### 6. КОНЕЧНЫЙ ПРОДУКТ ГЛИКОЛИЗА ЛАКТАТ МОЖЕТ БЫТЬ РЕСИНТЕЗИРОВАН В ГЛЮКОЗУ В КЛЕТКАХ

- 1) мышечной ткани
- 2) нервной ткани
- 3) печени
- 4) ткани почки

### 7. ПРИ КРАТКОМ ГОЛОДАНИИ АКТИВИРУЕТСЯ

- 1) гликолиз в мышцах

- 2) гликогенолиз в сердечной ткани
  - 3) гликогенолиз в печени
  - 4) синтез гликогена в печени
8. ПРИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОМ (БОЛЕЕ СУТОК) ГОЛОДАНИИ АКТИВИРУЕТСЯ
- 1) гликолиз в мышцах
  - 2) гликогенолиз в печени
  - 3) глюконеогенез
  - 4) синтез гликогена в печени
9. СКОРОСТЬ ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА УВЕЛИЧИВАЕТСЯ
- 1) кортизолом
  - 2) повышенной концентрацией АДФ и АМФ
  - 3) инсулином
  - 4) высокой концентрацией НАД и ФАД
10. РОЛЬ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В
- 1) образовании глюкозы
  - 2) генерации НАДФН
  - 3) снабжении тканей АТФ
  - 4) образовании лактата

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ**

1. Ребенку 7 лет необходимо определить сахар крови для выявления сахарного диабета. Ребенок перед проведением пробы в лаборатории очень волновался, плакал. Установлено, что у ребенка уровень сахара в крови выше нормы.

*Указать причины гипергликемии.*

2. Один спортсмен пробежал на соревнованиях дистанцию 100 м, другой — 5000 метров.

*Охарактеризовать содержание молочной кислоты в крови у этих спортсменов.*

3. Предположить изменение соотношения между пентозофосфатным и гликолитическим путями обмена углеводов в костном мозге у больного, перенесшего кровотечение.

*Указать ферменты, которые целесообразно исследовать для проверки предположения.*

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛУ 8)

1. Роль углеводов в организме. Классификация углеводов по структуре и функциям. Строение основных представителей углеводов: моносахаридов (триозы, пентозы, гексозы), ди- и полисахаридов. Роль и структурные формулы гликозаминогликанов: нейраминовая и N-ацетилнейраминовая, гиалуроновая и хондроитинсерная кислоты. Примеры использования углеводов в качестве лекарственных препаратов.

2. Углеводы, находящиеся в продуктах питания. Где и какими ферментами происходит их переваривание? Механизм всасывания глюкозы. Роль целлюлозы в пищеварении. Причины интолерантности к сахарозе и лактозе.

3. Обнаружение глюкозы в моче. Принцип метода. Клинико-диагностическое значение.

4. Роль печени в обмене углеводов при различных ситуациях. Особенности функционирования ферментов глюкокиназы и глюкозо-6-фосфатазы. Реакции взаимопревращения углеводов: метаболизм галактозы и фруктозы в организме и его нарушения.

5. Реакции биосинтеза гликогена и гликогенолиза, физиологическое значение процессов. Энергетический эффект использования гликогена в аэробных и анаэробных условиях. Регуляция активности фосфорилазы и синтазы гликогена (роль цАМФ, ионов кальция и кальмодулина). Особенности обмена гликогена в печени и в мышцах. Характеристика гликогенозов и агликогенозов, дефектные ферменты и последствия.

6. Источники и пути превращения глюкозы в тканях (схема). Характеристика окисления глюкозы в анаэробных условиях: последовательность реакций гликолиза, балансовое уравнение, энергетический эффект, регуляция, способ образования АТФ, локализация процесса. Дальнейшая судьба молочной кислоты. Укажите роль анаэробного распада глюкозы в эритроцитах и в мышечной ткани.

7. Последовательность реакций спиртового брожения, его балансовое уравнение, энергетический эффект, способ образования АТФ, локализация процесса. Сходства и отличия гликолиза и спиртового брожения.

8. Метаболизм этанола в организме человека. Локализация ферментов. В чем причина гипогликемии и лактоацидоза при алкогольном отравлении?

9. Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови глюкозооксидазным методом. Принцип метода, ход определения, клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

10. Обнаружение молочной кислоты в мышцах реакцией Уффельмана. Принцип метода и ход анализа, практическое значение.

11. Реакции окисления глюкозы в аэробных условиях: последовательность реакций, энергетический эффект. Эффект Пастера, его биохимическое значение.

мические механизмы. Реакции функционирования глицеролфосфатной и малатаспартатной челночных систем, отметьте источник НАДН. Роль аэробного распада глюкозы в мозге.

12. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы, локализация. Реакции окислительного этапа образования пентоз. Реакции неокислительного этапа (схема). Роль 1-го и 2-го этапов ПФП в жировой ткани и эритроцитах, в делящихся клетках, его связь с гликолизом. Регуляция процесса. Последствия энзимопатии глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы.

13. Последовательность реакций глюконеогенеза, укажите возможные предшественники, его значение. Регуляция глюконеогенеза. Глюкозолактатный цикл (цикл Кори) и глюкозоаланиновый цикл (схемы), их роль. Реакции синтеза глюкозы из аминокислот на примере аланина, аспартата и глутамата.

14. Реакции обмена углеводов, сопровождающиеся образованием углекислого газа и использующие его.

15. Что такое аллостерическая регуляция ферментов? На какие ферменты влияют промежуточные метаболиты обмена углеводов, НАДН, АТФ и АМФ?

16. Регуляция концентрация глюкозы в крови. Источники и пути использования глюкозы крови. Влияние на эти процессы инсулина, глюкагона, адреналина и кортизола. Изменение обмена углеводов при голодании, при физической нагрузке и после еды.

17. Типы сахарного диабета. В чем заключается нарушение обмена углеводов при сахарном диабете I и II типов?

18. Тест толерантности к глюкозе. Принцип метода, этапы и ход проведения. Клинико-диагностическое значение теста. Нормальные значения гликемической кривой. Форма нормальной, гипо- и гипергликемических кривых. От чего зависит форма кривой?

19. Этапы обмена веществ и их взаимосвязь. Какие, кроме АТФ, существуют высокоэнергетические соединения? Цикл АТФ-АДФ. Основные способы фосфорилирования АДФ и пути использования АТФ. Общая схема катаболизма белков, жиров и углеводов в организме, специфические и общие пути катаболизма, их значение.

20. НАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена углеводов. Структурные формулы окисленной и восстановленной форм НАД. Характеристика витамина, входящего в состав НАД<sup>+</sup>: биологическое название, признаки недостаточности, суточная потребность, пищевые источники.

21. ФАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена углеводов. Структурные формулы окисленной и восстановленной форм ФАД. Характеристика витамина, входящего в состав ФАД: биологическое название, признаки недостаточности, суточная потребность, пищевые источники.

22. Последовательность реакций окислительного декарбоксилирования пирувата, связь с дыхательной цепью. Регуляция процесса. Участие

витаминов в процессе и их характеристика: биологическое название, признаки недостаточности, суточная потребность, пищевые источники.

23. Последовательность реакций цикла трикарбоновых кислот, связь с дыхательной цепью. Регуляция реакций. Участие витаминов в процессе, их характеристика, энергетический эффект.

24. Принцип окислительного фосфорилирования. Схема структурной организации дыхательной цепи. Сопряжение окисления с фосфорилированием. Строение  $H^+$ -АТФ-синтазы. Коэффициент P/O для НАДН и ФАДН<sub>2</sub>. Механизм дыхательного контроля. Каким образом влияет АТФ на окислительное фосфорилирование?

25. Разобщение дыхания и фосфорилирования. От чего зависит теплообразующая функция бурой жировой ткани? Ингибиторы дыхательной цепи. Причины гипознергетических состояний. Коэффициент P/O и количество образующихся молекул АТФ при полном окислении глюкозы.

## РАЗДЕЛ 9

# СТРОЕНИЕ И ОБМЕН ЛИПИДОВ

### ТЕМА 9.1. СТРОЕНИЕ И ВНЕШНИЙ ОБМЕН ЛИПИДОВ

#### АКТУАЛЬНОСТЬ

Липиды – низкомолекулярные органические вещества разнообразные по химической структуре и функциям, нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях. К липидам относятся триацилглицеролы, сложные липиды (фосфолипиды, гликолипиды, сфинголипиды), холестерол (в том числе как предшественник желчных кислот, гормонов, витамина D). Многочисленность биологических функций липидов определяет необходимость их изучения.

#### ЦЕЛЬ

Изучение строения и биологической роли липидов, особенностей их переваривания и всасывания.

Приобретение практических навыков по определению состава фосфолипидов.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Классификация липидов. Характеристика основных групп липидов по схеме:

- химическая структура,
- физико-химические свойства,
- биологическая роль.

2. Характеристика жирных кислот по схеме:

- классификация по числу атомов углерода, двойных связей и их положению,
- источники насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот для организма,
- пути использования насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот в клетке,
- биологическая роль.

3. Жирные кислоты  $\omega$ -6-ряда (линолевая,  $\gamma$ -линоленовая, арахидоновая кислоты) и  $\omega$ -3-ряда ( $\alpha$ -линоленовая, эйкозопентаеновая, докозгексаеновая кислоты). Их длина и положение двойных связей. Биологическая роль полиненасыщенных жирных кислот.

4. Характеристика производных эйкозотриеновой ( $\omega$ -6), арахидоновой ( $\omega$ -6) и эйкозопентаеновой ( $\omega$ -3) кислот – эйкозаноиды (простагландины, простациклины, лейкотриены, тромбоксаны). Биологическая роль

отдельных типов эйкозаноидов. Схема начальных реакций синтеза на примере арахидоновой кислоты. Роль ферментов – фосфолипаза A<sub>2</sub>, циклооксигеназа, липоксигеназа. Какие гормоны и лекарственные вещества влияют на синтез эйкозаноидов?

5. Строение триацилглицеролов, жирные кислоты, входящие в их состав. Характеристика класса триацилглицеролов (нейтральные жиры), их биологическая роль и функции.

6. Химическая формула холестерина, его биологическая роль и функции. Производные холестерина.

7. Характеристика сложных липидов:

- глицерофосфолипиды (фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол), их химическая формула, биологические функции,

- сфингофосфолипиды (сфингомиелины), их строение. Биологические функции сфинголипидов,

- гликолипиды (цереброзиды, сульфоллипиды и ганглиозиды), их строение. Биологические функции гликолипидов.

8. Внешний обмен липидов. Пищевые источники липидов, суточная потребность детей и взрослых в жидких и твердых жирах.

9. Состав желчи и ее роль для организма и в переваривании липидов. Виды желчных кислот, их функции, строение. Реакции синтеза желчных кислот на примере холевой кислоты, участие витаминов в этом процессе. Химическая формула таурохолевой и гликохолевой кислот. Причины и последствия нарушения желчеобразования и секреции желчи.

10. Что такое эмульсия, в чем состоят характерные особенности эмульсий? Роль желчи и желчных кислот в эмульгировании пищевого жира. Схема эмульгированной капли жира.

11. Ферменты, осуществляющие переваривание триацилглицеролов, фосфолипидов и эфиров холестерина в тонком кишечнике. Место образования и способ активации этих ферментов.

12. Мицеллообразование продуктами переваривания жиров. Схема строения мицеллы, образуемой после окончания переваривания липидов. Какова их роль во всасывании липидов?

13. Особенности переваривания липидов у детей.

14. Возможные причины нарушения переваривания и всасывания пищевого жира. Причины гиповитаминозов и стеатореи при нарушении переваривания липидов.

15. Ресинтез липидов в энтероцитах, его роль. Реакции ресинтеза триацилглицеролов, эфиров холестерина и фосфолипидов в стенке кишечника.

16. Состав хиломикронов, их функции. Апобелки. Схема строения хиломикрона. Утилизация хиломикронов в тканях. Роль липопротеинлипазы. От каких гормонов зависит ее активность?

17. Характеристика липопротеинов очень низкой плотности: их состав, соотношение липидных фракций, значение. Апобелки, их функция.

Схема строения ЛПОНП. Где и когда образуются эти липопротеины? Утилизация ЛПОНП в тканях. Роль липопротеинлипазы.

18. Характеристика нарушений транспорта триацилглицеролов в ткани – дислипопротеинемии I и V типов. Их причина и клинические последствия.

19. Исследование состава фосфатидилхолина яичного желтка. Принцип определения составных элементов.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Использование липидов в качестве лекарственных препаратов и биологически активных добавок (эссенциале, лецитин, холевая кислота,  $\omega$ -3-жирные кислоты и др.).

2. Ненасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты. Типы, структурная роль, участие в метаболизме и поведенческих реакциях.

3. Липосомы в медицине. Строение и характеристика липосом. Возможность использования для транспорта лекарственных средств в крови.

4. Гликолипиды, структура липидных и углеводных компонентов. Функции гликолипидов. Нарушение обмена гликолипидов.

### Лабораторная работа

#### **ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФОСФАТИДИЛХОЛИНА**

##### *Принцип*

Метод основан на гидролизе фосфатидилхолина (лецитина) яичного желтка при нагревании в растворе NaOH с последующим определением в гидролизате его структурных компонентов: жирных кислот, глицерола, холина, фосфорной кислоты.

##### *Материал исследования*

Сухой желток куриного яйца.

##### *Реактивы*

1) 10 % р-р NaOH, 2) 10 % р-р HCl, 3) конц. HNO<sub>3</sub>, 4) молибденовый реактив, 5) 1 % р-р CuSO<sub>4</sub>.

##### *Проведение анализа*

##### 1. Гидролиз фосфатидилхолина

Кусочек яичного желтка помещают в пробирку, добавляют 3-4 мл 10 % раствора NaOH, кипятят в водяной бане 15 минут.

##### 2. Гидролизат делят на 3 пробирки

<b>Открытие холина</b>	Холин при нагревании в щелочной среде превращается в триметиламин N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , который обнаруживается в конце гидролиза по запаху селедочного рассола
<b>Открытие жирных кислот</b>	К гидролизату 1-й пробирки прибавляют по каплям 10 % раствор HCl до появления хлопьевидной взвеси жирных кислот

<b>Открытие фосфорной кислоты</b>	Ко 2-й части гидролизата осторожно добавляют 5-7 капель концентрированной $\text{HNO}_3$ и по каплям молибденовый реактив до появления желтого осадка фосфомолибдата аммония. При необходимости нагревают в кипящей водяной бане. После охлаждения пробирки в струе воды фосфомолибдат аммония выпадает в осадок
<b>Обнаружение глицерола</b>	К 3-й части гидролизата добавляют 5 капель 10 % раствора $\text{NaOH}$ и 1 каплю 1 % раствора $\text{CuSO}_4$ , перемешивают. Образуется хелатное соединение меди с глицеролом ярко-синего цвета

### *Оформление работы*

Записывают результат реакций и выводы в виде таблицы:

<b>Продукты гидролиза фосфатидилхолина</b>	<b>Результат реакции</b>	<b>Вывод о наличии</b>
Холин Жирные кислоты Фосфорная кислота Глицерол		

## **ТЕМА 9.2. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Триацилглицеролы (нейтральные жиры) – сложные эфиры глицерола и высших жирных кислот. Знание особенностей обмена нейтральных жиров необходимо для понимания метаболических сдвигов при голодании и мышечной работе, для изучения патогенеза таких заболеваний, как ожирение, сахарный диабет, атеросклероз.

Знакомство с методом определения в крови содержания триацилглицеролов позволяет использовать эти сведения для диагностики заболеваний, связанных с нарушением липидного обмена.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение метаболизма триацилглицеролов и его регуляции. Транспортные формы триацилглицеролов.

Приобретение практических навыков определения концентрации триацилглицеролов в крови.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Реакции цикла трикарбоновых кислот, их связь с дыхательной цепью и выход энергии. Процесс окислительного фосфорилирования. Понятие дыхательного контроля.

2. Характеристика синтеза жирных кислот из глюкозы по плану:

- локализация и условия протекания процесса,
- реакции образования ацетил-SКоА из глюкозы,
- роль цитрата в переносе ацетильной группы в цитозоль, его дальнейшие превращения,
- реакция синтеза малонил-SКоА,
- строение мультиферментного синтазного комплекса, химизм реакций, происходящих в комплексе,
- конечный продукт синтеза,
- участие витаминов и коферментов, источники НАДФН, роль «малик»-фермента,
- регуляция процесса при участии гормонов инсулина, адреналина, глюкагона,
- влияние АТФ, ацил-SКоА, малонил-SКоА, цитрата на реакции синтеза жирных кислот.

3. Реакции синтеза глицерол-3-фосфата из глюкозы. Локализация и роль процесса.

4. Реакции синтеза фосфатидной кислоты из жирных кислот и глицерол-3-фосфата по плану:

- локализация в клетке,
- источники глицерол-3-фосфата, жирных кислот и энергии,
- последовательность реакций,
- связь с обменом углеводов,
- дальнейшие пути использования фосфатидной кислоты.

5. Строение триацилглицеролов, их жирно-кислотный состав. Реакции синтеза триацилглицеролов (липогенез). Условия протекания липогенеза в печени и жировой ткани. Связь синтеза триацилглицеролов с обменом углеводов.

6. Источники ТАГ в печени. Характеристика липопротеинов очень низкой плотности: их состав, апобелки, функция. Схема строения ЛПОНП. Условия, при которых образуются эти липопротеины. Утилизация ЛПОНП в тканях. Роль липопротеинлипазы.

7. Сходство и отличие биосинтеза триацилглицеролов в жировой ткани и печени.

8. Характеристика реакций липолиза по плану:

- локализация и условия протекания процесса,
- последовательность реакций и ферменты,
- конечные продукты,
- гормональная регуляция процесса,
- транспорт и использование свободных жирных кислот, образующихся при липолизе.

9. Гормоночувствительная липаза, роль аденилатциклазной системы в регуляции ее активности. Регуляция липазы гормонами адреналином, глюкагоном, кортизолом и инсулином. Аллостерическая регуляция активности ферментов липолиза и липогенеза.

10. Реакции окисления глицерола до пирувата. Возможные пути метаболизма пирувата. Энергетический выход окисления глицерола в аэробных и анаэробных условиях.

11. Реакции окисления жирных кислот до углекислого газа и воды:

- роль карнитина в окислении жирных кислот,
- локализация и условия протекания  $\beta$ -окисления,
- последовательность реакций  $\beta$ -окисления и ферменты,
- участие витаминов и коферментов,
- конечные продукты,
- связь с ЦТК и дыхательной цепью,
- энергетический выход процесса,
- расчет энергетической ценности  $\beta$ -окисления пальмитиновой кислоты.

12. Особенности обмена триацилглицеролов при некоторых физиологических состояниях (потребление пищи, голодание, мышечная активность). В чем особенность бурой жировой ткани?

13. Причины нарушений обмена триацилглицеролов – ожирение, гиперлиппротеинемия I типа (гиперхиломикронемия) и V типа.

14. Реакции синтеза кетоновых тел. Условия, локализация и роль процесса. Реакции утилизации кетоновых тел в тканях. Причины кетоацидоза при голодании и сахарном диабете. Роль дефицита оксалоацетата для активации кетогенеза.

15. Исследование концентрации триацилглицеролов в сыворотке крови. Клинико-диагностическое значение и нормальные показатели.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Белая и бурая жировая ткань. Распределение в организме и метаболические особенности. Роль в организме.

2. Первичные и вторичные ацетонемические состояния у детей.

3. Современные представления о роли L-карнитина в организме. Участие карнитина в пре- и постнатальном развитии ребенка. Предполагаемая роль карнитина в патогенезе синдрома «смерти в колыбели».

### **Лабораторная работа**

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

#### ***Принцип***

Метод основан на использовании сопряженных ферментативных реакций, осуществляемых: 1) липазой, катализирующей гидролиз триацилглицеролов до спирта глицерола и жирных кислот; 2) глицеролкиназой, катализирующей фосфорилирование глицерола; 3) глицеролфосфатоксидазой, окисляющей глицерол-3-фосфат в присутствии  $O_2$  до диоксиацетонфосфата с образованием  $H_2O_2$ ; 4) пероксидазой, катализирующей в присутствии хлорфенола окисление перекисью водорода 4-

аминоантипирина с образованием хинонимина, окрашенного продукта розово-малинового цвета.

*Материал исследования*

Сыворотка крови.

*Реактивы*

Рабочий реактив: раствор липазы, глицеролкиназы, глицеролфосфатоксидазы, пероксидазы, хлорфенола, 4-аминоантипирина в буферном растворе. Стандартный раствор триацилглицерола (триолеат), 2,29 ммоль/л.

*Проведение анализа*

	Опыт, мл	Стандарт, мл
Сыворотка крови	0,03	—
Стандартный р-р триацилглицерола	—	0,03
Рабочий реактив	3,0	3,0
Инкубируют 20 минут при 20-25°C, измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб против воды при 540 нм (зеленый светофильтр)		

*Расчет*

Концентрация триацилглицеролов, ммоль/л =  $\frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$ , где

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора

*Нормальные показатели*

Сыворотка крови	дети	0,15-1,56 ммоль/л
	взрослые	0,45-1,71 ммоль/л

*Клинико-диагностическое значение*

Определение концентрации триацилглицеролов наиболее информативно для типирования первичного нарушения их обмена – гиперлипотеинемий.

Повышение уровня триацилглицеролов наблюдается при ожирении, сахарном диабете, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, панкреатитах, хронической почечной недостаточности и нефротическом синдроме, гипотиреозе, атеросклерозе, алкоголизме.

Снижение концентрации триацилглицеролов отмечается при гипертиреозе, хронических обструктивных заболеваниях легких, терминальных стадиях поражения печени, синдроме мальабсорбции.

*Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## **ТЕМА 9.3. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ФОСФОЛИПИДОВ И ХОЛЕСТЕРОЛА. ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ В КРОВИ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Фосфолипиды и холестерол входят в состав клеточных мембран, участвуют в образовании липопротеинов. При нарушении синтеза фосфолипидов будет изменяться нормальный метаболизм клеток и образование транспортных липопротеинов.

Нарушения обмена холестерина проявляются такими распространенными заболеваниями, как атеросклероз и желчекаменная болезнь.

В кардиологии используют лекарственные препараты, оказывающие влияние на реакции синтеза холестерина в тканях, на обмен липопротеинов низкой и высокой плотности в плазме крови.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение обмена, транспорта и функций фосфолипидов и холестерина.

Приобретение практических навыков, позволяющих изучить концентрацию общего холестерина в сыворотке крови.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Строение фосфолипидов: фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол. Биологическая роль.

2. Катаболизм фосфолипидов. Ферменты, расщепляющие фосфолипиды в кишечнике и тканях. Роль фосфолипаз A<sub>2</sub> и C.

3. Характеристика синтеза фосфатидной кислоты из жирных кислот и глицерола по плану:

- локализация в клетке,
- источники глицерола, жирных кислот и энергии,
- последовательность реакций,
- связь с обменом углеводов,
- дальнейшие пути использования фосфатидной кислоты.

4. Реакции взаимосвязи обмена глицина, серина, метионина, участие в них витаминов B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> и фолиевой кислоты (см. Тема 5.4.). Реакция синтеза S-аденозилметионина из S-аденозил гомоцистеина, его роль в процессах трансметилирования при синтезе ряда веществ, в том числе фосфатадилхолина.

5. Реакции биосинтеза фосфолипидов в тканях. Два пути биосинтеза фосфолипидов. Роль аминокислот и витаминов в этом процессе. Липотропные вещества, реакции, в которых они участвуют. Причины нарушения синтеза фосфолипидов. Причины и последствия жирового перерождения печени.

6. Химическое строение и биологическая роль холестерина. Пищевые источники холестерина. Пути выведения холестерина из организма.

7. Характеристика транспорта свободного холестерина и его эфиров в плазме крови. Состав и строение липопротеинов низкой и высокой плотности. Типы апобелков, их функции. Метаболизм ЛПНП и ЛПВП в плазме крови. Реакция, катализируемая лецитин: холестеролацилтрансферазой (ЛХАТ).

8. Локализация и роль апо-В100-рецептора. Значение рецепторопосредованного эндоцитоза ЛПНП и пути метаболизма их компонентов после эндоцитоза. Роль ацил-SКоА:холестерол-ацилтрансферазы (АХАТ).

9. Реакции синтеза мевалоновой кислоты. Схема дальнейших этапов синтеза холестерина. Связь синтеза холестерина с обменом углеводов. Регуляция синтеза. Гормональный и аллостерический механизмы регуляции. Лекарственная регуляция синтеза холестерина.

10. Характеристика нарушений обмена холестерина – гиперлипотеинемия IIa типа (семейная гиперхолестеролемиа), атеросклероз (по стадиям), желчекаменная болезнь. Причины, последствия, основы лечения.

11. Характеристика образования в организме ацетил-SКоА: катаболизм глюкозы, аминокислот, жирных кислот и кетонových тел. Пути использования ацетил-SКоА: ЦТК, синтез жирных кислот, холестерина, кетонových тел. При каких условиях и в каких органах происходят те или иные процессы?

12. Липидозы: лизосомные болезни накопления липидов. Представление о болезнях Нимана-Пика, Гоше и Тея-Сакса.

13. Определение концентрации холестерина в сыворотке крови. Принцип метода, его клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

### *ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ*

1. Атеросклероз, причины, патогенез, последствия. Современные подходы к лечению атеросклероза.

2. Метаболический синдром (синдром X). Его связь с ожирением, атеросклерозом, сахарным диабетом II типа, гипертензией. Причины. Основы лечения.

3. Болезни накопления липидов: Нимана-Пика, Тея-Сакса, Гоше, Шюллера-Кристиана, Вольмана. Молекулярные причины, патогенез. Основы лечения.

## Лабораторная работа

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХОЛЕСТЕРОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

#### *Принцип*

Метод основан на использовании сопряженных ферментативных реакций. Холестеролэстераза осуществляет гидролиз эфиров холестерина; затем холестеролоксидаза, превращает холестерол в холестенон с образованием  $H_2O_2$ . Пероксид водорода в присутствии фенола с участием пероксидазы окисляет 4-аминоантипирин с образованием продукта хинонимина розово-малинового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию холестерина и определяется фотоколориметрически.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

#### *Реактивы*

1) Рабочий реактив: раствор холестеролэстеразы, холестеролоксидазы, пероксидазы, фенола, 4-аминоантипирина в 0,1 М калиево-фосфатном буфере.

Стандартный раствор холестерина, 4,65 ммоль/л.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

#### *Проведение анализа*

	<b>Опыт, мл</b>	<b>Стандарт, мл</b>
Сыворотка крови	0,02	—
Стандартный р-р холестерина	—	0,02
Рабочий реактив	2,0	2,0
	Инкубируют 20 минут при 37°C, измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб против воды при 540 нм (зеленый светофильтр)	

#### *Расчет*

$$\text{Концентрация холестерина, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	Дети	1,2-5,2 ммоль/л
	взрослые	3,0-5,2 ммоль/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Холестеролемиа более 5,2 ммоль/л является фактором повышенного риска атеросклероза и его клинических осложнений – ишемической болезни сердца, инсульта. Высокое содержание холестерина в крови наблюдается при гиперлиппротеинемиях IIa и IIб, III типов, нефротическом

синдроме, сахарном диабете I типа, гипотиреозе, поражениях почек, внутри- и внепеченочном холестазах.

Уменьшение концентрации холестерина в крови (гипохолестеремия) отмечается при голодании и синдроме мальабсорбции, при гипертиреозе, остром панкреатите, циррозе печени, злокачественных опухолях.

#### *Оформление работы*

Записывают принцип метода, ход работы и результаты анализа, отмечают клинико-диагностическое значение. Делают вывод о возможных патологиях.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

### 1. СТЕРОИДАМИ ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) желчные кислоты
- 2) ганглиозиды
- 3) сфингомиелины
- 4) гормоны гипофиза

### 2. НЕЗАМЕНИМЫМ ФАКТОРОМ ПИТАНИЯ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) холестерол
- 2) фосфатидилхолин
- 3) линоленовая кислота
- 4) олеиновая кислота

### 3. КАТАБОЛИЗМ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРОИСХОДИТ ПО ПУТИ, КОТОРЫЙ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) декарбоксилирование
- 2) гликогенолиз
- 3)  $\beta$ -окисление
- 4) липолиз

### 4. ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ МИТОХОНДРИЙ ОСТАТОК ЖИРНОЙ КИСЛОТЫ ПЕРЕНОСИТ

- 1) карнозин
- 2) карнитин
- 3) креатин
- 4) кератин

### 5. ИСТОЧНИКОМ НАДФН ДЛЯ СИНТЕЗА ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) пентозофосфатный путь
- 2) катаболизм триацилглицеролов
- 3) окислительное декарбоксилирование пирувата
- 4) реакции гликолиза

### 6. В СОСТАВЕ ХИЛОМИКРОНОВ ОБНАРУЖИВАЕТСЯ ОКОЛО

- 1) 90 % триацилглицеролов и 2 % белков
- 2) 50 % холестерина и его эфиров
- 3) 50 % белков и 20 % холестерина и его эфиров
- 4) 10 % белков и 50-55 % триацилглицеролов

### 7. ПРИ ГОЛОДАНИИ КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА НЕ ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) нервные клетки
- 2) скелетные мышцы
- 3) сердце

4) печень

8. ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ГОЛОДАНИИ АКТИВИРУЕТСЯ

- 1) липогенез в жировой ткани
- 2)  $\beta$ -окисление в печени
- 3) синтез холестерина в нервной ткани
- 4) цикл трикарбоновых кислот в печени

9. КЛЮЧЕВУЮ РЕАКЦИЮ СИНТЕЗА ХОЛЕСТЕРОЛА КАТАЛИЗИРУЕТ

- 1) гидроксиметилглутарил-SКоА-редуктаза
- 2) ацилтрансфераза
- 3) пируваткиназа
- 4) ацетоацетил-SКоА-синтаза

10. ВЫБРАТЬ ГОРМОНЫ, СТИМУЛИРУЮЩИЕ СИНТЕЗ ЖИРОВ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ

- 1) адреналин
- 2) глюкагон
- 3) соматотропный гормон
- 4) инсулин

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. У больного при зондировании двенадцатиперстной кишки установлена задержка оттока желчи из желчного пузыря.

*Предположить последствия, которые может иметь такая патология.*

2. Содержание триацилглицеролов и фосфолипидов в сердечной мышце в 1,5-2 раза больше, чем в скелетной.

*Указать биохимический смысл этого различия.*

3. Родители обеспокоены излишним весом ребенка. Не посоветовавшись с врачом, они резко ограничили количество сахара в пище ребенка, увеличив содержание белка, но не уменьшив количество жира. Через несколько недель у ребенка ухудшилось самочувствие, появилась рвота.

*Указать нарушение вида обмена и причину.*

*Предложить комплекс биохимического исследования для подтверждения нарушения этого вида обмена.*

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛУ 9)

1. Структурные формулы и характеристика основных классов липидов.
2. Типы высших жирных кислот, их физико-химические свойства и биологическая роль, их пищевые источники. Структура пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислот, полиненасыщенных жирных кислот  $\omega$ -6-ряда (линолевая,  $\gamma$ -линоленовая, арахидоновая кислоты) и  $\omega$ -3-ряда ( $\alpha$ -линоленовая, эйкозопентаеновая, докозогексаеновая кислоты). Транспорт жирных кислот в крови.
3. Производные полиненасыщенных жирных кислот  $\omega$ -6-ряда и  $\omega$ -3-ряда, биологическая роль отдельных типов эйкозаноидов. Начальные реакции синтеза на примере арахидоновой кислоты, роль фосфолипазы  $A_2$ , циклооксигеназы, липоксигеназы. Какие гормоны и лекарственные вещества влияют на синтез эйкозаноидов?
4. Триацилглицеролы: химическая структура, жирные кислоты, входящие в состав триацилглицеролов, физико-химические свойства, биологическая роль. Транспорт триацилглицеролов в крови.
5. Фосфолипиды: химическая структура (фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол), жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов, физико-химические свойства, биологическая роль. Какую роль выполняют фосфолипиды в транспорте липидов в крови?
6. Представление о химической структуре сфинголипидов (сфингомиелины) и гликолипидов (цереброзиды, сульфоллипиды, ганглиозиды), их биологической роли и функциях.
7. Строение холестерина и его эфиров, его биологическая роль. Транспорт холестерина в крови.
8. Суточная потребность и пищевые источники жира. Роль ферментов и компонентов желчи в переваривании пищевых липидов в ЖКТ. Синтез желчных кислот, роль витаминов в этом процессе. Химическое строение таурохолевой и гликохолевой кислот. Ресинтез липидов в стенке кишечника. Последствия нарушений переваривания и всасывания липидов.
9. Характеристика хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности, их состав, схема строения, функции, реакции метаболизма в кровотоке. Утилизация хиломикронов и ЛПОНП в тканях. Роль липопротеинлипазы. Какими гормонами она активируется?
10. Обнаружение компонентов фосфатидилхолина яичного желтка. Принцип метода и ход определения.
11. Липолиз, химизм реакций, роль липолиза. Регуляция липолиза. В каких физиологических ситуациях он происходит? Транспорт и использование жирных кислот, образующихся при липолизе. Аденилатциклазный

механизм активации ТАГ-липазы. Механизм влияния на липолиз инсулина, адреналина, глюкагона.

12. Реакции  $\beta$ -окисления жирных кислот, отметьте связь с ЦТК и дыхательной цепью. Энергетический выход процесса на примере пальмитиновой, стеариновой и пальмитоолеиновой кислот.

13. Пути образования и пути использования ацетил-SКоА в организме (схема).

14. Реакции синтеза и распада кетонowych тел. Причины кетонемии и кетонурии при голодании и сахарном диабете.

15. Реакции синтеза жирных кислот из глюкозы. Ключевые стадии и локализация процесса, роль цитрата. Регулируемые ферменты. Состав мультиферментного синтетазного комплекса.

16. Реакции синтеза глицерол-3-фосфата из глюкозы и реакции окисления глицерола до пировиноградной кислоты. Дальнейшая судьба пирувата. Энергетический выход процесса.

17. Химизм реакций синтеза триацилглицеролов. В каких условиях и где происходит липогенез? Отличия биосинтеза жиров в жировой ткани и в печени. Регуляция липогенеза. Источники глицерола, жирных кислот и энергии. Взаимосвязь синтеза триацилглицеролов с обменом глюкозы.

18. Особенности обмена триацилглицеролов и насыщенных жирных кислот при некоторых физиологических состояниях (потребление пищи, голодание, мышечная активность, сахарный диабет I и II типов).

19. Исследование концентрации триацилглицеролов в сыворотке крови. Принцип, ход определения, клинико-диагностическое значение и нормальные показатели.

20. Пути синтеза фосфолипидов, их отличие. Химизм реакций синтеза фосфолипидов. Роль аминокислот и витаминов. Источники энергии для синтеза фосфолипидов. Что такое липотропные вещества? Их функции. Последствия недостатка липотропных соединений.

21. Обмен и функции холестерина: синтез до мевалоновой кислоты, представление о дальнейших этапах, регуляция синтеза, связь с углеводным обменом. Пути выведения холестерина из организма.

22. Определение концентрации холестерина в крови. Принцип метода, ход определения, клинико-диагностическое значение, нормальные величины.

23. Характеристика липопротеинов высокой и низкой плотности: роль в обмене холестерина и его эфиров, основные апобелки липопротеинов. Взаимодействие ЛПНП и ЛПВП в плазме крови. Роль лецитин-холестерол-ацилтрансферазы. Утилизация ЛПНП в клетках. Внутриклеточное использование холестерина и выведение его избытка из клетки. Роль ацил-SКоА-холестерол-ацилтрансферазы.

24. Взаимосвязь обмена липидов и углеводов. Превращение глюкозы в жирные кислоты, триацилглицеролы и холестерол (схема). Роль пентозофосфатного пути для синтеза жиров.

25. Гормональная и аллостерическая регуляция обмена липидов. Механизм влияния инсулина, глюкагона, адреналина, глюкокортикоидов на липолиз и липогенез, синтез и  $\beta$ -окисление жирных кислот, синтез холестерина.

26. Биохимический механизм нарушений обмена липидов: атеросклероз, желчекаменная болезнь, ожирение, жировая инфильтрация печени, сахарный диабет II типа, гиперлиппротеинемии I типа (хиломикронемия), V типа и IIa типа (семейная гиперхолестеролемиа). Что такое болезни Тей-Сакса, Нимана-Пика, Гоше?

27. Этапы обмена веществ и их взаимосвязь. Какие, кроме АТФ, существуют высоко энергетические соединения? Цикл АТФ-АДФ. Основные способы фосфорилирования АДФ и пути использования АТФ. Общая схема катаболизма белков, жиров и углеводов в организме, специфические и общие пути катаболизма, их значение.

28. НАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена углеводов. Структурные формулы окисленной и восстановленной форм НАД. Характеристика витамина, входящего в состав НАД: биологическое название, признаки недостаточности, суточная потребность, пищевые источники.

29. ФАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена углеводов. Структурные формулы окисленной и восстановленной форм ФАД. Характеристика витамина, входящего в состав ФАД: биологическое название, признаки недостаточности, суточная потребность, пищевые источники.

30. Последовательность реакций окислительного декарбоксилирования пирувата, связь с дыхательной цепью. Регуляция процесса. Участие витаминов в процессе и их характеристика: биологическое название, признаки недостаточности, суточная потребность, пищевые источники.

31. Последовательность реакций цикла трикарбоновых кислот, связь с дыхательной цепью. Регуляция реакций. Участие витаминов в процессе, их характеристика, энергетический эффект.

32. Принцип окислительного фосфорилирования. Схема структурной организации дыхательной цепи. Сопряжение окисления с фосфорилированием. Строение  $H^+$ -АТФ-синтазы. Коэффициент P/O для НАДН и  $FAH_2$ . Механизм дыхательного контроля. Каким образом влияет АТФ на окислительное фосфорилирование?

33. Разобщение дыхания и фосфорилирования. От чего зависит теплообразующая функция бурой жировой ткани? Ингибиторы дыхательной цепи. Причины гипозенергетических состояний. Коэффициент P/O и количество образующихся молекул АТФ при полном окислении пальмитиновой кислоты.

## **РАЗДЕЛ 10**

# **ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА**

### **ТЕМА 10.1. МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ГОРМОНАЛЬНОГО СИГНАЛА. КЛАССИФИКАЦИЯ ГОРМОНОВ. ГОРМОНЫ ГИПОФИЗА (СЕМИНАР)**

#### ***АКТУАЛЬНОСТЬ***

Одной из особенностей живых организмов является их способность сохранять постоянство гомеостаза при помощи механизмов саморегуляции, в осуществлении которых одно из главных мест принадлежит гормонам. Влияние гормонов на клетки осуществляется через особые механизмы, нарушение которых ведет к недостаточности или изменению эффекта гормона. Для правильной оценки причин возникновения гормональных заболеваний необходимо знание механизмов передачи гормонального сигнала в клетку.

Изменение эндокринной регуляции при недостаточном или избыточном синтезе гормонов приводит к нарушениям процессов обмена в организме. В клинике широко используют гормоны и гормональные препараты для лечения эндокринных и неэндокринных заболеваний.

#### ***ЦЕЛЬ***

Изучение механизмов действия белковых и пептидных гормонов, гормонов производных аминокислот, стероидных гормонов.

#### ***ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ***

1. Принципы регуляции обменных процессов. Иерархия регуляторных систем организма. Роль гипоталамуса и гипофиза.

2. Механизм обратной отрицательной связи в регуляции образования и действия гормонов.

3. Общие биологические признаки гормонов. Классы гормонов в соответствии с химическим строением, биологическими функциями и принадлежностью к эндокринным железам.

4. Характеристика трех мембранных механизмов передачи гормонального сигнала в клетки-мишени:

- рецептор, обладающий ферментативной активностью (схематично на примере рецептора инсулина),
- рецептор, образующий ионный канал (схематично на примере рецептора ацетилхолина),

○ передача гормонального сигнала с использованием G-белков (аденилатциклазный, кальций-фосфолипидный механизмы). Укажите компоненты передающей системы, отметьте роль активирующей и ингибирующей  $\alpha$ -субъединицы G-белка. Какие гормоны используют эти механизмы?

5. Гуанилатциклазный механизм передачи сигнала. Общая характеристика этого механизма.

6. Строение и источники вторичных посредников передачи гормонального сигнала: цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат (ИФ<sub>3</sub>), диацилглицерол (ДАГ), ионы  $\text{Ca}^{2+}$ .

7. Характеристика цитозольного механизма передачи гормональных сигналов в клетки-мишени. Гормоны, действующие посредством этого механизма.

8. Гормоны гипоталамуса (либерины и статины).

9. Гормоны – производные проопиомеланокортина.

10. Характеристика гормонов гипофиза (соматотропный гормон, вазопрессин, окситоцин, липотропный гормон, меланоцитстимулирующий гормон) по плану:

- название,
- химическая природа,
- место синтеза,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, минеральных веществ, воды – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- гипофункция и гиперфункция гормона, их причины и основные клинические проявления.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Влияние токсинов возбудителей холеры и дифтерии на деятельность аденилатциклазного механизма в пораженной клетке.

2. Механизмы и уровни регуляции функций эндокринных желез, нарушение этих механизмов, последствия.

3. Окситоцин – гормон межчеловеческих взаимоотношений?

4. Гуанилатциклаза, виды, регуляция, способы передачи гормонального сигнала. Гормоны, использующие гуанилатциклазный механизм.

5. Роль оксида азота (NO) в регуляции деятельности клеток в норме и патологии. Участие оксида азота в действии лекарств.

6. Гормонозависимая индукция и репрессия синтеза белка. Особенности рецептора и гормонорецепторного комплекса, их действие. Гормоночувствительный элемент ДНК.

## **ТЕМА 10.2. ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА, ГИПОФИЗА, ЩИТОВИДНОЙ, ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ И ПАРАЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Гормоны гипоталамуса и гипофиза регулируют рост и функцию других эндокринных желез или оказывают влияние на метаболические реакции в тканях-мишенях. Задняя доля гипофиза секретирует гормоны, регулирующие водный баланс и выброс молока из лактирующей молочной железы. Выпадение функции передней доли гипофиза (пангипопитуитаризм) приводит к атрофии щитовидной железы, коры надпочечников и половых желез.

Гормоны щитовидной железы играют важную роль в регуляции общего метаболизма, развития и дифференцировки тканей. Гормоны, регулирующие гомеостаз кальция, вырабатываются в паращитовидной и щитовидной железах и обеспечивают поддержание концентрации кальция в плазме крови в очень узких пределах.

Гормоны поджелудочной железы инсулин и глюкагон играют первостепенную роль в гомеостазе глюкозы крови, влияя на обмен углеводов и липидов в печени и жировой ткани.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение влияния белковых и пептидных гормонов на обмен углеводов, липидов, белков, воды и минеральных веществ.

Приобретение навыков проведения качественных реакций для обнаружения инсулина и содержания пролактина в сыворотке крови.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Классы гормонов в соответствии с химическим строением, биологическими функциями и принадлежностью к эндокринным железам.

2. Гормоны гипоталамуса (либерины и статины).

3. Характеристика гормонов гипофиза – соматотропный гормон, вазопрессин, окситоцин, адренокортикотропный, липотропный и меланокитстимулирующий гормоны, лактотропный, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, минеральных веществ, воды – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,

4. Причины и метаболические последствия гипофункции антидиуретического гормона (несахарный диабет). Какие клинические проявления заболевания отмечаются? В чем проявляется гиперфункция вазопрессина?

5. Характеристика нарушений, связанных с соматотропином: гипофизарный нанизм, акромегалия, гигантизм. Каковы причины и метаболические нарушения? Клинические проявления заболеваний.

6. Характеристика гормонов тиреоидной функции: тиреолиберин, тиреотропный гормон, три- и тетраiodтиронины. Химическая структура тироксина и трийодтиронина, их органы-мишени, локализация рецепторов в клетке и механизм действия. Влияние на обмен углеводов, белков, липидов. Ферменты, чувствительные к действию гормона. Причины гипо- и гиперфункции щитовидной железы. Метаболические нарушения и клинические проявления заболеваний.

7. Характеристика кальцитонина и паратгормона по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен минеральных веществ.

8. Как эффект кальцитонина и паратгормона сочетается с действием кальцитриола (производное витамина D)?

9. Характеристика гормонов поджелудочной железы – глюкагона и инсулина по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона.

10. Типы сахарного диабета. Причины абсолютной и относительной инсулиновой недостаточности. Метаболические нарушения при разных видах сахарного диабета, их клинические проявления, основы лечения.

11. Проведение качественных реакций на инсулин.

12. Иммуноферментный метод определения содержания пролактина в сыворотке крови. Принцип метода. Нормальные значения. Клинико-диагностическое значение.

13. Составьте таблицу для гормонов гипофиза, гормонов тиреоидной функции и гормонов паращитовидной и поджелудочной желез по приведенной схеме:

Название и химическая природа	Место синтеза	Регуляция действия гормонов	Органы-мишени	Локализация рецепторов, механизм действия	Влияние на обмен				Гипо- и гиперфункция гормонов
					углеводов	белков	липидов	минеральных веществ и воды	

### ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ

1. Мелатонин, место синтеза, химическая природа, влияние на метаболизм в норме и патологии. Возможность использования мелатонина в клинической практике.
2. Нарушения функции соматотропного гормона. Молекулярные причины. Клинические проявления заболеваний, их диагностика. Основы лечения.
3. Несахарный диабет, его виды. Молекулярные механизмы. Метаболические нарушения. Клинические симптомы. Основы лечения.
4. Причины недостаточности функции щитовидной железы. Симптомы, клинические проявления у детей и взрослых. Основы лечения. Роль гипофункции щитовидной железы в репродуктивном здоровье женщины.

### Лабораторная работа 1

#### КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ИНСУЛИН

##### *Принцип*

Инсулин является простым белком и дает характерные качественные реакции на белок: биуретовую, ксантопротеиновую, Фоля и др. Эти реакции не специфичны.

##### *Материал исследования*

Раствор инсулина.

##### *Реактивы*

1) Реактив Фоля, содержащий 5 % раствор  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$  и 30 % раствор NaOH, 2) 0,5 % р-р нингидрина, 3) 30 % р-р NaOH, 4) 10 % р-р NaOH, 5) 5 % р-р  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , 6) 5 % р-р нитропруссид натрия, 7) конц.  $\text{HNO}_3$ , 8) 5 % р-р  $\text{CuSO}_4$ .

##### *Проведение анализа*

В пробирки наливают по 5 капель раствора инсулина и проводят качественные реакции на белок.

#### *Реакция на пептидную связь*

Для обнаружения пептидной связи в инсулине используется универсальная **биуретовая реакция**.

### *Принцип*

Пептидная группа образует в щелочной среде с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  комплексное соединение фиолетового цвета с красным или синим оттенком в зависимости от числа пептидных связей. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству пептидных групп.

### *Проведение анализа*

В пробирку с 5 каплями раствора инсулина вносят 3 капли 10 % раствора  $\text{NaOH}$  и 1 каплю 5 % раствора  $\text{CuSO}_4$ .

### *Реакция для обнаружения $\alpha$ -аминогрупп*

Для обнаружения  $\alpha$ -аминогрупп, содержащихся в аминокислотах, и концевых  $\alpha$ -аминогрупп инсулина используется **нингидриновая реакция**.

### *Принцип*

При нагревании белка с нингидрином происходят окислительное отщепление  $\alpha$ -аминогрупп и восстановление нингидрина. Восстановленный нингидрин реагирует с аммиаком и другой молекулой окисленного нингидрина с образованием комплекса сине-фиолетового цвета.

### *Проведение анализа*

5 капель раствора инсулина смешивают с 5 каплями 0,5 % раствора нингидрина. Пробирку нагревают и кипятят до появления сине-фиолетового окрашивания.

### *Реакция на ароматические аминокислоты*

Для обнаружения ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан) используется **ксантопротеиновая реакция**.

### *Принцип*

Ароматическое кольцо при взаимодействии с концентрированной азотной кислотой образует динитросоединение желтого цвета.

### *Проведение анализа*

К 5 каплям 1 % раствора инсулина добавляют 2 капли конц.  $\text{HNO}_3$  и осторожно нагревают. Наблюдают за появлением желтого окрашивания, при отсутствии желтого цвета еще добавляют 1-2 капли конц.  $\text{HNO}_3$ . При добавлении избытка 30 % раствора  $\text{NaOH}$  окраска переходит в оранжевую.

### *Реакции на серосодержащие аминокислоты*

### *Принцип*

Сульфгидрильные группы в инсулине подвергаются щелочному гидролизу, в результате чего происходит отщепление серы в виде сульфида натрия  $\text{Na}_2\text{S}$ , который вступает в дальнейшие реакции:

- **реакция Фоля** –  $\text{Na}_2\text{S}$  с ацетатом свинца  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  дает черный или бурый осадок сульфида свинца;
- **реакция с нитропруссидом** –  $\text{Na}_2\text{S}$  дает с нитропруссидом натрия соединение, окрашенное в красно-коричневый цвет.

#### *Проведение анализа*

5 капель раствора инсулина и 5 капель 30 % раствора NaOH кипятить 1-2 минуты. Разделить содержимое на 2 части для реакций «а» и «б».

##### *а) Реакция Фоля*

К 5 каплям гидролизата добавляют 1 каплю раствора уксусно-кислого свинца и нагревают до кипения. Отмечают появление бурого или черного осадка.

##### *б) Реакция с нитропруссидом*

К 5 каплям гидролизата добавляют 2-3 капли раствора 5 % натрия нитропрусида. Отмечают появление красно-коричневого окрашивания.

#### *Оформление работы*

Отмечают принцип методов, регистрируют результаты анализа и делают вывод о наличии инсулина в исследуемом материале.

### Лабораторная работа 2

## **ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПРОЛАКТИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

#### *Принцип*

Метод основан на твердофазном иммуноферментном анализе и заключается в специфическом связывании моноклональных антител к пролактину, адсорбированных на лунках иммунологического планшета, с последующим образованием конъюгата.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

#### *Реактивы*

1) Конъюгат моноклональных антител к пролактину с пероксидазой хрена, раствор для разведения сывороток, 2) фосфатно-солевой буферный раствор с твином, 3) раствор тетраметибензида, 4) стоп-реактив, 5) контрольный образец с известным содержанием пролактина, 6) калибровочные образцы, содержащие известные количества пролактина.

#### *Проведение анализа*

1. *Внесение образцов.* Внести в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов по 100 мкл калибровочных образцов. В остальные лунки внести по 100 мкл контрольного образца и по 100 мкл анализируемых образцов сыворотки.

2. *Внесение конъюгата моноклональных антител.* Конъюгат готов к использованию. В лунки внести по 50 мкл конъюгата.

3. *Инкубация.* Стрипы заклеить пленкой и инкубировать при температуре 37°C в течение 60 мин в термостатируемом шейкере с частотой 650 об/мин.

4. *Промывка.* По окончании инкубации снять липкую планку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть планшеты 5 раз промывочным раствором, чере-

дую аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

5. *Внесение тетраметилбензидина (ТМБ).* Раствор ТМБ готов к использованию. Внести во все лунки по 100 мкл ТМБ.

6. *Инкубация.* Стрипы заклеить пленкой и инкубировать в темноте при температуре 37°C в течение 15 мин в термостатируемом шейкере с частотой 650 об/мин.

7. *Внесение стоп-реагента.* Внести во все лунки 100 мкл стоп-реагента. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10-15 сек; при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. *Измерение.* Измерить оптическую плотность на спектрофотометре, позволяющем проводить измерения оптической плотности в лунках планшета в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине сравнения в диапазоне 620-655 нм.

#### *Нормальные показатели*

мужчины 2,5-17 нг/мл (53-360 мкМЕ/л);

женщины – фолликулярная фаза 4,5-33 нг/мл (98-784 мкМЕ/л), середина цикла 6,3-49 нг/мл (134-975 мкМЕ/л), лютеиновая фаза 4,9-40 нг/мл (104-848 мкМЕ/л).

#### *Клинико-диагностическое значение*

В норме повышение пролактина происходит во время сна, физической нагрузки, полового акта. Во время беременности гормон повышается с 8-й по 25-ю неделю и в период лактации. Перед родами происходит снижение пролактина.

<b>Увеличение концентрации</b>	<b>Снижение концентрации</b>
Пролактинома	Острая порфирия
Неврогенные и психиатрические нарушения, нарушения менструального цикла	Острые и хронические физические и психические стрессовые ситуации (депрессия, операции, болезненные месячные)
Акромегалия	Гипогликемия
Гирсутизм (гиперандрогения)	

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## ТЕМА 10.3. ГОРМОНЫ ГИПОФИЗА, НАДПОЧЕЧНИКОВ И ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ

### АКТУАЛЬНОСТЬ

В организме кортикотропин и гормоны надпочечников выполняют функции, связанные с деятельностью организма в состоянии острого и хронического напряжения, обеспечивая устойчивость к повреждающим воздействиям среды. Гормоны половой сферы участвуют в поддержании полового поведения и процессах размножения.

В клинике глюкокортикоиды применяют как противовоспалительные и антиаллергические препараты. Половые гормоны и их аналоги используют в онкологической практике, в заместительной гормонотерапии, в гормональной контрацепции.

### ЦЕЛЬ

Изучение строения и биологических эффектов гормонов надпочечников и половых желез.

Приобретение навыков определения содержания тестостерона в сыворотке крови.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Классы гормонов в соответствии с химическим строением, биологическими функциями и принадлежностью к эндокринным железам.

2. Химическая формула адреналина и норадреналина. Характеристика адреналина по плану:

- химическая природа,
- место и химизм реакций синтеза,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизмы действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- понятие феохромоцитомы, клинические проявления, основы лечения.

3. Типы адренорецепторов и особенности их действия. Биохимические эффекты гормона при стрессовых ситуациях. В чем заключается механизм лечебного действия адреналина при остановке сердца, приступах астмы?

4. Характеристика следующих гормонов: кортиколиберин, кортикотропин (АКТГ), кортизол по плану:

- название,
- химическая природа и строение,
- место синтеза, транспорт в крови,

- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, минеральных веществ – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- гипо- или гиперфункция гормона, метаболические нарушения, клинические проявления.

5. Изменение метаболизма в жировой, мышечной, лимфоидной, эпителиальных тканях при гипо- и гиперкортицизме. Что значит выражение стероидный диабет?

6. Основные этапы синтеза стероидных гормонов. Роль прегненолона и прогестерона – ключевых соединений на пути синтеза. Специфические гидроксилазы, определяющие образование минералокортикоидов и глюкокортикоидов. Роль ароматаз в синтезе эстрогенов.

7. Характеристика минералокортикоидов (альдостерона) по плану:

- химическая природа и строение,
- место синтеза, транспорт в крови,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен минеральных веществ и воды – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- гипо- или гиперфункция гормона, метаболические нарушения, клинические проявления.

8. Роль ренин-ангиотензиновой системы в регуляции синтеза и секреции альдостерона. Биохимический механизм развития почечной гипертензии.

9. Окситоцин, лактотропный, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны гипофиза, прогестерон и эстрадиол, тестостерон. Их характеристика по плану:

- название,
- химическая природа и химическая формула (для стероидных гормонов),
- место синтеза,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени, транспорт в крови,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, минеральных веществ – биохимические процессы, чувствительные к действию гормонов,
- гипо- или гиперфункция гормона, метаболические нарушения, клинические проявления.

10. Цикличность изменений концентрации гонадотропных гормонов, прогестерона и эстрогенов в организме женщины (менструальные циклы).

11. Иммуноферментный метод определения содержания тестостерона в сыворотке крови. Принцип метода. Нормальные значения. Клинико-диагностическое значение.

12. Составьте таблицу для гормонов коры надпочечников и половых гормонов по приведенной схеме:

Название и химическая природа	Место синтеза	Регуляция действия гормонов	Органы-мишени	Локализация рецепторов, механизм действия	Влияние на обмен				Гипо- и гиперфункция гормонов
					углеводов	белков	липидов	минеральных веществ и воды	

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Глюкокортикоиды – лекарственные препараты. Механизм противовоспалительного и антиаллергического действия глюкокортикоидов. Побочные эффекты.

2. Роль глюкокортикоидов в приспособительных реакциях при стрессе, в развитии адаптационного синдрома. Работы Г. Селье, Ф. Меерсона и др.

3. Использование синтетических аналогов эстрогенов и прогестинов для гормональной контрацепции. Ее механизмы. Побочные эффекты.

4. Синтетические аналоги тестостерона в качестве лекарственных препаратов. Использование анаболических стероидов и других гормонов в спортивной медицине. Побочные эффекты.

5. Гормональные изменения в организме женщины при беременности. Влияние гормональных заболеваний матери на развитие плода.

### **Лабораторная работа**

### **ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

#### ***Принцип***

Метод основан на твердофазном иммуноферментном анализе и заключается в специфическом связывании моноклональных антител к тестостерону, адсорбированных на лунках иммунологического планшета, с последующим образованием конъюгата.

#### ***Материал исследования***

Сыворотка крови.

### *Реактивы*

1) Конъюгат моноклональных антител к тестостерону с пероксидазой хрена, раствор для разведения сывороток, 2) фосфатно-солевой буферный раствор с твином, 3) раствор тетраметибензида, 4) стоп-реагент, 5) контрольный образец с известным содержанием тестостерона, 6) калибровочные образцы, содержащие известные количества тестостерона.

### *Проведение анализа*

1. *Внесение образцов.* Внести в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов по 100 мкл калибровочных образцов. В остальные лунки внести по 100 мкл контрольного образца и по 100 мкл анализируемых образцов сыворотки.

2. *Внесение конъюгата моноклональных антител.* Конъюгат готов к использованию. В лунки внести по 50 мкл конъюгата.

3. *Инкубация.* Стрипы заклеить пленкой и инкубировать при температуре 37°C в течение 60 мин в термостатируемом шейкере с частотой 650 об/мин.

4. *Промывка.* По окончании инкубации снять липкую планку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть планшет 5 раз промывочным раствором, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

5. *Внесение тетраметилбензида (ТМБ).* Раствор ТМБ готов к использованию. Внести во все лунки по 100 мкл ТМБ.

6. *Инкубация.* Стрипы заклеить пленкой и инкубировать в темноте при температуре 37°C в течение 15 мин в термостатируемом шейкере с частотой 650 об/мин.

7. *Внесение стоп-реагента.* Внести во все лунки 100 мкл стоп-реагента с той же скоростью и с той же последовательностью, как и раствор ТМБ. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10-15 с; при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. *Измерение.* Измерить оптическую плотность на спектрофотометре, позволяющем проводить измерения оптической плотности в лунках планшета в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине сравнения в диапазоне 620-655 нм.

### *Нормальные показатели*

мужчины старше 14 лет: 5,76-28,14 нмоль/л;

женщины старше 10 лет: 0,45-3,75 нмоль/л.

### *Клинико-диагностическое значение*

Недостаточная секреция тестостерона вызывает развитие гипогонадизма, при этом клиническая картина прямо связана с возрастом начала развития гормональной недостаточности. Связанными нарушениями являются синдромы Клайнфельтера или Тернера и крипторхизма или анорхии, а также климактерический период и менопауза у женщин. Гиперго-

надизм, характеризующийся избыточной секрецией тестостерона, выявляется у женщин или мужчин с андроген-продуцирующей опухолью яичек, яичников или коры надпочечников. Повышенный уровень тестостерона у женщин является подтверждением таких заболеваний, как гирсутизм, вирилизация и синдром поликистоза яичников.

Повышение уровня тестостерона является одним из факторов, способствующих развитию рака предстательной железы у мужчин старше 60 лет, и используется в качестве контроля эффективности лечения данной категории больных.

#### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. В РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА ИОНОВ КАЛИЯ, НАТРИЯ И ХЛОРА ПРИНИМАЕТ УЧАСТИЕ ГОРМОН
  - 1) инсулин
  - 2) альдостерон
  - 3) глюкагон
  - 4) адреналин
2. СОДЕРЖАНИЕ КАЛЬЦИЯ И ФОСФОРА В КРОВИ РЕГУЛИРУЮТ ГОРМОНЫ
  - 1) адреналин
  - 2) глюкагон
  - 2) тироксин
  - 3) паратгормон
  - 4) кальцитонин
3. СИНТЕЗ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ В КОРЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ СТИМУЛИРУЕТСЯ
  - 1) кортикотропином
  - 2) кортиколиберином
  - 3) кортизолом
  - 4) кальцитонином
4. ФУНКЦИЕЙ ИНСУЛИНА ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) стимуляция липолиза
  - 2) активация гликогенолиза
  - 3) увеличение гликемии
  - 4) усиление липогенеза
5. ФУНКЦИЕЙ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ ЯВЛЯЕТСЯ
  - 1) усиление глюконеогенеза
  - 2) увеличение синтеза белков
  - 3) стимуляция захвата глюкозы тканями
  - 4) активация гликолиза
6. ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА ОКАЗЫВАЮТ ПРЯМОЕ ДЕЙСТВИЕ НА
  - 1) щитовидную железу
  - 2) поджелудочную железу
  - 3) гипофиз
  - 4) надпочечники
7. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ УСИЛИВАЕТ ГОРМОН
  - 1) альдостерон

- 2) инсулин
- 3) кортизол
- 4) тестостерон

8. ЭФФЕКТ КАЛЬЦИТОНИНА ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В

- 1) снижении уровня ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в крови
- 2) повышении уровня ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в крови
- 3) повышении уровня ионов  $\text{K}^{+}$  в крови
- 4) снижении уровня ионов  $\text{K}^{+}$  в крови

9. ПРИ ПОВЫШЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ СОМАТОТРОПИНА РАЗВИВАЕТСЯ

- 1) акромегалия
- 2) синдром Иценко-Кушинга
- 3) базедова болезнь
- 4) сахарный диабет

10. ПАРАТГОРМОН РЕГУЛИРУЕТ ОБМЕН ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И ФОСФАТОВ, ОКАЗЫВАЯ ДЕЙСТВИЕ НА

- 1) почки и костную ткань
- 2) поджелудочную железу и кишечник
- 3) печень и мышцы
- 4) жировую и костную ткань

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. При обследовании мальчика 5 лет врач отметил отставание умственного и психического развития, замедление роста, понижение температуры тела. Ребенок мало активен, не эмоционален. В крови содержание холестерина снижено.

*Указать железу, функция которой изменена. Объяснить причину таких симптомов.*

2. Больная обратилась в клинику с жалобами на сухость во рту, жажду, обильное и частое мочеиспускание, слабость, нарушение сна, похудание.

*Указать заболевание, для которого характерны эти симптомы. Предложить комплекс биохимического исследования для уточнения диагноза и оценки состояния обмена веществ.*

3. Больной жалуется на сильную слабость, повышенную утомляемость. Часто бывают явления гипогликемии. Усилена пигментация кожи. Имеются анемия, лимфоцитоз, эозинофилия. Уменьшена реабсорбция натрия из мочи.

*Указать гормоны, недостаточность которых можно предположить.*

## **РАЗДЕЛ 11 БИОХИМИЯ КРОВИ**

### **ТЕМА 11.1. АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ВЕЩЕСТВА КРОВИ: БЕЛКИ, ФЕРМЕНТЫ, ФРАКЦИИ ОСТАТОЧНОГО АЗОТА**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Существует тесная взаимосвязь крови со всеми тканями организма. Исследование различных по происхождению азотсодержащих компонентов крови и их роли в обмене веществ позволяет диагностировать нарушения метаболизма в организме, следить за развитием патологического процесса и оценивать эффективность терапевтических мероприятий. Соотношение азотсодержащих соединений в крови меняется в зависимости от образа жизни и возраста человека.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение происхождения и клинико-диагностического значения определения азотсодержащих веществ крови.

Приобретение навыков проведения тимоловой пробы и определения фракций белков сыворотки крови.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Органические и неорганические компоненты крови. Форменные элементы, плазма, сыворотка крови.
2. Источники глюкозы, триацилглицеролов и холестерина крови. Клинико-диагностическое значение определения их концентрации в крови.
3. Азотсодержащие вещества крови.
4. Понятие общего белка крови. Физиологические функции белков крови, нормальные показатели концентрации общего белка крови. Причины гипо- и гиперпротеинемий.
5. Основные белковые фракции сыворотки крови. Нормальные величины их концентрации в крови. Приведите 1-3 примера белков для каждой фракции (см. Приложение 2). Диспротеинемии и парапротеинемии. Возрастная динамика белковых фракций. Эмбриоспецифические белки и их диагностическое значение.
6. Понятие протеинограммы. Изменение соотношения белковых фракций при остром и хроническом воспалении, при патологии почек, при опухолевых заболеваниях, при патологиях печени.
7. Основные ферменты плазмы и сыворотки крови. В чем заключается энзимодиагностика? Истинно плазменные (плазмоспецифичные) ферменты. Две группы органоспецифичных ферментов: индикаторные (клеточного метаболизма) и экскреторные (секретируемые) ферменты.

8. Остаточный азот крови. Перечислите его компоненты и их количественный состав. Укажите причины и виды гиперазотемий.

9. Реакции синтеза креатина и креатинина. Нормальные величины концентрации в крови. Клинико-диагностическое значение определения концентрации креатинина в крови и моче.

10. Реакции синтеза мочевины. Нормальные величины ее концентрации в крови. Клинико-диагностическое значение определения концентрации мочевины в крови и моче.

11. Реакции синтеза мочевой кислоты. Нормальные величины концентрации в крови. Клинико-диагностическое значение определения концентрации мочевой кислоты в крови и моче.

12. Гипераммониемии, их причины и последствия. Нормальный и предельно допустимый уровни концентрации аммиака в крови. Причины токсичности аммиака.

13. Тимоловая проба на коллоидоустойчивость белков сыворотки крови. Принцип метода. Нормальные показатели и клинико-диагностическое значение.

14. Белковые фракции сыворотки крови. Принцип электрофореза. Нормальные показатели и клинико-диагностическое значение.

15. Используя приложение 2, составьте в тетради таблицу индивидуальных глобулинов крови с указанием их функции:

$\alpha_1$ -глобулины	$\alpha_2$ -глобулины	$\beta$ -глобулины	$\gamma$ -глобулины

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Возрастная динамика белковых фракций. Эмбриоспецифические белки и их диагностическое значение.

2. Остаточный азот: его основные компоненты. Динамика уровня фракций остаточного азота в постнатальный период.

### **Лабораторная работа 1**

#### **ПРОВЕДЕНИЕ ТИМОЛОВОЙ ПРОБЫ НА КОЛЛОИДОУСТОЙЧИВОСТЬ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ**

Устойчивость белков сыворотки крови зависит от их заряда и наличия гидратной оболочки. Нарушение коллоидной устойчивости белков под влиянием различных агентов проявляется сначала склеиванием (коагуляцией) белковых молекул, а затем выпадением их в осадок. При этом в первую очередь осаждаются более крупные и менее заряженные белки – глобулины.

#### ***Тимоловая проба***

Как и все коагуляционные тесты, тимоловая проба является неспецифической реакцией. Вместе с тем она более приемлема для функционального исследования печени, чем другие коллоидные пробы.

### *Принцип*

Сывороточные  $\beta$ -,  $\gamma$ -глобулины и липопротеины осаждаются при pH 7,55 тимоловым реактивом вследствие образования глобулин-тимол-липидного комплекса.

### *Реактивы*

Тимоловый буфер, pH 7,55-7,60.

### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

### *Проведение анализа*

	Опыт, мл
Сыворотка крови Тимоловый буфер	0,05 3,0
	Перемешивают и оставляют стоять 15 минут при комнатной температуре. Снова перемешивают и сравнивают с калибровочными пробами. Результат выражают в единицах помутнения S-H (по авторам: Shank-Haagland)

### *Калибровочная шкала*

В качестве калибровочных проб используются растворы с различной интенсивностью мутности. Перед использованием пробы необходимо тщательно перемешать.

№ пробы	Единицы помутнения, S-H
1	5
2	10
3	15
4	20

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови

0-4 ед. S-H

### *Клинико-диагностическое значение*

Проба применяется для дифференциальной диагностики заболеваний печени. При поражении паренхимы печени (инфекционный и токсический гепатит) уже в преджелтушной стадии или при безжелтушной форме в 90-100 % случаев тимоловая проба выше нормальных величин. У здоровых индивидов, при остальных заболеваниях печени или нарушении функции других органов тимоловая проба соответствует норме.

### *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## Лабораторная работа 2 (теоретически)

### **ЭЛЕКТРОФОРЕЗ БЕЛКОВ НА БУМАГЕ И АЦЕТАТЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ПЛЕНКАХ**

#### *Принцип*

Белковые молекулы, отрицательно заряженные при pH 6,8, перемещаются в электрическом поле постоянного тока: по направлению к аноду. Наиболее быстро перемещаются альбумины, затем по порядку  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины.

На ход электрофореза влияет подвижность разделяемых веществ, находящаяся в зависимости от следующих факторов:

- заряд (обычно зависит от pH), размеры и форма молекул веществ;
- электрическое поле – скорость движения ионов белка прямо пропорциональна силе тока и напряжению и обратно пропорциональна сопротивлению (зависит от типа и размеров носителя и ионной силы буфера);
- буферный раствор – состав, концентрация, pH и ионная сила (зависит от концентрации ионов и их заряда);
- носитель – учитывается его гидрофильность, адсорбция веществ на молекулах носителя.

#### *Материал исследования*

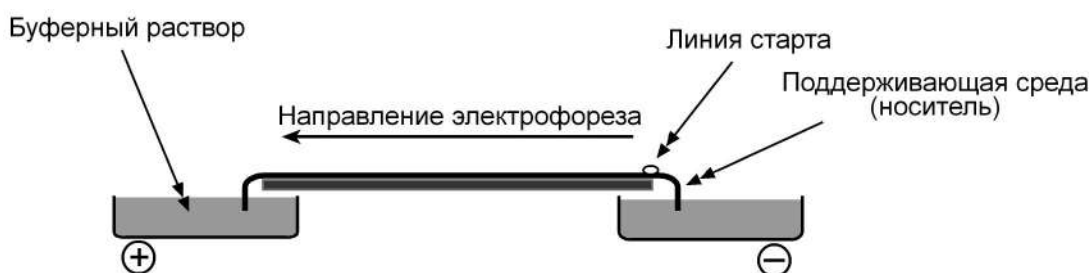
Сыворотка крови.

#### *Оборудование*

Прибор для электрофореза, денситометр.

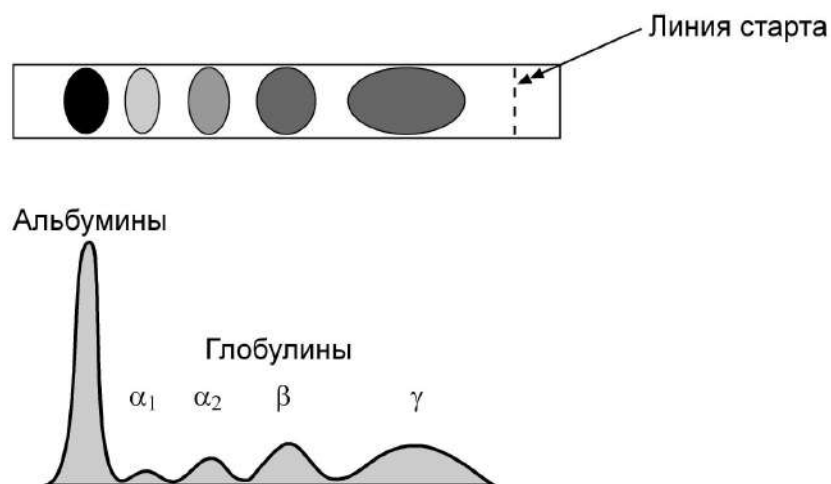
#### *Проведение анализа (основные положения)*

Образцы сыворотки равномерно наносят по линии старта на носитель (бумага, ацетатцеллюлозная пленка). Носитель помещают в прибор для электрофореза и подают электрический ток. Буферный раствор, двигаясь в электрическом поле, захватывает молекулы белка. Молекулы с наибольшим отрицательным зарядом и наименьшим размером, т. е. альбумины двигаются быстрее остальных. Наиболее крупные и нейтральные ( $\gamma$ -глобулины) оказываются последними. Через некоторое время (устанавливается для каждого прибора индивидуально) электрофорез заканчивают.



Полоски бумаги или ацетатцеллюлозной пленки отмыывают от буферного раствора и окрашивают. В результате участки, содержащие белок,

прокрашиваются, при этом площадь и интенсивность окраски зависят от содержания белковой фракции. В настоящее время количественный учет окрашенных зон на электрофореграмме проводят при помощи денситометра. Работа денситометра основана на пропускании луча света через движущуюся полосу носителя. При изменении интенсивности окраски носителя происходит «всплеск» и регистрируется наличие окрашенной зоны (белковой фракции). Параллельно современные приборы автоматически рассчитывают процентное соотношение белковых фракций.



#### *Клинико-диагностическое значение*

##### Альбумины

Снижение содержания альбуминовой фракции происходит при состояниях, характеризующихся:

- пониженным синтезом альбуминов – при врожденной анальбуминемии, белковом голодании, нарушении всасывания, тяжелых поражениях печени (цирроз, дистрофии, некроз, активный гепатит, амилоидоз печени);
- повышенным катаболизмом альбуминов – при лихорадке, кахексии, тяжелых инфекциях, панкреатите, коллагенозах, тиреотоксикозе, болезни Иценко-Кушинга (гипофункция надпочечников);
- потерей альбумина через ожоговые поверхности, почки, желудочно-кишечный тракт;
- воспалительными процессами, обусловленными выходом альбумина из кровотока в межклеточное пространство.

Концентрация альбумина <20 г/л сопровождается отеками.

##### α-Глобулины

Повышение содержания  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -глобулиновой фракции связано с острыми и подострыми воспалительными процессами и некоторыми злокачественными опухолями, травмами, так как сюда входит большинство

белков острой фазы (С-реактивный белок,  $\alpha_2$ -макроглобулин,  $\alpha_1$ -гликопротеин,  $\alpha_1$ -антитрипсин, церулоплазмин, гаптоглобин).

#### $\beta$ -Глобулины

Большая доля белков  $\beta$ -глобулиновой фракции является  $\beta$ -липопротеинами (ЛПОНП и ЛПНП), поэтому повышение этой фракции чаще всего связано с гиперлипопротеинемиями. Кроме того, влияние на динамику этой фракции оказывают трансферрин, гемопексин, компоненты системы комплемента.

#### $\gamma$ -Глобулины

Содержание  $\gamma$ -глобулинов увеличивается при патологических состояниях, связанных с хроническими воспалительными процессами, так как класс содержит иммуноглобулины G, A и M.

## **ТЕМА 11.2. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА. ГЕМОПРОТЕИНЫ. СИНТЕЗ И РАСПАД ГЕМА**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Широкое разнообразие биологически важных функций гемоглобина и других гемопroteинов (например, цитохромов) вызывает необходимость изучения строения и роли этих белков в метаболизме. Состояния, связанные с нарушением синтеза и распада гема, приводят к развитию заболеваний крови и печени.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение реакций синтеза и распада гема, метаболизма билирубина.

Освоение методов определения концентрации билирубина в сыворотке крови, желчных пигментов в моче.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Обмен железа в организме: потребность, всасывание, транспорт, железо-связывающие белки, запасная форма. Пищевые источники. Симптомы и клинические проявления недостаточности железа. Понятие гемохроматоза.

2. Функция указанных эритроцитарных белков – спектрин, гликофорин, белок полосы 3. Особенности окисления глюкозы в эритроците. Как осуществляется обезвреживание активных форм кислорода?

3. Строение гема, реакции и основные этапы его синтеза. Регуляция синтеза гема и гемоглобина.

4. Причины порфирий, их клинические проявления, основы лечения порфирий.

5. Талассемии, их виды и причины.

6. Строение наиболее представленных в организме гемсодержащих белков (гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза, пероксидаза). Их функция и локализация.

7. Патологические и физиологические типы гемоглобина (метгемоглобин, серповидно-клеточный, гликозилированный гемоглобин, карбоксигемоглобин, оксигенированный гемоглобин, карбогемоглобин). Значение определения концентрации гликозилированного гемоглобина, оксигемоглобина и карбогемоглобина.

8. Схема реакций, происходящих в эритроците в капиллярах легких и тканей.

9. Механизмы транспорта углекислого газа. В каком виде переносится углекислый газ? Как он связывается с гемоглобином? Роль карбоангидразы. Роль эритроцита в изменении концентрации бикарбонат-ионов плазмы.

10. Связывание гемоглобина с кислородом. Нормальная степень насыщения гемоглобина кислородом. Механизм транспорта кислорода. Влияние температуры, величины pH, концентрации  $\text{CO}_2$  на сродство гемоглобина к кислороду, регуляция процесса. Кооперативность протомеров, эффект Бора, роль 2,3-дифосфоглицерата.

11. Кривые насыщения гемоглобина кислородом или диссоциации гемоглобина. Чем объясняется S-образный характер кривой диссоциации гемоглобина?

12. Реакции распада гемоглобина и гема в ретикулоэндотелиальной системе.

13. Непрямой (свободный) билирубин, его строение, реакции образования. Дальнейшая судьба непрямого билирубина.

14. Прямой (связанный) билирубин, его строение, реакции образования, его дальнейшая судьба. Роль фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы. Как выводятся конечные продукты распада гема?

15. Состояния, связанные с избыточным распадом гемоглобина. Причины гемолитической желтухи и ее лабораторные критерии.

16. Состояния, связанные с нарушениями оттока желчи. Причины обтурационной желтухи и ее лабораторные критерии.

17. Состояния, связанные с недостаточностью функции гепатоцитов. Причины паренхиматозной желтухи и ее лабораторные критерии.

18. Физиологические желтухи новорожденных.

19. Патологические желтухи новорожденных:

- гемолитические желтухи, их причины. Физиологические основы применения фенотербитала;

- наследственные нарушения выведения билирубина – синдромы Жильбера-Мейленграхта, Дубина-Джонсона, Криглера-Найара;

- представление о приобретенных нарушениях выведения билирубина – избыток эстрогенов молока, инфекционные и токсические причины;

○ представление о механических желтухах вследствие муковисцидоза, болезни Нимана-Пика, гипоплазии желчных путей.

20. Определение содержания общего билирубина и его фракций в сыворотке крови. Принцип метода, нормальные величины, клинико-диагностическое значение.

21. Обнаружение билирубина и уробилиногена в моче. Принцип метода, нормальные величины, клинико-диагностическое значение.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Железодефицитные состояния, их причины. Диагностика. Последствия. Лечение.

2. Врожденные и приобретенные метгемоглобинемии. Причины. Недостаточность НАДН-метгемоглобинредуктазы. Клинические проявления.

3. Порфирии. Классификация, причины, патогенез, клинические проявления, основы лечения.

### Лабораторная работа 1

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА И ЕГО ФРАКЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

### *Принцип*

Взаимодействие сульфаниловой кислоты с азотистым натрием дает диазофенилсульфоновую кислоту, которая с билирубином образует окрашенные азопигменты (диазореакция Эрлиха). Связанный (прямой) билирубин реагирует быстро, поэтому о его концентрации судят по первоначальной интенсивности окраски. Несвязанный билирубин вступает в реакцию только после добавления акселератора (кофеин). Последний освобождает билирубин из комплекса с белками и тем самым ускоряет реакцию азосочетания.

### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

### *Реактивы*

1) Сульфаниловая кислота в HCl (реагент 1), 2) натрий азотистокислый  $\text{NaNO}_2$  (реагент 2), 3) кофеиновый реактив (реагент 3), 4) буферный раствор (реагент 4), 5) 0,9 % р-р NaCl, 6) раствор альбумина, 20 г/л.

Стандартный раствор билирубина, 5 мкмоль/л.

### *Проведение анализа*

	<b>Общий билирубин, мл</b>	<b>Прямой билирубин, мл</b>	<b>Стандарт, мл</b>	<b>Контроль, мл</b>
Сульфаниловая кислота (реагент 1)	0,2	0,2	0,2	—
$\text{NaNO}_2$ (реагент 2)	1 капля	1 капля	1 капля	—
Кофеиновый реактив (реагент 3)	1,0	—	1,0	1,0
NaCl	—	1,0	—	0,2

Сыворотка крови	0,2	0,2	—	0,2
Стандартный р-р билирубина	—	—	0,2	—
Буферный раствор (реагент 4)	1,0	1,0	1,0	1,0
		Перемешивают и оставляют на 10 минут		
		Измеряют оптическую плотность стандарта и пробы на прямой билирубин против контроля при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр). Еще через 10 минут измеряют оптическую плотность пробы на общий билирубин против контроля при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр)		

#### Расчет

По формуле рассчитывают концентрацию общего и прямого билирубина, концентрацию непрямого билирубина находят как разность между концентрацией общего и прямого билирубина.

$$\text{Концентрация билирубина, мкмоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность опытной и стандартной проб,  
 $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора.

#### Нормальные величины

##### Сыворотка крови

##### Общий билирубин

Дети 3,4-17,1 мкмоль/л

Взрослые 8,5-20,5 мкмоль/л

##### Прямой билирубин

Дети отсутствие

Взрослые 2,2-5,1 мкмоль/л

#### Клинико-диагностическое значение

В таблице отражены сдвиги содержания основных пигментов в сыворотке крови, моче и кале здоровых людей и при различных типах желтух (↑ – увеличение, ↓ – снижение, N – нормальные значения):

	Типы желтух		
	Гемолитическая	Паренхиматозная	Обтурационная
Билирубин крови			
Общий	↑	↑	↑↑
Непрямой	↑↑	↑	N или ↑
Прямой	N или ↑	↑	↑↑
Билирубин мочи	N	N или ↑	↑
Уробилин мочи	↑↑	↑	↓

Стеркобилин кала	↑↑	N или ↓	Отсутствует
------------------	----	---------	-------------

#### Сыворотка крови:

Накопление билирубина в крови свыше 43 мкмоль/л ведет к связыванию его эластическими волокнами кожи и конъюнктивы, что проявляется в виде желтухи. Для дифференциальной диагностики желтух необходимо определить, за счет какой фракции возникает билирубинемия:

1. **Гемолитическая** (надпеченочная) желтуха – ускоренное образование билирубина в результате гемолиза. *Гипербилирубинемия* развивается за счет фракции непрямого билирубина. В моче резко возрастает содержание уробилина, билирубин отсутствует. В кале увеличено содержание стеркобилина.

Данный тип желтух может развиваться при В<sub>12</sub>-дефицитной анемии, гемолитических анемиях различного происхождения (порфирии, лекарства, несовместимость крови, дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы).

2. **Паренхиматозная** (печеночно-клеточная) желтуха – нарушено извлечение билирубина печеночными клетками, его конъюгирование и выведение. *Гипербилирубинемия* развивается за счет обеих фракций: количество непрямого билирубина возрастает за счет функциональной недостаточности гепатоцитов или снижения их количества, а прямого – за счет цитолиза гепатоцитов. В моче определяется билирубин, умеренно увеличена концентрация уробилина, уровень стеркобилина кала в норме или снижен.

Наблюдается при вирусных и других формах гепатитов, циррозе и опухолях печени, жировой дистрофии, при других состояниях.

3. **Механическая** (подпеченочная) желтуха развивается вследствие нарушения оттока желчи при закупорке желчного протока. В результате застоя желчи происходит растяжение желчных капилляров, увеличивается их проницаемость. Не имеющий оттока в желчь прямой билирубин поступает в кровь и в результате развивается гипербилирубинемия. В тяжелых случаях, вследствие переполнения гепатоцитов прямым билирубином, конъюгация с глюкуроновой кислотой нарушается и в крови увеличивается количество несвязанного билирубина. В моче резко увеличен уровень билирубина, практически отсутствует стеркобилин кала.

Кроме желчно-каменной болезни, подпеченочные желтухи выявляются при новообразованиях поджелудочной железы и гельминтозах.

#### Оформление работы

Записывают принцип метода, ход работы и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение, делают вывод о возможной патологии.

## Лабораторная работа 2

### **ОБНАРУЖЕНИЕ БИЛИРУБИНА И УРОБИЛИНОГЕНА В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПОЛОСОК «ИКТОФАН»**

#### *Принцип*

Полоски содержат две зоны индикации – для билирубина и для уробилиногена.

Тест основан на реакции сочетания билирубина со стабилизированным диазореактивом. Реакционная зона содержит *п*-нитрофенилдиазониевый-*п*-толуолсульфонат, натриевый бикарбонат и сульфосалициловую кислоту. При контакте с конъюгированным (прямым) билирубином через 30 секунд появляется сиреневато-бежевая (сиреневато-розовая) окраска, интенсивность которой зависит от количества определяемого билирубина.

Определение уробилиногена основано на реакции азосочетания уробилиногена со стабилизированной солью диазония. Реакционная зона меняет цвет в присутствии уробилиногена на розовый или красный.

#### *Материал исследования*

Нормальная моча и моча с билирубином.

#### *Нормальные величины*

##### Моча

Билирубин проба отрицательна

Уробилиноген до 17,0 мкмоль/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

##### Моча

Билирубинурия характерна для обтурационной и паренхиматозной желтух при повышении уровня прямого билирубина в сыворотке, но отсутствует при гемолитической. При гепатите билирубин может быть обнаружен в моче до появления желтухи.

Повышение концентрации уробилиногена в моче наблюдается при паренхиматозных заболеваниях печени (гепатиты, циррозы, отравления), при гемолитических состояниях, кишечных заболеваниях, связанных с избыточным всасыванием стеркобилиногена слизистой оболочкой кишечника (энтероколиты, запоры).

#### *Оформление работы*

Записывают принцип метода, результаты исследования заносят в таблицу, отмечают клинико-диагностическое значение, делают вывод о возможной патологии.

Исследуемый материал	Реакция	Результат
Нормальная моча		
Моча с билирубином		

## ТЕМА 11.3. НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА КРОВИ. КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Кровь занимает особое место в метаболизме благодаря ряду специфических функций, принадлежащих ее химическим компонентам. Незаменима роль крови в газообмене и регуляции кислотно-основного состояния организма, нарушения которых часто встречаются в клинической практике.

### ЦЕЛЬ

Изучение кислотно-основного состояния крови и механизмов ее обеспечения.

Приобретение навыков определения концентрации неорганических фосфатов и ионов хлора в сыворотке крови и моче.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Электролиты плазмы крови:

○ макроэлементы: натрий, калий, кальций, фосфор, железо, хлор. Каково их распределение и значение в организме? Укажите нормальные концентрации в плазме крови. От каких факторов зависит их концентрация в плазме крови?

○ микроэлементы: йод, медь, цинк, кобальт, селен. Назовите примеры участия этих элементов в обмене веществ.

2. Механизм транспорта углекислого газа. В каком виде переносится углекислый газ? Роль карбоангидразы. Роль эритроцита в изменении концентрации бикарбонат-ионов плазмы.

3. Механизм транспорта кислорода. Как кислород связывается с гемоглобином? Кривая насыщения гемоглобина кислородом или диссоциации гемоглобина.

4. Схема реакций, происходящих в эритроците в капиллярах легких и капиллярах тканей.

5. Показатели кислотно-основного состояния. Их нормальные величины (см. Приложение 3).

6. Химические механизмы регуляции кислотно-основного состояния. Каким образом работают буферные системы крови – фосфатная, белковая, бикарбонатная, гемоглобиновая? Химические реакции.

7. Характеристика физиологических систем компенсации нарушения кислотно-основного состояния – роль легких, почек, печени и костной ткани. Каким образом они работают?

8. Влияние секреции желудка и поджелудочной железы на кислотно-основное состояние организма. Роль печени.

9. Основные виды нарушений кислотно-основного состояния – респираторный (дыхательный) ацидоз и алкалоз, метаболический ацидоз и алкалоз, причины, их вызывающие. Изменение показателей кислотно-основного состояния при данных нарушениях. Способы компенсации нарушений.

10. Причины сдвигов кислотно-основного равновесия при нижеперечисленных состояниях, способы их химической и физиологической компенсации:

- |                               |  |
|-------------------------------|--|
| ○ сахарный диабет,            | ○ хроническая почечная недостаточность (снижение функции почек), |
| ○ пневмония,                  | ○ черепно-мозговая травма с возбуждением дыхательного центра,    |
| ○ тканевая гипоксия,          | ○ подъем высоко в горы,  |
| ○ отравление этанолом,        | ○ правожелудочковая сердечная недостаточность.                   |
| ○ неукротимая рвота,          |  |
| ○ диарея,                     |  |
| ○ приступ бронхиальной астмы, |  |
| ○ хронический бронхит,        |  |

11. Принцип количественного определения содержания неорганических фосфатов в сыворотке крови и моче. Клинико-диагностическое значение и нормальные показатели.

12. Определение концентрации ионов хлора в сыворотке крови и моче. Клинико-диагностическое значение и нормальные величины.

### **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Сочетанные нарушения кислотно-основного состояния. Методы определения показателей КОС в клинико-лабораторной практике.

#### **Лабораторная работа 1**

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ФОСФАТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

#### ***Принцип***

Фосфорная кислота сыворотки крови в кислой среде реагирует с ванадатом и молибдатом аммония с образованием фосфорно-ванадиево-молибденовой кислоты желтого цвета. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации неорганического фосфора в пробе и определяется фотометрически.

#### ***Материал исследования***

Сыворотка крови. Моча, разведение 1:5.

#### ***Реактивы***

1) 10 % трихлуксусная кислота, 2) рабочий раствор, содержащий 1 ммоль/л аммония молибдата и 1 ммоль/л аммония ванадата.

Стандартный раствор  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2,5 ммоль/л.

### Проведение анализа

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Стандарт, мл
Сыворотка	0,2	—	—
Моча, разведение 1:5	—	0,2	—
Стандартный раствор	—	—	0,2
Дистиллированная вода	0,6	0,6	0,6
ТХУ	0,8	0,8	0,8
	Через 5-8 минут пробы фильтруют или центрифугируют 10 минут при 1500 об/мин		
Супернатант	0,8	0,8	0,8
Рабочий раствор	1,0	1,0	1,0
	Перемешивают. Через 20 минут измеряют оптическую плотность опытных проб и стандарта против воды при длине волны 670 нм (красный светофильтр)		

### Расчет

$$\text{Концентрация фосфатов сыворотки, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

$$\text{Концентрация фосфатов мочи, ммоль/сут} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 5 \times Д, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандарта,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора, 5 – разведение мочи,

Д – величина диуреза (1300-1500 мл/сут).

### Нормальные величины

Сыворотка

0,81-1,48 ммоль/л

Моча

25,8-48,4 ммоль/сут

### Клинико-диагностическое значение

Концентрация фосфатов в сыворотке крови и моче прежде всего зависит от функции паращитовидных и щитовидных желез, функции почек, регулирующего влияния кальцитриола.

#### Сыворотка

**Гиперфосфатемия** наблюдается при почечной недостаточности, гипертиреозе, гипопаратиреозидизме, акромегалии, заживлении костных переломов, метастазах в кости, передозировке витамина D, остром дыхательном ацидозе, может быть при миеломной болезни.

**Снижение** концентрации фосфатов отмечается при инфузии глюкозы и гиперинсулинизме, так как инсулин способствует транспорту фосфора в клетки; диабетическом кетоацидозе, так как глюкозурия повышает экскрецию фосфатов с мочой; гипокалиемии, гиперпаратиреозе, при рахите и остеомалации, остром алкоголизме, синдроме мальабсорбции.

## Моча

Выделение фосфатов *возрастает* при ускорении катаболических процессов в организме – гипертиреоз, менингит, диабетический кетоацидоз, лейкоз, нарушение функции почек.

*Снижение* концентрации в моче отмечается при туберкулезе, гипопаратиреозе, нарушении функции паращитовидных желез.

## *Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## Лабораторная работа 2

### **КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ ХЛОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

#### *Принцип*

В присутствии ионов хлора в кислой среде тиоцианат ртути образует тиоцианат-ионы, образующие окрашенный комплекс с ионами железа  $\text{Fe}^{3+}$ . Интенсивность окраски пропорциональна концентрации хлорид-ионов в пробе и определяется колориметрически.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови. Моча, разведение 1:2.

#### *Реактивы*

1) Рабочий реагент, содержащий 2,0 ммоль/л тиоцианата ртути  $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ , 30,0 ммоль/л нитрита железа  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , 4,0 ммоль/л азотной кислоты  $\text{HNO}_3$ .

Стандартный раствор  $\text{NaCl}$ , 100 ммоль/л.

#### *Проведение анализа*

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Контроль, мл
Сыворотка	0,01		—
Моча, разведение 1:2	—	0,01	—
Раствор $\text{NaCl}$	—	—	0,01
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0
	Тщательно перемешивают. Через 5 минут измеряют оптическую плотность опытных и стандартной проб против воды при длине волны 490 нм (синий светофильтр)		

#### *Расчет*

$$\text{Концентрация хлоридов сыворотки, ммоль/л} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

$$\text{Концентрация хлоридов мочи, ммоль/сут} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 2 \times D, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандарта,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора, 2 – разведение мочи,

Д – величина диуреза (1300-1500 мл/сут).

*Нормальные величины*

Сыворотка	97-108 ммоль/л
Моча	120-240 ммоль/сут

*Клинико-диагностическое значение*

Сыворотка

*Повышение* концентрации ионов хлора наблюдается при обезвоживании, вызванном недостаточным поступлением жидкости, при заболеваниях почек, декомпенсации сердца, гипервентиляции (респираторный алкалоз), гипофункции коры надпочечников.

*Снижение* выявляется при обезвоживании в результате потерь жидкости (рвота, понос, интенсивное потоотделение), при стенозе привратника, почечном диабете, желудочной гиперсекреции, недостаточности коры надпочечников, увеличении объема внеклеточной жидкости, инфекционных заболеваниях и других патологических состояниях. Любая значительная гипохлоремия может привести к компенсационному повышению фракций остаточного азота из-за стремления организма сохранить постоянство осмотического давления.

Моча

Концентрация ионов хлора *нарастает* при недостаточности коры надпочечников, нефритах, применении диуретиков.

*Уменьшение* их концентрации отмечается при большой потере хлора через желудочно-кишечный тракт, голодании, синдроме Иценко-Кушинга, при сильном потоотделении.

*Оформление работы*

Указывают принцип метода, ход работы, нормальные величины и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение показателя и делают выводы о возможной патологии.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ.

### 1. ГИПОАЛЬБУМИНЕМИЯ ВОЗНИКАЕТ ВСЛЕДСТВИЕ

- 1) обезвоживания организма
- 2) инфекционных заболеваний
- 3) отравления токсинами
- 4) нарушения усвоения белка

### 2. ФУНКЦИЕЙ АЛЬБУМИНОВ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) транспорт эндогенных метаболитов
- 2) участие в иммунных реакциях
- 3) участие в свертывании крови
- 4) регуляция белкового обмена

### 3. В НАИБОЛЬШЕМ КОЛИЧЕСТВЕ ЖЕЛЕЗО В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА НАХОДИТСЯ В СОСТАВЕ

- 1) гемоглобина
- 2) ферритина
- 3) гемосидерина
- 4) трансферрина

### 4. НАИБОЛЬШАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ФЕРРИТИНА НАБЛЮДАЕТСЯ В

- 1) печени
- 2) эритроцитах
- 3) желудке
- 4) почках

### 5. НАИБОЛЬШИЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ БИЛИРУБИН ОКАЗЫВАЕТ НА

- 1) гепатоциты
- 2) нервные клетки
- 3) мышечные клетки
- 4) спленоциты

### 6. ДЛЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ ХАРАКТЕРНО В КРОВИ

- 1) повышение концентрации прямого билирубина
- 2) увеличение количества желчных кислот
- 3) накопление непрямого билирубина
- 4) повышение концентрации гемоглобина

### 7. АРТЕРИАЛЬНАЯ КРОВЬ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ ИМЕЕТ ВЕЛИЧИНУ PH

- 1) 6,35-7,45
- 2) 7,37-7,45

- 3) 7,00-7,25
- 4) 6,85-7,15

8. ПРИЧИНОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) повышение вязкости крови
- 2) снижение концентрации углекислоты
- 3) усиление аммониегенеза
- 4) гипервентиляция легких

9. РАЗВИТИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА МОЖЕТ БЫТЬ СВЯЗАНО С

- 1) сильной рвотой
- 2) использованием гипокалиемических диуретиков
- 3) накоплением бикарбонат-ионов
- 4) интенсивной мышечной работой

10. РАЗВИТИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЛКАЛОЗА МОЖЕТ БЫТЬ СВЯЗАНО С

- 1) гемолитической анемией
- 2) интенсивной рвотой
- 3) сахарным диабетом
- 4) гипервентиляцией легких

### СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Из биохимической лаборатории принесли два анализа содержания белка в крови: 30 г/л и 100 г/л, которые были сделаны у двух больных – ребенка с обширными ожогами и мужчины с гипоацидным гастритом, панкреатитом (воспалением поджелудочной железы).

*Указать больных, которым принадлежат эти анализы. Обосновать вывод.*

2. У больного выявлено значительное увеличение остаточного азота крови.

*Предложить комплекс биохимического исследования для уточнения причины увеличения остаточного азота.*

3. У больного затруднено дыхание, оно становится поверхностным, рН крови 7,31, рСО<sub>2</sub> равен 52 ммоль/л, показатель [НСО<sub>3</sub><sup>-</sup>] равен 37 ммоль/л, щелочной резерв увеличен.

*Указать вид нарушения кислотно-основного состояния у больного. Предположить механизмы компенсации нарушения.*

## **РАЗДЕЛ 12**

### **БИОХИМИЯ ПОЧЕК**

#### **ТЕМА 12.1. ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН. НОРМАЛЬНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ МОЧИ**

##### ***АКТУАЛЬНОСТЬ***

Почки участвуют в регуляции водно-солевого баланса, поддержании кислотно-основного состояния, осмотического давления жидкостей организма, кровяного давления, стимуляции эритропоэза.

Объем и состав образуемой в почках мочи может меняться в значительных пределах, отражая состояние водно-солевого обмена и других сторон метаболизма организма. Обследование каждого больного, не только в стационаре, но и в амбулаторных условиях, должно сопровождаться обязательным анализом мочи, так как это исследование может помочь в постановке диагноза, а нередко совершенно изменить первоначальные диагностические предположения, оценить эффективность проводимой терапии.

##### ***ЦЕЛЬ***

Изучить механизмы образования мочи, общие свойства и химический состав мочи в норме и при патологии, роль почек в поддержании кислотно-основного состояния.

Приобретение навыков определения физико-химических свойств и количественного состава мочи.

##### ***ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ***

1. Метаболизм почек. Отличие обмена веществ в корковом и мозговом слоях. В какой части почек происходит аэробное и анаэробное окисление глюкозы, глюконеогенез? Особенности обмена белков и липидов в почках. Роль почек в синтезе биологически активных веществ (креатин, эритропоэтин, 1,25-дигидроксиэргостерол).

2. Роль ферментов в реализации функции почек – глицинаминидин-трансфераза,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза, глутаматдегидрогеназа, глутаминдезаминаза, щелочная фосфатаза, изоферменты лактатдегидрогеназы.

3. Схема строения нефрона. Процессы образования мочи: фильтрация, реабсорбция и секреция. Места действия и эффект гормонов, регулирующих минеральный и водно-солевой обмены.

4. Характеристика фильтрации, факторы, влияющие на ее скорость и величину. Оценка скорости фильтрации в клинической практике. Клиренс. Вещества, используемые для определения клиренса.

5. Реабсорбция, биохимические реакции, происходящие в просвете канальца и в клетках проксимального и дистального отделов нефрона. Транспорт максимум для глюкозы. Противоточно-умножительный механизм концентрирования мочи.

6. Источники воды в организме и пути ее выведения. Роль кожи, легких, органов ЖКТ и почек в выведении воды. Рециркуляция воды между кровью и ЖКТ, кровью и почками. Потребность в чистой воде детей и взрослых. Особенности водного обмена у детей.

7. Опишите факторы, влияющие на количество воды в организме – осмоляльность крови, объем циркулирующей крови, артериальное давление, концентрация натрия и калия.

8. Регуляция реабсорбция воды. Роль антидиуретического гормона. Факторы, стимулирующие его синтез и выделение. Метаболические последствия гипофункции антидиуретического гормона, клинические проявления.

9. Регуляция реабсорбции натрия. Активация и функционирование ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Схема, отражающая роль ренин-ангиотензиновой системы в реабсорбции натрия. Механизм возникновения гипертензии при нарушении кровообращения в почках, причины таких нарушений.

10. Регуляция реабсорбции кальция. Роль 1,25-дигидрохальцита, паратгормона и кальцитонина в обмене кальция.

11. Роль почек в поддержании кислотно-основного состояния – реабсорбция бикарбонатов, ацидогенез, аммонийногенез, выделение органических кислот.

12. Общие свойства мочи здорового человека: количество, цвет, прозрачность, запах, относительная плотность, pH. Как изменяются эти показатели при патологических состояниях?

13. Органические и неорганические компоненты мочи здорового человека.

14. Причины появления патологических компонентов мочи – белок, глюкоза, желчные пигменты, кетоновые тела, кровь, ферменты.

15. Принцип методов определения физико-химических свойств мочи (плотность, величина pH). Клинико-диагностическое значение этих показателей. Нормальные величины.

16. Принцип лабораторного определения компонентов мочи – белок, глюкоза, кетоновые тела, билирубин, уробилиноген, гемоглобин, эритроциты. Клинико-диагностическое значение, нормальные величины.

17. Оценка скорости клубочковой фильтрации в клинико-лабораторной диагностике. В чем состоит определение клиренса по креатинину?

## **ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТИВНЫХ СООБЩЕНИЙ**

1. Физиологическая и патологическая протеинурия и креатинурия.
2. Механизм действия диуретических средств. Использование диуретиков в клинической практике.

### Лабораторная работа 1

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЧИ**

### *Материал исследования*

Нормальная моча и образцы мочи N 1, 2, 3.

### *Определение относительной плотности*

#### *Оборудование*

Урометр, высокий цилиндр для мочи.

#### *Проведение анализа*

При наличии пены на поверхности мочи ее удаляют фильтровальной бумагой.

Если мочи мало, то ее можно перед исследованием развести в 2-3 раза дистиллированной водой, а потом полученный результат умножить на степень разведения.

В высокий узкий цилиндр наливают по стенке мочу и осторожно погружают в нее урометр так, чтобы урометр не касался стенок и дна цилиндра. Производят отсчет по шкале урометра, используя нижний мениск жидкости.

В случае большой относительной плотности мочи берут второй тип урометра (шкала 1,030-1,060). Если моча имеет температуру, не соответствующую условиям, отмеченным на урометре, то на каждые 3°C выше или ниже этой температуры соответственно добавляют или отнимают по 0,001 от показаний шкалы урометра.

### *Нормальные величины*

Моча 1,010-1,025

### *Клинико-диагностическое значение*

Относительная плотность нормальной мочи прямо зависит от концентрации растворимых веществ и находится в обратной связи с количеством выделяемой мочи.

Увеличение относительной плотности мочи отмечается при сахарном диабете (глюкозурия), поражении гломерулярного фильтра (протеинурия).

Снижение плотности связано с полиурией любой этиологии.

### *Определение pH*

#### *Принцип*

Основан на изменении цвета индикатора в соответствии с pH раствора.

### *Проведение анализа*

Полоску индикаторной бумаги опускают в пробирку с мочой и по изменению цвета, сравнивая с эталонной шкалой на упаковке, устанавливают pH исследуемой мочи.

### *Нормальные величины*

Моча 5,0-6,5

### *Влияющие факторы*

При преимущественно белковом питании реакция мочи кислая, при растительной диете – щелочная. Кислая реакция мочи обусловлена, прежде всего, ионами  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  и  $\text{NH}_4^+$ , а щелочная – ионами  $\text{HCO}_3^-$ .

### *Клинико-диагностическое значение*

Преобладание в пище животных белков определяет сдвиг pH мочи в кислую сторону, преобладание растительной пищи – в щелочную.

Резко кислая реакция мочи наблюдается при лихорадочных состояниях, сахарном диабете, голодании и т. д. Щелочная реакция мочи отмечается при циститах и пиелитах, сильной рвоте, диарее (поносе), введении бикарбоната натрия и употреблении щелочных минеральных вод.

Кислотность мочи определяет возможность образования тех или иных типов мочевых камней. Мочекислые камни (уратные) чаще всего образуются при pH ниже 5,5, оксалатные – при pH 5,5-6,0, кальций-фосфатные – при pH 7,0-7,8.

### *Оформление работы*

Записывают принцип методов и результаты исследования. Результаты данной работы используют для выводов в лабораторной работе 2.

	Выявляемый показатель			
	Плотность	Цвет	Прозрачность	pH
Норма				
Образец N 1				
Образец N 2				
Образец N 3				

## Лабораторная работа 2

### **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА МОЧИ**

#### *Материал исследования*

Нормальная моча и образцы мочи N 1, 2, 3.

#### *Оборудование*

Тест-полоски «Глюкофан», «Кетофан», «Альбуфан», «Иктофан», «Гемофан».

#### *Проведение анализа*

Не прикасаясь руками к зоне индикации, из пенала упаковки берут полоску и погружают на 1-2 секунды в исследуемую жидкость. Капли мо-

чи удаляют, проведя полоской по краю сосуда. Полоски оставляют в горизонтальном положении. Через 1 минуту по цветной шкале на упаковке определяют концентрацию искомого вещества.

### *Определение глюкозы тест-полосками «Глюкофан»*

#### *Принцип*

Принцип определения глюкозы основан на ферментной глюкозооксидазной реакции. Зона индикации пропитана растворами ферментов глюкозооксидазы, пероксидазы и красителем тетраметилбензидином. Глюкоза с помощью глюкозооксидазы окисляется кислородом воздуха до глюконовой кислоты с образованием перекиси водорода. Перекись водорода в присутствии фермента пероксидазы окисляет краситель, и происходит переход желтой окраски в зеленую.

#### *Нормальные величины*

##### Моча

Глюкоза	тест-полоски «Глюкофан»	проба отрицательна
	другие методы	0,1-0,8 ммоль/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Уровень глюкозы в моче возрастает при всех случаях гипергликемии свыше 10 ммоль/л (почечного порога).

Глюкозурии могут быть физиологическими и патологическими.

К физиологическим относятся алиментарная глюкозурия, глюкозурия беременных и нейрогенная глюкозурия на почве стрессовых состояний.

Патологическая глюкозурия обнаруживается:

- при гипергликемии – сахарный диабет, тиреотоксикоз, акромегалия, гиперплазия коры надпочечников, инфаркт миокарда, отравления морфином, фосфором, кровоизлияния во внутренние органы, острые инфекции и нервные заболевания;
- при повреждениях почечных канальцев – пиело- и гломеруло-нефриты, токсические поражения почек, почечный диабет (семейная почечная глюкозурия), нефропатии.

### *Определение кетоновых тел тест-полосками «Кетофан»*

#### *Принцип*

Тест основан на индикации с помощью тест-полосок, содержащих щелочной буфер в смеси с нитропруссидом натрия, дающий с ацетоном и ацетоуксусной кислотой красное, вишневое или фиолетовое окрашивание. Проба более чувствительна к ацетоуксусной кислоте, чем к ацетону. С  $\beta$ -гидроксимасляной кислотой индикатор не реагирует. Таким образом, интенсивность окраски отражает только концентрацию ацетоуксусной кислоты в моче.

### *Нормальные величины*

#### Моча

Кетоновые тела	тест-полоски «Кетофан» другие методы	проба отрицательна  20-30 мг/сут
----------------	--	--

#### *Клинико-диагностическое значение*

Кетоновые тела в моче (кетонурия) появляются при кетонемии, которая возникает при голодании, сахарном диабете, при повышении концентрации жиромобилизующих гормонов в крови, при ацетонемических состояниях у детей.

#### *Определение белка тест-полосками «Альбуфан»*

#### *Принцип*

Тест основан на изменении цвета с желтого до зелено-голубого кислотно-основных индикаторов (тетрабромфенолового синего и эфира тетрабромфенолфталеина) под влиянием белков. Проба наиболее чувствительна к альбуминам, значительно менее чувствительна к глобулинам, мукопротеинам, гемоглобину. При сильно щелочном pH мочи проба может давать ложноположительные результаты.

### *Нормальные величины*

#### Моча

Белок	Тест-полоски «Альбуфан» Другие методы	проба отрицательна  10-140 мг/л
-------	---	---------------------------------------

#### *Клинико-диагностическое значение*

Небольшое количество белка в суточной моче обнаруживается и у практически здоровых лиц, однако в разовой порции мочи такие концентрации обычными методами не выявляются. Часть этих белков сывороточного происхождения, другая часть является продуктом клеток мочевыводящих путей.

Принято подразделять протеинурию в зависимости от места возникновения:

- преренальную, связанную с усиленным распадом белка тканей или выраженным гемолизом;
- ренальную, обусловленную патологией клубочков или канальцев почек;
- постренальную, связанную с воспалением мочевыводящих путей.

#### *Определение билирубина и уробилиногена тест-полосками «Иктофан»*

#### *Принцип*

Полоски содержат две зоны индикации – для билирубина и для уробилиногена.

Тест основан на реакции сочетания билирубина со стабилизированным диазореактивом (см. Тема 11. 2. «Определение концентрации общего билирубина и его фракций в сыворотке крови»). Реакционная зона содержит *p*-нитрофенилдиазониевый *p*-толуолсульфонат, натриевый бикарбонат и сульфосалициловую кислоту. При контакте с конъюгированным (прямым) билирубином через 30 секунд появляется сиреневато-бежевая (сиреневато-розовая) окраска, интенсивность которой зависит от количества определяемого билирубина.

Определение уробилиногена основано на реакции азосочетания уробилиногена со стабилизированной солью диазония. Реакционная зона меняет цвет в присутствии уробилиногена на розовый или красный.

### Нормальные величины

Моча

**Билирубин** проба отрицательна

Уробилиноген до 17,0 мкмоль/л

### Клинико-диагностическое значение

Появление билирубина в моче связано с механической и паренхиматозной желтухами, при которых из крови в мочу фильтруется прямой билирубин.

Повышение концентрации уробилиногена в моче наблюдается при паренхиматозных заболеваниях печени (гепатиты, циррозы, отравления), при гемолитических состояниях, кишечных заболеваниях, связанных с избыточным всасыванием стеркобилиногена слизистой оболочкой кишечника (энтероколиты, запоры).

### Определение гемоглобина и эритроцитов тест-полосками «Гемофан»

Кровь в моче может находиться в двух видах – в виде клеток крови (гематурия, эритроцитурия) или в виде кровяного пигмента (гемоглобинурия).

### Принцип

Зона индикации тест-полосок содержит органический гидропероксид (куменовая перекись водорода) и индикатор тетраметилбензидин. Гемоглобин катализирует окисление индикатора гидропероксидом с образованием окрашенных в сине-зеленый цвет продуктов.

В присутствии свободного гемоглобина (гемоглобинурия или гемолиз присутствовавших первично эритроцитов) вся сенсорная зона окрашивается в более или менее гомогенный сине-зеленый цвет.

Неизмененные (целые) эритроциты (микрогематурия) проявляются интенсивно окрашенными сине-зелеными точками или пятнышками на неокрашенной реагентной зоне или равномерной сине-зеленой окраской всей зоны (макрогематурия).

При отрицательной реакции зона индикации остается желтоватой (без зеленого оттенка).

### *Нормальные величины*

#### Моча

Эритроциты и гемоглобин	дети	проба отрицательна или слабо положительна
	взрослые	проба отрицательна

### *Клинико-диагностическое значение*

Единичные эритроциты обнаруживаются в моче даже абсолютно здоровых людей. У практически здоровых людей в сутки выделяется до 1 миллиона эритроцитов, что соответствует содержанию в 1 мкл мочи 1 эритроцита.

Гематурия обнаруживается при поражении паренхимы почки (гломерулонефрит, пиелонефрит, опухоли), при тяжелой физической нагрузке, при поражении мочевыводящих путей.

### *Нормальные величины*

#### Моча

Белок	Тест-полоски «Альбуфан»	проба отрицательна
	Другие методы	10-140 мг/л
Кетоновые тела	тест-полоски «Кетофан»	проба отрицательна
	другие методы	20-30 мг/сут
Глюкоза	тест-полоски «Глюкофан»	проба отрицательна
	другие методы	0,1-0,8 ммоль/л или 1-15 мг/100 мл (мг %)
Эритроциты и гемоглобин	дети	проба отрицательна или слабо положительна
	взрослые	проба отрицательна
рН		5,0-6,5

### *Оформление работы*

Записывают принцип методов, результаты исследования образцов мочи и с учетом результатов «Лабораторной работы 1» делают выводы о возможной патологии организма.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. НЕОБХОДИМОЕ КОЛИЧЕСТВО ЧИСТОЙ ВОДЫ В СУТОЧНОМ РАЦИОНЕ РЕБЕНКА ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ СОСТАВЛЯЕТ
  - 1) 15 мл на кг веса
  - 2) 30 мл на кг веса
  - 3) 100 мл на кг веса
  - 4) 500 мл на кг веса
2. МИНИМАЛЬНОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ВОДЫ У ВЗРОСЛОГО В СУТКИ СОСТАВЛЯЕТ
  - 1) 100 мл
  - 2) 200 мл
  - 3) 700 мл
  - 4) 1400 мл
3. ВОДНО-СОЛЕВОЙ БАЛАНС РЕГУЛИРУЕТ
  - 1) антидиуретический гормон
  - 2) ренин-альдостероновая система
  - 3) атриопептиновая система
  - 4) гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система
4. В ПОЧКАХ СИНТЕЗИРУЕТСЯ РЕГУЛЯТОР ТОНУСА ГЛАДКИХ МЫШЦ СОСУДОВ
  - 1) брадикинин
  - 2) норадреналин
  - 3) окситоцин
  - 4) вазопрессин
5. РЕГУЛИРУЕМАЯ РЕАБСОРБЦИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ ПРОИСХОДИТ В
  - 1) проксимальных канальцах
  - 2) дистальных канальцах
  - 3) восходящей части петли Генле
  - 4) собирательных трубочках
6. РЕГУЛИРУЕМАЯ РЕАБСОРБЦИЯ ВОДЫ ПРОИСХОДИТ В
  - 1) проксимальных канальцах
  - 2) на всем протяжении нефрона
  - 3) восходящей части петли Генле
  - 4) дистальных канальцах и собирательных трубочках
7. ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ PH КРОВИ ПОЧКАМИ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ БЛАГОДАРЯ АКТИВАЦИИ

- 1) аммониегенеза
- 2) реабсорбции натрия
- 3) реабсорбции воды
- 4) секреции мочевой кислоты

8. НАСЫЩЕННО-ЖЕЛТЫЙ ЦВЕТ МОЧИ СИГНАЛИЗИРУЕТ о

- 1) беременности
- 2) оротатацидурии
- 3) обезвоживании
- 4) интоксикации

9. ВМЕСТЕ С ЖЕЛЧЬЮ ПЕЧЕНЬ ВЫВОДИТ ИЗ ОРГАНИЗМА

- 1) гемоглобин
- 2) оксикальциферол
- 3) триацилглицеролы
- 4) холестерол

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ**

1. Больной длительное время находился в постели в неподвижном состоянии по поводу болезни сердца. Проведенный анализ мочи показал нарастание содержания солей  $\text{Ca}^{2+}$ .

*Указать причину нарастания солей  $\text{Ca}^{2+}$  у больного.*

2. Несколько лыжников совершили большой переход в условиях холодной погоды. У некоторых лыжников при исследовании в моче обнаружен белок.

*Указать причину появления белка в моче у здоровых спортсменов.*

3. У женщины внезапно появились боли в области печени, быстро развилось желтушное окрашивание склер, кожи, кал приобрел светлую окраску, моча приобрела цвет темного пива.

*Указать нарушения пигментного обмена и тип желтухи.*

## **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛАМ 10, 11, 12)**

1. Иерархия регуляторных систем. Место гормонов в регуляции метаболизма и функции органов.
2. Отличие мембранного и цитозольного механизмов передачи гормонального сигнала в клетку.
3. Мембранные механизмы передачи гормонального сигнала в клетку. Три вида рецепторов: с ферментативной активностью, с ионотропной активностью и связанные с G-белками.
4. Охарактеризуйте рецепторы, связанные с G-белками:
  - системы вторичных посредников и их взаимодействие,
  - аденилатциклазный механизм действия гормонов,
  - кальций-фосфолипидный механизм действия гормонов.
5. Общая характеристика гуанилатциклазного механизма действия гормонов.
6. Цитозольный механизм действия гормонов.
7. Классификация гормонов по химическому строению, биологическим функциям и принадлежности к эндокринным железам. Роль либеринов, статинов, тропных гормонов. В чем заключается обратная отрицательная связь в регуляции синтеза и действия гормонов?
8. Характеристика соматотропного гормона: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ и воды. Как регулируются синтез и секреция гормона? Состояния, связанные с нарушением действия гормона.
9. Характеристика антидиуретического гормона (вазопрессин): химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ и воды. Регуляция синтеза и секреции гормона. Состояния, обусловленные нарушением действия гормона.
10. Характеристика окситоцина: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, эффекты. Как регулируются синтез и секреция гормона?
11. Характеристика паратгормона и кальцитонина: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен кальция и фосфатов. Регуляция синтеза и секреции гормона. Какова их роль в обмене кальция и фосфатов витамина D<sub>3</sub>?
12. Гормоны поджелудочной железы глюкагон и инсулин: их химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов (ферменты, регулируемые гормоном). Регуляция синтеза и секреции гормона. Состояния, обусловленные отсутствием или избытком действия гормона.

13. Современные представления о механизмах развития инсулинзависимого сахарного диабета. Важнейшие изменения гормонального статуса и обмена веществ при сахарном диабете, биохимические механизмы развития осложнений сахарного диабета и диабетической комы.

14. Характеристика тиреотропного гормона: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, эффекты. Как регулируются синтез и секреция гормона?

15. Гормоны щитовидной железы тироксин и трийодтиронин: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов. Как регулируются синтез и секреция гормона? Состояния, обусловленные отсутствием или избытком действия гормона.

16. Адреналин: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов (ферменты, регулируемые гормоном). Регуляция синтеза и секреции гормона. Состояния, обусловленные нарушением действия гормона. В чем заключается участие адреналина в адаптивных реакциях организма при стрессе?

17. Характеристика адренокортикотропного гормона: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ. Как регулируются синтез и секреция гормона? Состояния, обусловленные отсутствием или избытком действия гормона.

18. Глюкокортикоиды: химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов (ферменты, регулируемые гормоном). Регуляция синтеза и секреции гормона. Состояния, обусловленные отсутствием или избытком действия гормона. Причины использования глюкокортикоидов в качестве противовоспалительных и противоаллергических лекарственных средств. Участие глюкокортикоидов в адаптивных реакциях организма при стрессе.

19. Минералокортикоиды: их химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен электролитов и воды. Каким образом регулируются синтез и секреция гормонов? Роль ренин-ангиотензиновой системы. Состояния, обусловленные отсутствием или избытком действия гормона. Биохимические механизмы развития почечной гипертензии.

20. Лактотропный гормон: химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ. Как регулируются синтез и секреция гормона?

21. Характеристика гонадотропных гормонов: фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны: химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на женский месячный цикл. Регуляция синтеза и секреция гормонов.

22. Андрогены и эстрогены: химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов. Как регулируются синтез и секреция гормонов. Использование аналогов андрогенов и эстрогенов в качестве лекарственных средств.

23. Проведение качественных реакций на инсулин. Принцип метода определения пролактина и тестостерона в сыворотке крови. Клинико-диагностическое значение.

24. Понятие общего белка крови, компоненты, входящие в его состав. Физиологические функции белков крови, нормальные показатели их концентрации. Причины изменения концентрации общего белка в крови.

25. Белковые фракции сыворотки крови. Характеристика альбуминов, причины гипо-, гипер- и аальбуминемий. Глобулины и их основные фракции. Основные представители глобулиновых фракций (см. Приложение 2). Биологическая роль альбуминов и глобулинов. Нормальные показатели белковых фракций. Диспротеинемии и парапротеинемии. Причины изменения концентрации белковых фракций в крови. Изменение соотношения белковых фракций при заболеваниях печени, почек, остром и хроническом воспалении, опухолях (протеинограммы).

26. Небелковые азотсодержащие компоненты крови – фракции остаточного азота, их характеристика. Роль и метаболизм мочевины, креатинина, мочевой кислоты. Клинико-диагностическое значение определения этих веществ в крови, их нормальные показатели. Причины и последствия гипераммониемий и азотемий.

27. Характеристика ферментов крови – плазмоспецифичные, индикаторные, экскреторные ферменты. Примеры. Использование ферментов крови для диагностики заболеваний.

28. Принцип разделения белков сыворотки крови методом электрофореза.

29. Особенности метаболизма эритроцита. Роль гликолиза и пентозофосфатного пути.

30. Метаболизм железа. Пищевые источники, нормы потребления, транспорт, депонирование и мобилизация, роль трансферрина и ферритина. Каковы клинические и лабораторные признаки недостаточности железа?

31. Строение молекулы гемоглобина. Строение гема. Нормальные и патологические формы гемоглобина. Механизм регуляции сродства гемоглобина к кислороду – кооперативный эффект, эффект Бора, роль 2,3-дифосфоглицериновой кислоты.

32. Реакции синтеза гема и гемоглобина. Регуляция процессов синтеза. Характеристика нарушений обмена гемоглобина – порфирии, талассемии, гемоглобинозы.

33. Реакции распада гема, образования билирубина и билирубин-глиукуронида, их локализация. Основные этапы превращения желчных

пигментов в организме. Пути выведения билирубина и других желчных пигментов.

34. Нарушения обмена желчных пигментов. Лабораторные критерии различных видов желтух (надпеченочные, печеночные, подпеченочные).

35. Нарушения пигментного обмена у детей: 1) гемолитические желтухи; 2) физиологические желтухи новорожденных и недоношенных; 3) наследственные нарушения обмена билирубина – синдромы Жильбера-Мейленграхта, Дубина-Джонсона, Криглера-Найара.

36. Принцип метода обнаружения билирубина и уробилиногена в моче. Клинико-диагностическое значение.

37. Методы количественного определения общего билирубина и его фракций в сыворотке крови, клинико-диагностическое значение.

38. Дыхательная функция крови. Механизмы транспорта кислорода и углекислого газа.

39. Характеристика показателей кислотно-основного состояния (см. Приложение 3). Химические и физиологические механизмы регуляции кислотно-основного состояния. Взаимосвязь транспорта кислорода и углекислого газа с механизмами поддержания кислотно-основного состояния.

40. Роль почек в регуляции кислотно-основного состояния: реабсорбция бикарбонатов, ацидогенез, аммионогенез.

41. Нарушения кислотно-основного состояния, его причины, изменение показателей кислотно-основного состояния. Способы компенсации при различных нарушениях КОС.

42. Принцип количественного определения содержания неорганических фосфатов и ионов хлора в сыворотке крови и моче. Клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

43. Характеристика биохимических процессов в нефроне. Противоточно-умножительный механизм образования мочи. Особенности реабсорбции электролитов и воды в различных отделах нефрона. Роль гормонов в процессах реабсорбции.

44. Состав и физико-химические свойства мочи. Нормальные и патологические компоненты мочи, их клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

45. Принцип методов и ход определения физико-химических свойств мочи:

- определение относительной плотности мочи;
- определение pH мочи с помощью индикаторной бумаги.

46. Принцип методов и ход определения патологических компонентов мочи:

- определение концентрации белка, глюкозы, кетоновых тел, желчных пигментов, гемоглобина при помощи тест-полосок «Альбуфан», «Глюкофан», «Кетофан», «Иктофан», «Гемофан».

# ОТВЕТЫ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

## *Раздел 1. «Строение, свойства и функции белков»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	2	6	4
2	3	7	1
3	3	8	2, 3, 5
4	5	9	1
5	1, 2, 3, 4, 5	10	4

## *Раздел 2. «Строение, классификация и роль витаминов»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	3	6	2
2	3	7	3
3	2	8	3
4	1	9	1
5	1	10	3

## *Раздел 3. «Энзимология»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	4	6	1
2	1	7	5
3	3	8	2
4	1	9	1
5	3	10	2

## *Раздел 4. «Биологическое окисление»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	4	6	2
2	3	7	1
3	2	8	3
4	4	9	2
5	1	10	1

*Раздел 5. «Обмен аминокислот и белков»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	2	6	3
2	3	7	4
3	2	8	2
4	1	9	1
5	4	10	1

*Раздел 6. «Строение и обмен пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	3	6	1
2	2	7	4
3	2	8	2
4	1	9	4
5	1	10	2

*Раздел 7. «Матричные биосинтезы»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	2	6	1
2	1	7	1
3	3	8	2
4	2	9	1
5	1, 3, 4	10	1

*Раздел 8. «Строение и обмен углеводов»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	3	6	3
2	3	7	3
3	2	8	3
4	4	9	1
5	3	10	2

*Раздел 9. «Строение и обмен липидов»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	1	6	1
2	3	7	4
3	3	8	2
4	2	9	1
5	1	10	4

*Раздел 10. «Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	2	6	3
2	3, 4	7	3
3	1	8	1
4	4	9	1
5	1	10	1

*Раздел 11. «Биохимия крови»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	4	6	3
2	1	7	2
3	1	8	1
4	1	9	4
5	2	10	2

*Раздел 12. «Биохимия почек»*

Номер вопро-са	Номер ответа	Номер вопро-са	Номер ответа
1	3	6	4
2	4	7	1
3	1, 2, 3	8	3
4	1	9	4
5	2		

# ОТВЕТЫ К СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ

## *Раздел 1. «Строение, свойства и функции белков»*

1. При pH 3,0 к катоду, при pH 10,5 к аноду. В водном растворе заряд данного пептида отрицательный. При pH 3,0 он перезаряжается на положительный и в электрическом поле движется к катоду, а при pH 10,5 его отрицательный заряд усиливается и в электрическом поле он движется к аноду.

2. Белок: А – будет передвигаться к аноду; Б – при pH 5,0 – к катоду, при pH 7,0 – к аноду; В – при pH 5,0 – к катоду, 9,5 – останется на месте, 11,0 – к аноду.

3. По свойствам на углеводород более похож первый пептид, так как он имеет только углеводородные радикалы. Этот же пептид лучше растворим в неводной среде, так как углеводородные радикалы гидрофобны. Первый пептид даст положительные биуретовую и нингидриновую реакции. Второй полипептид может участвовать в образовании солевых мостиков, так как в нем имеются свободная  $\text{NH}_2$ -группа лизина и  $\text{COOH}$ -группа глутаминовой кислоты.

## *Раздел 2. «Строение, классификация и роль витаминов»*

1. Пиридоксин участвует в переаминировании аминокислот. В первом случае происходит образование необходимых аминокислот из данных четырех, во втором случае это не столь необходимо.

2. Происходит конкурентное ингибирование микробных ферментов, ответственных за синтез фолиевой кислоты. В результате происходит нарушение синтеза бактериями собственного тетрагидрофолата. После лечения рекомендовано применение витаминов группы В и пробиотиков для восстановления микрофлоры.

3. Следует назначить витамин А, участвующий в регенерации тканей, витамин К для снижения вероятности кровотечений, витамин D для обеспечения организма кальцием.

## *Раздел 3. «Энзимология»*

1. При слабом нагревании происходит диссоциация олигомерного белка на субъединицы, что ликвидирует регуляторный центр. В то же время активный центр может сохранять свою работоспособность.

2. Растворение сухого препарата дистиллированной водой гарантирует отсутствие примесей и тяжелых металлов, способных связаться с функциональными группами белка. Перемешивать осторожно необходимо, чтобы избежать механической денатурации. При низкой температуре гарантирована низкая активность возможно попавших в раствор бактерий, также достигается снижение риска спонтанного раскручивания цепи. Высушивание препарата и запаивание в вакуумированные ампулы защищает фермент от воздействия кислорода и предотвращает окисление серосодержащих групп.

3. Так как эффект адреналина состоит в активации энергетического обмена (борьба или бегство), то его действие должно активировать фермент, обеспечивающий распад жира и его сжигание при мышечной работе. Из задачи известно, что гормон усиливает фосфорилирование ферментов, и поэтому логично предположить, что и липаза будет активироваться при фосфорилировании.

#### *Раздел 4. «Биологическое окисление»*

1. В нормальных митохондриях скорость движения электронов по дыхательной цепи строго согласована с потребностью в АТФ. Поэтому, если потребление АТФ сравнительно невелико (т. е. ее концентрация высока), то соответственно небольшой оказывается и скорость переноса электронов, которую подавляет наличие высокого электрохимического градиента. Разобщающие агенты нарушают строгое согласование количества АТФ и скорости электронов, встраиваясь в мембрану и вызывая снижение протонного градиента без участия АТФ-синтазы. В результате электроны быстро двигаются по цепи и восстанавливают кислород, однако АТФ не синтезируется и его концентрация низка. Соотношение Р/О, таким образом, снижается. Высокая скорость движения электронов по дыхательной цепи вызывает снижение их свободной энергии, часть которой рассеивается в виде тепла, что и вызывает обильное потоотделение и повышение температуры тела. При использовании разобщителей *in vivo* их снижающий количество АТФ эффект будет проявляться в основном в клетках, имеющих много митохондрий, т. е. в нервных клетках, что проявится как нарушение деятельности нервной системы.

2. Низкий коэффициент Р/О означает, что большая часть энергии веществ рассеивается в виде тепла, а не тратится на синтез АТФ. Это позволяет животным поддерживать температуру тела на нужном уровне. Механизмом, отвечающим за низкий коэффициент Р/О, является разобщение процессов окисления и фосфорилирования. Его обеспечивает термогенин – белок митохондриальной мембраны бурых жировых клеток.

## *Раздел 5. «Обмен аминокислот и белков»*

1. Низкая кислотность желудочного сока, снижение активности пепсина способствуют развитию микрофлоры, развиваются процессы гниения, которые сопровождаются образованием сероводорода. Для нормализации переваривания можно рекомендовать соляную кислоту с пепсином или желудочный сок.

2. Глутаминовая кислота – дикарбоновая моноаминокислота – способна связывать аммиак, образуя нетоксичный глутамин. При переаминировании она превращается в кетоглутаровую кислоту – важный субстрат ЦТК, который при окислении образует 4 молекулы АТФ. Глутаминовая кислота оказывает антиоксидантный эффект, снижая содержание липоперекисей, повреждающих клеточные мембраны.

3. У больного снижена мочевинообразовательная функция печени, поэтому содержание мочевины в крови и экскреция ее с мочой уменьшены. Для проверки предположения целесообразно исследовать активность ферментов орнитинового цикла синтеза мочевины – орнитинкарбамоилтрансферазы и аргиназы.

## *Раздел 6. «Строение и обмен пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов»*

1. Высокая концентрация мочевой кислоты в моче обнаруживается при гиперурикемии любого генеза. У взрослых это бывает при подагре или потреблении пуринсодержащих продуктов. В данном случае имеется сильный дефект фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, ответственного за реутилизацию пуриновых оснований – синдром Леша-Нихана. В результате образуется избыток мочевой кислоты.

2. Фолиевая кислота в своей активной форме  $N^5, N^{10}$ -метилен-ТГФК участвует в синтезе тимидилмонофосфата (ТМФ), являющегося абсолютно необходимым для синтеза ДНК и, следовательно, для деления клеток. Из-за прекращения деления число эритроцитов сокращается (анемия), но их рост не останавливается (мегалобластическая), аналогично развивается лейкопения и тормозится деление клеток эпителия (слизистые и кожа).

## *Раздел 7. «Матричные биосинтезы»*

1. Серповидно-клеточная анемия, при которой имеет место замещение глутаминовой кислоты на валин в  $\beta$ -цепи Hb, в ДНК происходит замена ЦТТ на ЦАТ.

2. Топоизомеразы являются ферментами, обеспечивающими разрезание нитей ДНК при ее раскручивании во время репликации. Если фермент заблокировать, то разрезания и расплетания не произойдет и репликация остановится, клетка не будет делиться. На этом и основан лечебный эффект препарата.

3. Общеизвестно, что белки организма отличаются друг от друга по причине разной последовательности и количеству нуклеотидов в их генах (на уровне ДНК). В данном случае, поскольку ген один для обоих белков, отличие должно создаваться на другом уровне. В данном случае – на уровне процессинга мРНК. В энтероцитах в молекулу мРНК при процессинге вводится терминирующий кодон так, что рибосомальный синтез белка прекращается на «полпути» и образуется апоВ-48. В гепатоцитах процессинг мРНК не сопровождается подобными изменениями и происходит считывание мРНК целиком, синтезируется апоВ-100-белок.

## *Раздел 8. «Строение и обмен углеводов»*

1. Уровень глюкозы в крови может повыситься вследствие стресс-реакции, для которой характерно увеличение уровня адреналина в крови и тканях.

2. При беге на дистанцию 5000 м лучше, чем на 100-метровой, ткани обеспечиваются кислородом за счет увеличения скорости объема кровотока. Кислородная задолженность организма меньше, поэтому активированы аэробные процессы обмена, уровень молочной кислоты в крови и тканях ниже, чем у спортсмена, пробежавшего 100 м.

3. Одной из функций пентозофосфатного цикла является поставка пентозофосфатов для синтеза нуклеиновых кислот. После кровотечения усиливается регенерация элементов крови, для синтеза которых нужны нуклеиновые кислоты. Поэтому усилятся процессы пентозофосфатного цикла, соответственно активируются его ферменты, в частности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, транскетолаза и другие, которые и целесообразно исследовать для проверки вывода.

## *Раздел 9. «Строение и обмен липидов»*

1. При задержке попадания желчи в двенадцатиперстную кишку нарушается (угнетается) активация панкреатической липазы, ухудшаются переваривание жиров, всасывание жирных кислот и жирорастворимых витаминов, ухудшается моторная функция кишечника, развивается гиперхолестеролемия.

2. Миокард лучше скелетной мышцы обеспечен энергетическими резервами, в нем содержится больше липидов, при окислении дающих много энергии (1 г углеводов – 4,1 ккал (17,2 кДж), жиры – 9,3 ккал (38,9 кДж). Но в молекуле жирной кислоты значительно меньше, чем в углеводах, кислорода, поэтому на окисление 1 г жира требуется 2019 мл  $O_2$ , тогда как на 1 г гликогена – 829 мл. В энергетическом балансе метаболизма сердца ведущую роль играют более эффективные аэробные процессы, но они делают его очень чувствительным к гипоксии (кислородному голоданию), которая может явиться причиной инфаркта, тогда как скелетная мышца активно работает и в условиях кислородной недостаточности.

3. Уменьшение углеводов в диете ребенка приводит к нарушению цепочки «глюкоза → пируват → оксалоацетат» и замедлению скорости ЦТК. Прежнее потребление жира и окисление жирных кислот вызвали относительный избыток ацетил-SКоА, который не может теперь сгореть в ЦТК («жиры сгорают в пламени углеводов»). Это привело к кетонемии, развился метаболический ацидоз. Параллельно рост глюконеогенеза из аминокислот усилил процессы дезаминирования и накопление аммиака, но синтез мочевины тормозится из-за нехватки энергии АТФ при нарушении ЦТК – развивается гипераммониемия. Для назначения рационального лечения целесообразно определить содержание глюкозы и мочевины в крови, кетоновых тел в моче, исследовать состояние кислотно-щелочного равновесия.

## *Раздел 10. «Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма»*

1. Замедление физического и умственного развития, снижение интенсивности процессов обмена характерно для гипофункции щитовидной железы. В выраженной степени болезнь носит название «кретинизм».

2. Указанные жалобы характерны для сахарного и несахарного диабета. Для их дифференциации и оценки состояния метаболизма при диабете целесообразно определять следующие наиболее информативные показатели. Кровь: сахар натощак, кетоновые тела, холестерол и липиды, при необходимости тест толерантности к глюкозе. Моча: сахар, плотность, кетоновые тела.

3. Высокая утомляемость, частые гипогликемические состояния, повышенная пигментация кожи и другие симптомы характерны для первичной хронической недостаточности коры надпочечников (болезни Аддисона).

### *Раздел 11. «Биохимия крови»*

1. При обширных ожогах вследствие потери жидкости тканями, обезвоживания, отмечаются сгущение крови, гиперпротеинемия (100 г/л). При нарушении функции желудочно-кишечного тракта, снижении поступления в организм аминокислот развивается гипопроteinемия (30 г/л).

2. Для уточнения диагноза необходимо дополнительно определить в крови содержание азота мочевины, который составляет в норме половину остаточного азота. При нарушении выделительной функции почек имеется повышение остаточного азота преимущественно за счет азота мочевины, при нарушении мочевинообразовательной функции печени доля азота мочевины падает.

3. Так как pH снижен, ставится диагноз ацидоз. Повышение парциального давления  $\text{CO}_2$  указывает на причину ацидоза – накопление угольной кислоты из-за нарушения ее выведения. Избыток ионов  $\text{HCO}_3^-$  является отражением накопления и диссоциации угольной кислоты, и в первую очередь компенсационной реабсорбции карбонатов почками. На основании клинической картины подтверждается диагноз дыхательного ацидоза. Компенсация происходит через «метаболический алкалоз», т. е. выведение почками иона  $\text{H}^+$  посредством активации аммониегенеза и ацидогенеза. Щелочной резерв соответствует сумме всех буферных оснований крови и повышен за счет избытка карбонат-ионов.

### *Раздел 12. «Биохимия почек»*

1. Причиной увеличения выведения ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с мочой может быть гиподинамический остеопороз – «вымывание»  $\text{Ca}^{2+}$  из костей в кровь и экскреция его в мочу.

2. У здорового человека белок в моче практически отсутствует (содержание его столь мало, что обычными методами не обнаруживается). Протеинурия может появиться при очень больших физических нагрузках – «маршевая», «холодовая» протеинурия.

3. Перечисленные симптомы характерны для механической (обтурационной) желтухи, вызванной, вероятно, закупоркой камнем общего желчного протока. В подобных случаях в крови повышается содержание билирубина в значительной степени за счет прямого (билирубинглюкуронида), так как отток желчи в кишечник нарушен. Поэтому кал бесцветен

(ахолия), не содержит стеркобилина, следовательно, и моча не содержит стеркобилиногена и уробилиногена. Темный цвет мочи обусловлен проникновением в нее прямого билирубина из крови, также возможно пенообразование мочи из-за наличия желчных кислот.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

### Основная литература:

1. Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 768 с. Режим доступа: [http://www. studentlibrary.ru](http://www.studentlibrary.ru)
2. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3-х т. / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – Т. 1. – 696 с.
3. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – Т. 2. – 640 с.
4. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – Т. 3. – 448 с.
5. Бочков, В. Н. Клиническая биохимия / В. Н. Бочков, В. А. Ткачук, А. Б. Добровольский / под ред. В. А. Ткачука. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 264 с.

### Дополнительная литература:

1. Березов, Т. Т. Биологическая химия: учебник для студентов медицинских вузов / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – 3-е изд., стереотип. – Электрон. текст. дан. – М. : Медицина, 2008. – 704 с. Режим доступа: [http://www. studentlibrary. ru](http://www.studentlibrary.ru).
2. Тимин О. А. Сборник ситуационных задач / О. А. Тимин, Т. С. Федорова, Е. А. Степовая, О. Л. Носарева, Е. В. Шахристова. – Томск: СибГМУ, 2016. – 166 с.
3. Fischbach, F. T. A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests / F. T. Fischbach, M. B. Dunning. – 8th Ed. – Lippincott Williams & Wilkins, 2008. – 1344 p.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

В 1961 г. в Москве Комиссия по ферментам Международного биохимического союза (IUBMB) приняла современную систематическую классификацию ферментов.

В соответствии с систематической классификацией учитывается реакция и субстратная специфичность ферментов. Ферменты делятся:

- на **классы** – по типу катализируемой реакции,
- каждый класс подразделяется на **подклассы** – по природе атакуемой химической группы,
- подклассы делятся на **подподклассы** – по характеру атакуемой связи или по природе акцептора или кофермента.

Выделяют 6 классов ферментов:

I. Оксидоредуктазы

II. Трансферазы

III. Гидролазы

IV. Лиазы

V. Изомеразы

VI. Лигазы

Каждому ферменту присваивается четырехзначный классификационный номер.



Например, *алкогольдегидрогеназа* имеет номер КФ 1.1.1.1. – это оксидоредуктаза, действует на ОН-группу донора с НАД<sup>+</sup> в качестве акцептора с первым порядковым номером в своем подподклассе; *лактатдегидрогеназа* – КФ 1.1.1.27.

Ферменты могут иметь тривиальное или систематическое название:

1. Систематическое название – согласно современной классификации (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>). Зачастую такое название сложно для использования, тогда оно упрощается и вводится рабочее название фермента.

2. Тривиальное название – название, сложившееся исторически, которое более употребимо, например, **пепсин**, **трипсин**. Иногда к названию субстрата добавляется окончание «-аза» – **уреаза**, **амилаза**, **липаза**. Тем не менее у всех таких ферментов есть и систематическое название.

## I КЛАСС. ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ

Ферменты катализируют окислительно-восстановительные реакции, лежащие в основе биологического окисления. Класс насчитывает 22 подкласса. Коферментами этого класса являются НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, ФАД, ФМН, убихинон, глутатион, липоевая кислота.

В **подклассы** выделяются группы ферментов, действующие на:

- 1.1. СН-ОН группу доноров.
- 1.2. Альдегидную или кетонную группу доноров.
- 1.3. СН-СН группу доноров.
- 1.4. СН-NH<sub>2</sub> группу доноров.
- 1.5. СН-NH группу доноров.
- 1.6. НАДН или НАДФН в качестве доноров.
- 1.7. Содержащие серу группы доноров.
- 1.8. Гем-содержащие доноры.
- 1.9. Дифенолы в качестве доноров.
- 1.10. Пероксид водорода в качестве акцептора.
- 1.11. Водород в качестве донора.
- 1.12. Один донор с включением молекулярного кислорода.
- 1.13. Два донора с включением молекулярного кислорода.
- 1.14. Супероксидные радикалы в качестве акцептора.
- 1.15. СН<sub>2</sub> группу доноров.
- 1.16. Ферредоксин в качестве донора.

На **подподклассы** деление производится в зависимости от акцептора – НАД<sup>+</sup> или НАДФ<sup>+</sup> (1.1.1, 1.2.1, 1.3.1, 1.4.1), дисульфиды (1.2.4), кислород (1.3.3).

Наиболее распространенные рабочие названия оксидоредуктаз следующие:

1. **Дегидрогеназы** – оксидоредуктазы, катализирующие дегидрирование субстрата с использованием в качестве акцептора водорода любых молекул, кроме кислорода.

2. Если перенос водорода от молекулы донора трудно доказуем, то такие оксидоредуктазы называют **редуктазами**.

3. **Оксидазы** – оксидоредуктазы, катализирующие окисление субстратов с молекулярным кислородом в качестве акцептора электронов без включения кислорода в молекулу субстрата.

4. **Монооксигеназы** – оксидоредуктазы, катализирующие внедрение одного атома кислорода в молекулу субстрата с молекулярным кислородом в качестве донора кислорода.

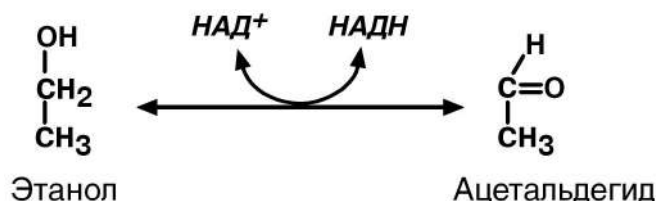
5. **Диоксигеназы** – оксидоредуктазы, катализирующие внедрение двух атомов кислорода в молекулу субстрата с молекулярным кислородом в качестве донора кислорода.

6. **Пероксидазы** – оксидоредуктазы, катализирующие реакции с пероксидом водорода в качестве акцептора электронов.

Систематическое название оксидоредуктаз образуется следующим образом:

Донор электронов : акцептор электронов – оксидоредуктаза

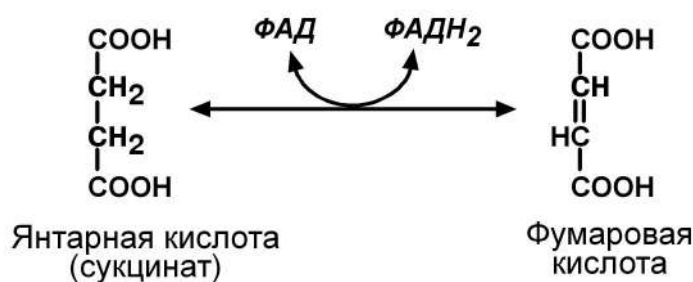
### Пример 1



#### Характеристика фермента

Систематическое название	Алкоголь:НАД-оксидоредуктаза
Рабочее название	Алкогольдегидрогеназа
Класс	1. Оксидоредуктазы
Подкласс	1.1. Действующие на СН-ОН-группу доноров
Подподкласс	1.1.1. с $\text{НАД}^+$ или $\text{НАДФ}^+$ в качестве акцептора
Классификационный номер	КФ 1.1.1.1.
Кофакторы	Никотинамидадениндинуклеотид. Железо или цинк.

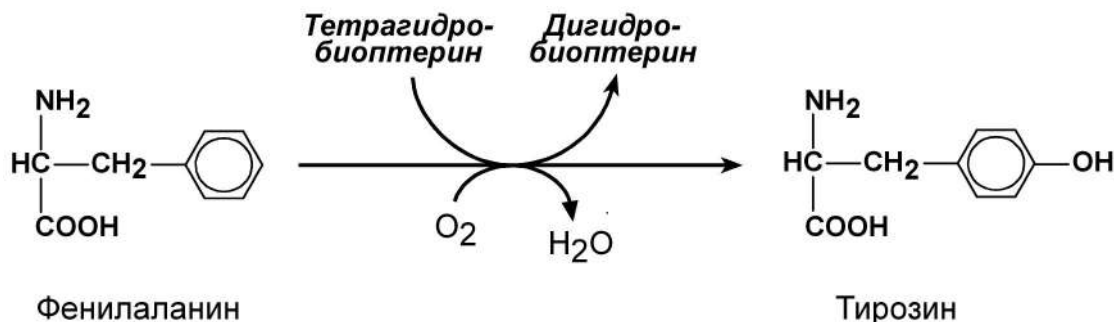
### Пример 2



#### Характеристика фермента

Систематическое название	Сукцинат:ФАД-оксидоредуктаза
Рабочее название	Сукцинатдегидрогеназа
Класс	1. Оксидоредуктазы
Подкласс	1.3. Действующие на СН-СН-группу доноров
Подподкласс	1.3.99. с $\text{ФАД}$ в качестве акцептора
Классификационный номер	КФ 1.3.99.1.
Кофактор	Флавинадениндинуклеотид

### Пример 3



#### Характеристика фермента

Систематическое название	Фенилаланин. Тетрагидробиоптерин:кислород-оксидоредуктаза
Рабочее название	Фенилаланин-4-монооксигеназа
Класс	1. Оксидоредуктазы
Подкласс	1.14. Два донора с включением молекулярного кислорода
Подподкласс	1.14.16. С восстановленным птеридином в качестве донора и включением одного атома кислорода
Классификационный номер	1.14.16.1.
Кофакторы	Тетрагидробиоптерин. Железо.

## II КЛАСС. ТРАНСФЕРАЗЫ

Катализируют реакции переноса различных групп от одного субстрата (донор) к другому (акцептор), участвуют в реакциях взаимопревращений различных веществ, обезвреживания природных и чужеродных соединений. Коферментами являются пиридоксальфосфат, коэнзим А, ТГФК, метил кобаламин. Класс подразделяется на 9 подклассов в зависимости от строения переносимых ими групп.

В **подклассы** выделяются группы ферментов в зависимости от вида переносимой группы:

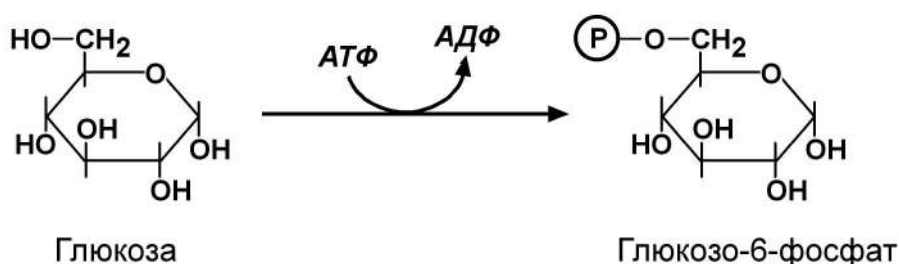
- 2.1. Переносящие одноуглеродные фрагменты.
- 2.2. Переносящие альдегидные и кетогруппы.
- 2.3. Переносящие ацильные группы.
- 2.4. Переносящие гликозильные группы.
- 2.5. Переносящие неметильные алкильные и арильные группы.
- 2.6. Переносящие азотсодержащие группы.
- 2.7. Переносящие фосфорсодержащие группы.
- 2.8. Переносящие сульфосодержащие группы.
- 2.9. Переносящие селенсодержащие группы.

На подподклассы деление производится в зависимости от природы переносимой группы, например: подподкласс 2.1.1. – метил, подподкласс 2.1.2. – карбоксиметил или формил, подподкласс 2.6.1. – амино-, амидино-, оксиаминогруппы.

Систематическое название трансфераз образуется следующим образом:

Донор группы : акцептор группы – переносимая группа трансфераза

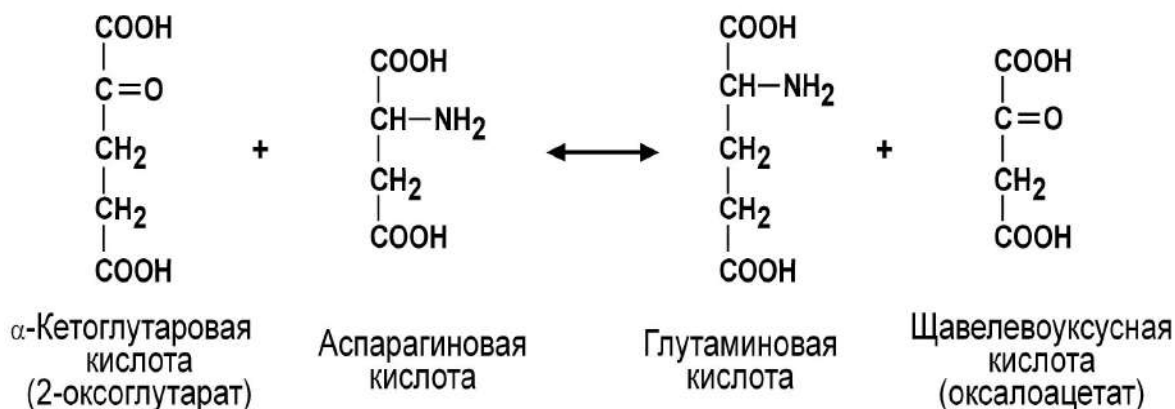
### Пример 1



#### Характеристика фермента

Систематическое название	АТФ:D-гексоза-6-фосфотрансфераза
Рабочее название	Гексокиназа
Класс	2. Трансферазы
Подкласс	2.7. Переносящие фосфорсодержащие группы
Подподкласс	2.7.1. Со спиртовой группой в качестве акцептора
Классификационный номер	КФ 2.7.1.1.
Кофактор	Магний

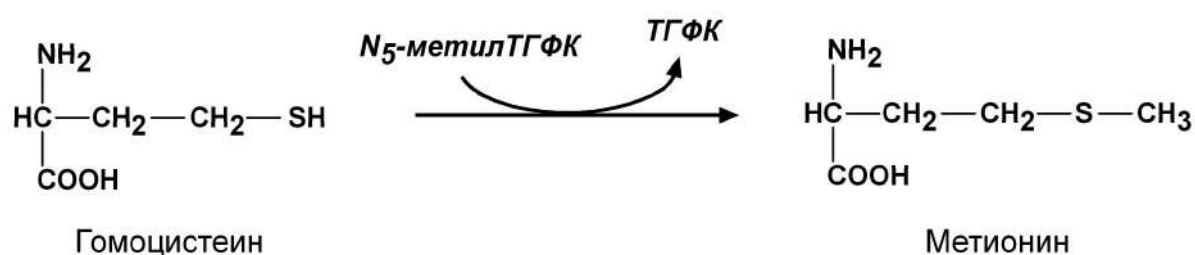
### Пример 2



### Характеристика фермента

Систематическое название	L-Аспартат:2-оксоглутарат-аминотрансфераза
Рабочее название	Аспартатаминотрансфераза
Класс	2. Трансферазы
Подкласс	2.6. Переносящие азотсодержащие группы
Подподкласс	2.6.1. Аминотрансферазы
Классификационный номер	КФ 2.6.1.1.
Кофермент	Пиридоксальфосфат

### Пример 3



### Характеристика фермента

Систематическое название	5-метилтетрагидрофолат:L-гомоцистеин S-метилтрансфераза
Рабочее название	Метионинсинтаза
Класс	2. Трансферазы
Подкласс	2.1. Переносящие одноуглеродные фрагменты
Подподкласс	2.1.1. Метилтрансферазы
Классификационный номер	2.1.1.13.
Кофактор	Кобаламин. Цинк.

## III КЛАСС. ГИДРОЛАЗЫ

Гидролазы – ферменты, осуществляющие разрыв внутримолекулярных связей в субстрате (за исключением С-С связей) путем присоединения элементов  $\text{H}_2\text{O}$ . Подразделяется на 13 подклассов. Ввиду сложности многих субстратов у ряда ферментов сохранены тривиальные названия: пепсин, трипсин. Коферменты отсутствуют.

Гидролазы сосредоточены в основном в желудочно-кишечном тракте и в лизосомах клеток тканей. Осуществляют распад макромолекул, образуя легко адсорбируемые мономеры.

В **подклассы** выделяются группы ферментов, катализирующие гидролиз:

- 3.1. Сложных эфиров.
- 3.2. О-гликозидов.
- 3.3. Простых эфиров.
- 3.4. Пептидов.
- 3.5. Непептидных азот-углеродных связей.
- 3.6. Ангидридов кислот.
- 3.7. Углерод-углеродных связей.

Среди **подподклассов** выделяют, например, гидролазы карбоновых кислот (3.1.1), гидролазы фосфомоноэфиров (3.1.3).

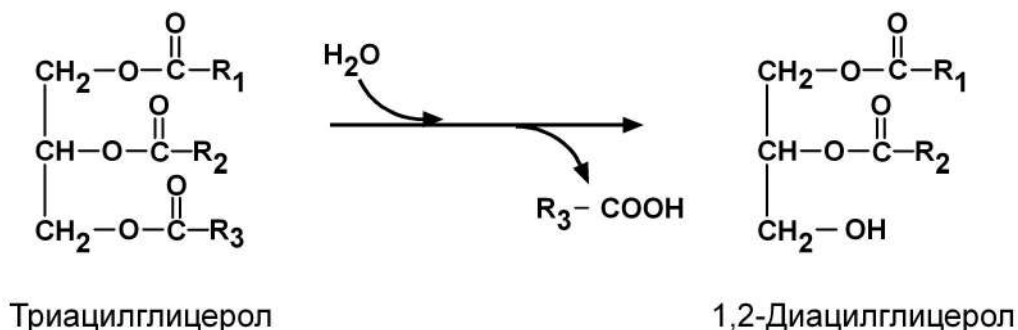
Наиболее часто встречаются следующие гидролазы:

1. Эстеразы – гидролиз сложноэфирных связей.
2. Липазы – гидролиз нейтральных жиров.
3. Фосфатазы – гидролиз моноэфиров фосфорной кислоты.
4. Гликозидазы – гидролизуют О- и N-гликозидные связи.
5. Протеазы, пептидазы – гидролиз белков и пептидов.
6. Нуклеазы – гидролиз нуклеиновых кислот.

Систематическое название гидролаз образуется:

Гидролизуемый субстрат : отделяемая группа гидролаза

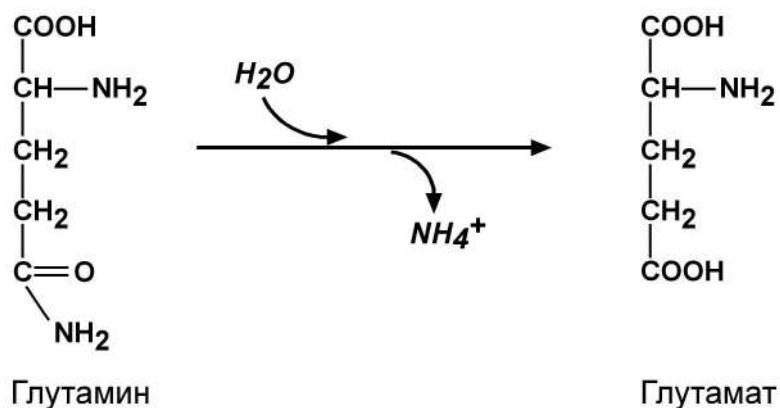
### Пример 1



#### Характеристика фермента

Систематическое название	Триацилглицерол:ацилгидролаза
Рабочее название	ТАГ-липаза
Класс	3. Гидролазы
Подкласс	3.1. Действующие на сложные эфиры
Подподкласс	3.1.1. Гидролазы карбоновых кислот
Классификационный номер	КФ 3.1.1.3.

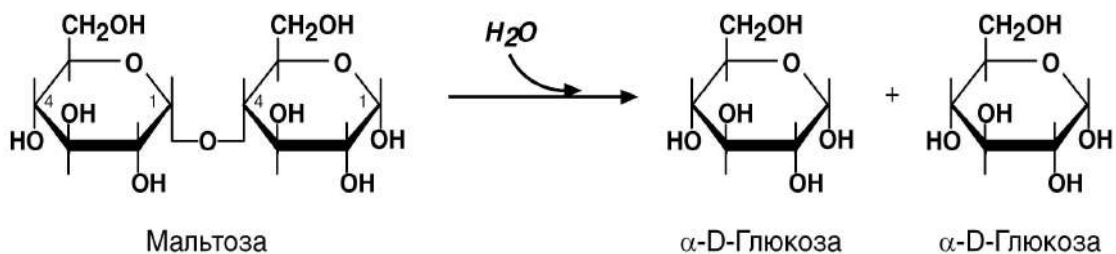
## Пример 2



### Характеристика фермента

Систематическое название	L-глутамин:амидгидролаза
Рабочее название	Глутаминаза
Класс	3. Гидролазы
Подкласс	3.5. Действующие на связи углерод-азот (непептидные)
Подподкласс	3.5.1. Действующие в линейных амидах
Классификационный номер	КФ 3.5.1.2.

## Пример 3



### Характеристика фермента

Систематическое название	α-D-глюкозид:глюкогидролаза
Рабочее название	Мальтаза
Класс	3. Гидролазы
Подкласс	3.2. Гликозидазы
Подподкласс	3.2.1. Гидролизующие O-гликозидные связи
Классификационный номер	КФ 3.2.1.20.

## IV КЛАСС. ЛИАЗЫ

Лиазы – ферменты, катализирующие разрыв C–O, C–C, C–N и других связей, а также *обратимые* реакции отщепления различных групп субстратов негидролитическим путем. Выделяют 7 подклассов. Эти реакции сопровождаются образованием двойной связи или присоединением групп к месту двойной связи. Класс насчитывает около 230 ферментов. Лиазы – сложные ферменты, коферментами служат пиридоксальфосфат, тиаминдифосфат, магний, кобальт.

В **подклассы** выделяются ферменты в зависимости от природы разрываемой связи:

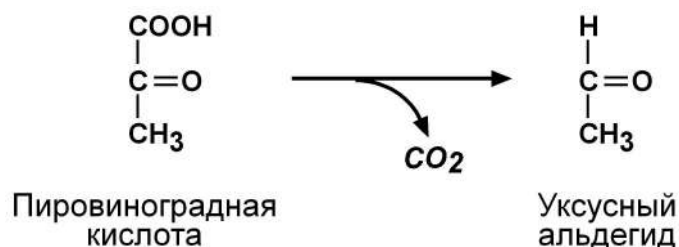
- 4.1. Углерод-углерод лиазы.
- 4.2. Углерод-кислород лиазы.
- 4.3. Углерод-азот лиазы.
- 4.4. Углерод-сера лиазы.
- 4.5. Фосфор-кислород лиазы.

Среди **подподклассов** выделяют, например, карбоксилиазы (4.1.1), гидролиазы 4.2.1).

Систематическое название лиаз образуется:

Расщепляемый субстрат : отделяемая группа – лиаза

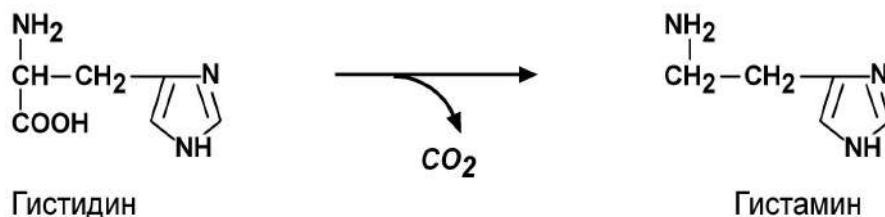
### Пример 1



### Характеристика фермента

Систематическое название	2-оксокислота:карбоксилиаза
Рабочее название	Пируватдекарбоксилаза
Класс	4. Лиазы
Подкласс	4.1. Углерод-углерод лиазы
Подподкласс	4.1.1. Карбоксилиазы
Классификационный номер	КФ 4.1.1.1.
Кофермент	Тиаминдифосфат

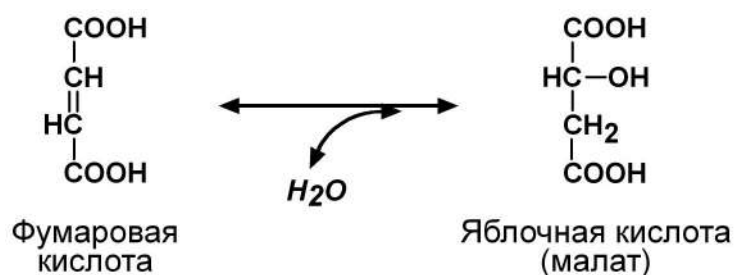
## Пример 2



### Характеристика фермента

Систематическое название	Гистидин:карбоксилиаза
Рабочее название	Гистидин-декарбоксилаза
Класс	4. Лиазы
Подкласс	4.1. Углерод-углерод лиазы
Подподкласс	4.1.1. Карбоксилиазы
Классификационный номер	КФ 4.1.1.22.
Кофермент	Пиридоксальфосфат

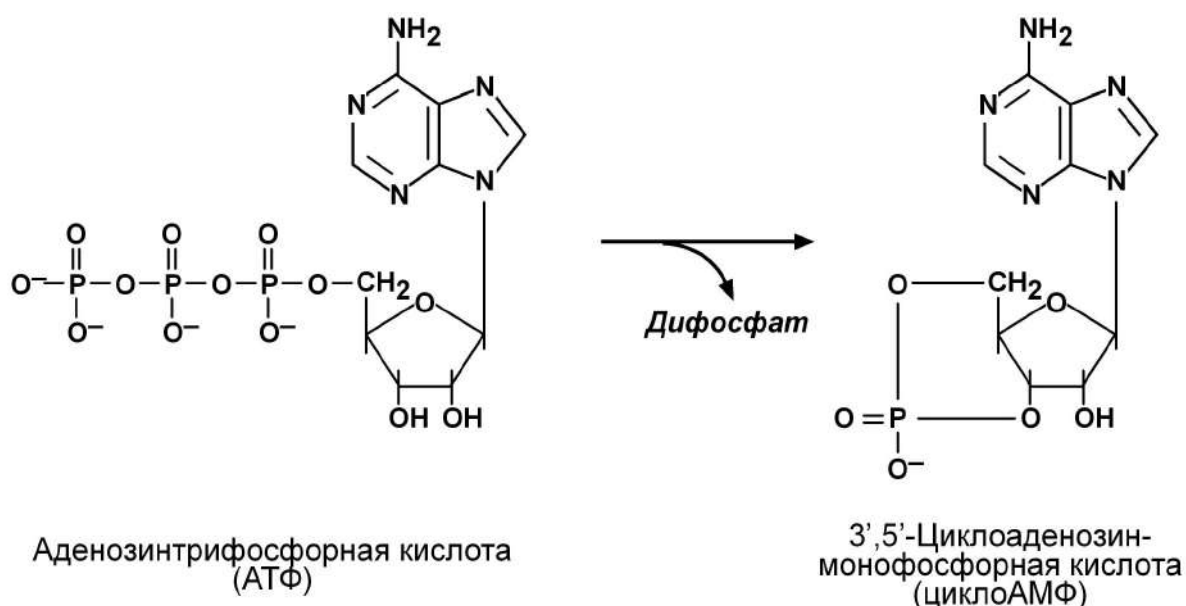
## Пример 3



### Характеристика фермента

Систематическое название	(S)-Малат:гидролиаза
Рабочее название	Фумараза
Класс	4. Лиазы
Подкласс	4.2. Углерод-кислород лиазы
Подподкласс	4.2.1. Гидролиазы
Классификационный номер	КФ 4.2.1.2.

## Пример 4



### Характеристика фермента

Систематическое название	АТФ:дифосфат лиаза (циклизующая)
Рабочее название	Аденилатциклаза
Класс	4. Лиазы
Подкласс	4.6. Фосфор-кислород лиазы
Подподкласс	4.6.1. Фосфор-кислород лиазы
Классификационный номер	КФ 4.6.1.1.

## V КЛАСС. ИЗОМЕРАЗЫ

Изомеразы — ферменты, катализирующие изомерные превращения в пределах одной молекулы. Класс насчитывает более 80 ферментов, в которых выделяют 6 подклассов. Изомеразы — сложные ферменты. К их коферментам относятся пиридоксальные, дезоксиаденозилкобаламин, пептидные (глутатион), фосфаты моносахаридов (глюкозо-1,6-дифосфат) и др.

Изомеразы делятся по типу изомеризации на:

5.1. Рацемазы и эпимеразы.

Рацемазы отвечают за взаимопревращения L- и D-изомеров, S- и R-изомеров. Эпимеразы изменяют конфигурацию при одном из хиральных атомов углерода, например: взаимопревращение  $\alpha$ - и  $\beta$ -изомеров, превращения рибулоза  $\leftrightarrow$  ксилулоза, галактоза  $\leftrightarrow$  глюкоза, манноза  $\leftrightarrow$  галактоза.

5.2. Цис-трансизомеразы.

5.3. Внутримолекулярные оксидоредуктазы.

5.4. Внутримолекулярные трансферазы – мутазы, осуществляют перенос химических групп внутри молекулы.

### 5.5. Внутримолекулярные лиазы.

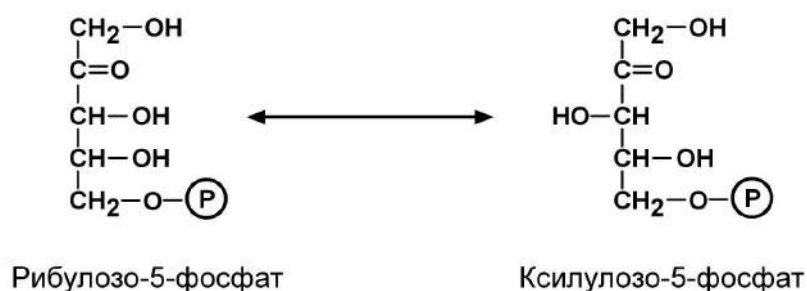
Среди подподклассов выделяют, например: действующие на аминокислоты и их производные (5.1.1), на углеводы и их производные (5.1.3), перемещающие двойные (C=C) связи (5.3.3).

Систематическое название изомераз образуется:

Субстрат – [ ] – реакция,

где [ ] – обозначение, отражающее суть реакции, например, «номер изменяемого атома углерода», изменение «цистранс», изменение «кетон-енол», изменение «альдозо-кетозо».

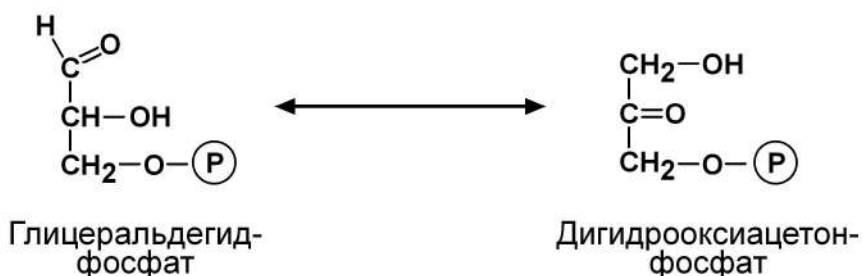
#### Пример 1



#### Характеристика фермента

Систематическое название	D-рибулозо-5-фосфат-3-эпимераза
Рабочее название	Рибулозофосфат-3-эпимераза
Класс	5. Изомеразы
Подкласс	5.1. Рацемазы и эпимеразы
Подподкласс	5.1.3. Действующие на углеводы и их производные
Классификационный номер	5.1.3.1.

#### Пример 2

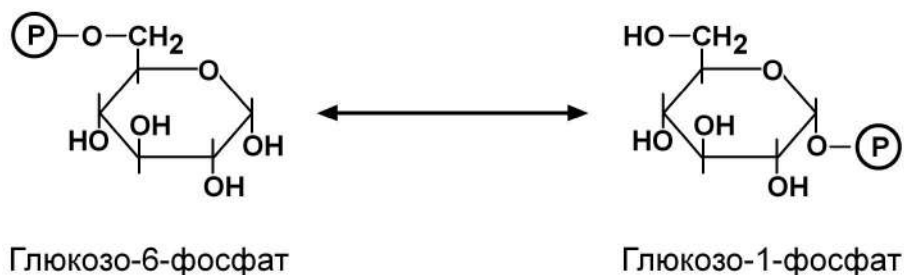


#### Характеристика фермента

Систематическое название	D-глицеральдегид-3-фосфат-альдозо-кетозо-изомераза
Рабочее название	Триозофосфат-изомераза
Класс	5. Изомеразы

Подкласс	5.3. Внутримолекулярные оксидоредуктазы
Подподкласс	5.3.1. Катализирующие взаимопревращения альдоз и кетоз
Классификационный номер	КФ 5.3.1.1.

### Пример 3



Характеристика фермента	
Систематическое название	$\alpha$ -D-глюкозо-1,6-фосфомутаза
Рабочее название	Фосфоглюкомутаза
Класс	5. Изомеразы
Подкласс	5.4. Внутримолекулярные трансферазы
Подподкласс	5.4.2. Фосфотрансферазы
Классификационный номер	КФ 5.4.2.2.
Кофермент	Глюкозо-1,6-дифосфат

## VI КЛАСС. ЛИГАЗЫ

Лигаза (синтетаза) – ферменты, катализирующие присоединение друг к другу двух молекул *с использованием энергии высокоэнергетических связей АТФ* (или других макроэргов). Лигаза – сложные ферменты, содержат нуклеотидные, биотиновые, фолиевые коферменты.

Выделяют 6 подклассов ферментов, формирующих связи:

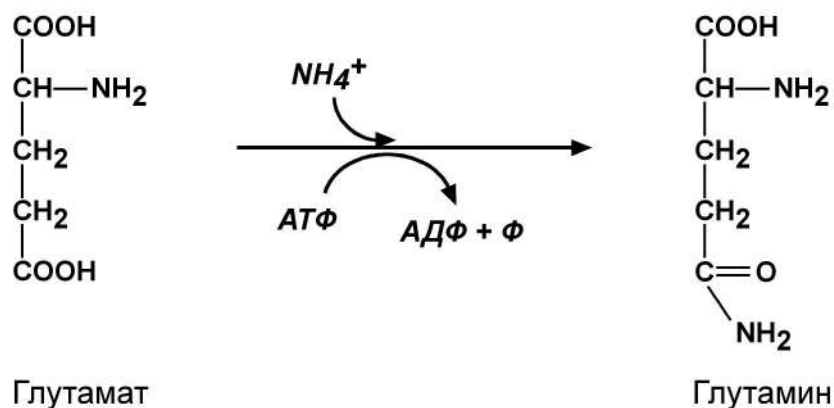
- 6.1. Углерод-кислород.
- 6.2. Углерод-сера.
- 6.3. Углерод-азот.
- 6.4. Углерод-углерод.
- 6.5. Фосфор-кислород.
- 6.6. Азот-металл.

Среди подподклассов выделяют, например: образующие связи аминоксил-тРНК (6.1.1.), синтезирующие соединения кислота-тиол (6.2.1), амиды (6.3.1).

Систематическое название фермента:

Субстрат 1 : субстрат 2 – лигаза

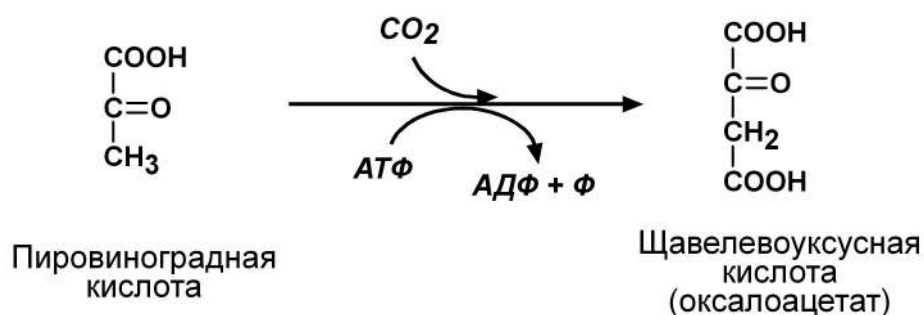
## Пример 1



### Характеристика фермента

Систематическое название	L-глутамат:аммиак-лигаза
Рабочее название	Глутаминсинтетаза
Класс	6. Лигазы
Подкласс	6.3. Образующие связи углерод-азот
Подподкласс	6.3.1. Амид-синтетазы
Классификационный номер	КФ 6.3.1.2.

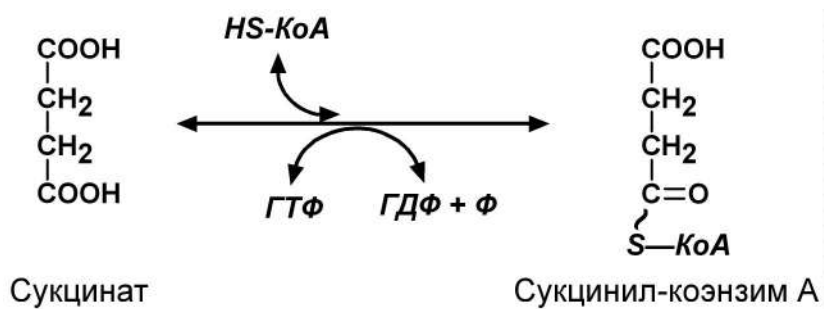
## Пример 2



### Характеристика фермента

Систематическое название	Пируват:карбоксилигаза (АДФ-образующая)
Рабочее название	Пируваткарбоксилаза
Класс	6. Лигазы
Подкласс	6.4. Образующие связи углерод-углерод
Подподкласс	6.4.1. Образующие связи углерод-углерод
Классификационный номер	КФ 6.4.1.1.
Кофакторы	Биотин. Магний. Цинк.

### Пример 3



#### Характеристика фермента

Систематическое название	Сукцинат:КоА-лигаза
Рабочее название	Сукцинил-КоА-синтетаза
Класс	Сукцинат-тиокиназа
Подкласс	6. Лигазы
Подподкласс	6.2. Образующие связи углерод-сера
Классификационный номер	6.2.1. Лигазы кислота-тиол
	6.2.1.4.

## ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Фракции белков	Основные представители белковых фракций	Белки острой фазы
Альбумины	Пре- и постальбумины. Альбумин	
Глобулины	$\alpha_1$ Липопротейн	
	$\alpha_1$ -Кислый серомукоид	
	$\alpha_1$ -Гликопротеин	
	Транскортин	$\alpha_1$ -Гликопротеин
	Протромбин	$\alpha_1$ -Антитрипсин
	Антиплазмин	
	$\alpha_1$ -Антитрипсин	
	Витамин В <sub>12</sub> -связывающий белок	
	С-реактивный белок	С-реактивный белок
	Гаптоглобин (Нр-1, Нр-1-2 Нр-2-2)	
Глобулины	Церулоплазмин	
	$\alpha_2$ Липопротейн	$\alpha_2$ -Макроглобулин
	$\alpha_2$ -НС-гликопротеин	Гаптоглобин
	$\alpha_2$ -Макроглобулин	Церулоплазмин
	Холинэстераза	
	Щелочная фосфатаза	
	Проакцелерин	
	Фактор Кристмаса	
	$\beta_1$ А-глобулин	
	$\beta$ -Липопротейн	
$\beta$	$\beta_1$ В-глобулин	
	Трансферрин	Трансферрин
	Плазминоген	Компоненты комплемента С <sub>1</sub> -С <sub>4</sub> , С <sub>9</sub>
	Проконвертин	
	Фибриноген	
	Компоненты комплемента С <sub>1</sub> -С <sub>4</sub> , С <sub>9</sub>	
	Гемопексин	
$\gamma$	G-иммуноглобулин	
	A-иммуноглобулин	
	D-иммуноглобулин	
	E- иммуноглобулин	

## ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

### *Фибриноген*

Фибриноген синтезируется в печени. Является белком свертывания крови.

*Нормальные величины*

Сыворотка 2,0-4,0 г/л

*Клинико-диагностическое значение*

Повышение концентрации вызывают острые воспалительные процессы и сердечно-сосудистые заболевания (атеросклероз). Снижение – гиперфибринолиз (ДВС-синдром) или наследственная недостаточность.

### $\alpha_1$ -ГЛОБУЛИНЫ

#### *Кислый $\alpha_1$ -гликопротеин*

Кислый  $\alpha_1$ -гликопротеин (орозомукоид) обладает кислыми свойствами и содержит высокие количества углеводов. Белок имеет высокое сродство к полианионам (например, к гепарину) и, вероятно, регулирует количество свободного гепарина в плазме.  $\alpha_1$ -Гликопротеин связывает лекарства (например, пропранолол и лидокаин), стероиды (прогестерон, тестостерон). Синтезируется в печени.

*Нормальные величины*

Сыворотка 0,55-1,40 г/л

*Клинико-диагностическое значение*

Повышение уровня белка в крови отмечается при острых и хронических воспалительных процессах, ревматоидном артрите, злокачественных опухолях, лихорадочных состояниях, травмах, инфаркте миокарда, физической нагрузке, беременности, нефротическом синдроме.

#### *$\alpha_1$ -Антитрипсин*

$\alpha_1$ -Антитрипсин – гликопротеин, образуется в печени, белок острой фазы, является ингибитором протеиназ (трипсина, химотрипсина, калликреина, плазмина) и обуславливает 92-94 % от общей антипротеолитической функции крови. Аутомно-рецессивно наследуемый недостаток его в крови является одним из факторов патогенеза эмфиземы легких, бронхоэктазий и хронического бронхита, ранних циррозов печени. Очевидно, что отсутствие ингибитора приводит к неограниченному протеолизу клеток в зоне воспаления, что удлиняет и углубляет деструктивные процессы в тканях.

*Нормальные величины*

Сыворотка 2,0-2,4 г/л

*Клинико-диагностическое значение*

Концентрация в крови возрастает при острых инфекциях, воспалительных процессах, злокачественных образованиях, действии гормонов

(беременность, стероидная терапия), системной красной волчанке и злокачественных новообразованиях.

### *$\alpha_1$ -Антихимотрипсин*

$\alpha_1$ -Антихимотрипсин является одним из реагирующих первыми белков острой фазы (уровень в сыворотке может удваиваться в течение нескольких часов), представляет собой слабый специфический ингибитор химотрипсина, вместе с тем отмечена его активность по отношению и к другим протеазам.

*Нормальные величины*

Сыворотка

0,3-0,6 г/л

*Клинико-диагностическое значение*

Увеличение концентрации белка обусловлено острофазовыми реакциями: воспаление, травма после хирургической операции, инфаркт миокарда, бактериальные инфекции.

## **$\alpha_2$ -ГЛОБУЛИНЫ**

### *С-реактивный белок*

С-реактивный белок (СРБ) по происхождению является мезенхимальным белком, который подвергся частичной денатурации вследствие распада тканей при воспалительных и деструктивных процессах. Он принимает участие в активации классического пути комплемента, иммунных реакций, является ингибитором агрегации тромбоцитов, связывает липиды, углеводы, участвует в работе каталазы.

*Нормальные величины*

Сыворотка

< 50 мг/л (отсутствие)

*Клинико-диагностическое значение*

Концентрация этого белка острой фазы быстро повышается в 15-25 раз при острых и хронических инфекциях, некрозе клеток, инфаркте миокарда, ревматоидном артрите, подагре.

### *Гаптоглобин*

Гаптоглобин – белок острой фазы, синтезируется в печени. Обладает следующими функциями: связывает свободный гемоглобин плазмы и предохраняет организм от потери железа, данный комплекс разрушается в клетках РЭС и печени; выполняет неспецифическую защитную функцию, комплексируясь с белковыми и небелковыми веществами, появляющимися при распаде клеток; является естественным ингибитором катепсина В; участвует в транспорте витамина В<sub>12</sub>. Гаптоглобин в низких концентрациях присутствует во многих жидкостях организма: ликворе, лимфе, синовиальной жидкости, желчи.

*Нормальные величины*

Сыворотка крови

0,8-2,7 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Концентрация белка неспецифически *повышается* в ответ на повреждение ткани, воспаление, опухолевый процесс (особенно с метастазами). Высокие показатели наблюдаются при сахарном диабете, нефротическом синдроме, пиелонефрите, ожогах, острых и хронических воспалительных состояниях, некрозе тканей, инфаркте миокарда, активных аутоиммунных заболеваниях, системных ревматоидных заболеваниях.

*Снижение* количества белка отмечено при поражении паренхимы печени, гемолитических анемиях. Уровень гаптоглобина считается чувствительным показателем гемолитических состояний: высвобождение гемоглобина вызывает снижение концентрации гаптоглобина.

### *$\alpha_2$ -Макроглобулин*

$\alpha_2$ -Макроглобулин – высокомолекулярный цинксодержащий белок, состоит из 4 идентичных субъединиц и включает углеводный компонент, синтезируется в печени. Является ингибитором протеиназ (как свертывающей системы крови, так и других) – плазмина, пепсина, трипсина, химо tripsина, эндопептидаз, катепсина D, тромбина, калликреина. Транспортирует ферменты и гормоны, рецептор лимфоцитов, участвует во взаимодействии матери и плода, оказывает иммуномодулирующее действие, ингибитор компоненты комплемента.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	дети (1-3 года)	около 4,5 г/л
	мужчины	1,50-3,50 г/л
	женщины	1,75-4,20 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Белок контролирует развитие инфекций и воспалительных процессов. *Повышение* его уровня выявляется при циррозе печени, остром и хроническом гепатите, беременности, врожденных пороках сердца, эндокринных заболеваниях (сахарный диабет, микседема), бронхопневмонии, нефротическом синдроме. *Снижение* – при ревматическом полиартрите, потере белка или недостаточности его в питании, диссеминированном свертывании крови, фибринолитической терапии, остром панкреатите, инфаркте миокарда, язвах желудка и двенадцатиперстной кишки.

### *Церулоплазмин*

Церулоплазмин содержит 8 атомов меди. Это белок острой фазы, регулятор обмена меди в организме (комплексирует 90 % всей меди плазмы) – транспортирует ионы меди из печени в другие органы. Церулоплазмин является оксидазой полифенолов и диаминов, способствует насыщению железом апотрансферрина, участвует в обмене биогенных аминов (адреналина, норадреналина, серотонина) и аскорбиновой кислоты, регулирует уровень симпатических медиаторов мозга, как сывороточный антиоксидант ликвидирует супероксидные радикалы кислорода, вос-

становливают  $O_2$  до воды и предотвращают окисление ненасыщенных жирных кислот.

*Нормальные величины*

Сыворотка

0,15-0,50 г/л

*Клинико-диагностическое значение*

*Повышенные* результаты определяются при ревматоидном артрите, системной красной волчанке, хронических воспалительных процессах, холестазах, гепатите, циррозе печени, инфаркте миокарда, острых инфекциях, злокачественных новообразованиях с метастазами, при меланоме, шизофрении

*Уменьшение* показателя выявлено при снижении синтеза фермента (болезнь Вильсона-Коновалова), повышенной потере (заболевания ЖКТ, нефротический синдром), уменьшении абсорбции в кишечнике (нарушения всасывания, недостаточность питания).

## β-ГЛОБУЛИНЫ

### *Семейство трансферринов*

К белкам семейства трансферринов принадлежит собственно белок под названием трансферрин, также овотрансферрин, лактоферрин, меланотрансферрин и ряд других.

Белки этого семейства, связывая ионы железа (III) и препятствуя их восстановлению, представляют собой важный компонент антиоксидантной защиты организма. Кроме того, связывание железа трансферринами препятствует его использованию микроорганизмами, что обуславливает бактериостатическую активность этих белков.

### *Трансферрин*

Трансферрин синтезируется в печени и ретикулоэндотелиальной системе. Трансферрин транспортирует трехвалентное железо вместе с анионом гидрокарбоната из двенадцатиперстной кишки и селезенки ко всем тканям.

В норме железом насыщено только 1/3 общего количества трансферрина.

*Нормальные величины*

Сыворотка крови

дети

2,0-3,6 г/л

мужчины

2,1-3,6 г/л

женщины

2,5-3,8 г/л

*Клинико-диагностическое значение*

Концентрация повышается при недостатке железа в организме, беременности, приеме эстрогенов, липоидном нефрозе.

Снижение наблюдается при наследственной недостаточности синтеза, приеме тестостерона, нефрозах, малярии, гемохроматозе, недоедании, опухолях.

### *Лактоферрин*

Белок широко представлен в плазме крови, секреторных жидкостях: молоко, слюна, слеза, желчь, секреты носовых и бронхиальных желез.

Главной биологической функцией лактоферрина является связывание и транспорт ионов железа, но также белок обладает широкой антибактериальной, противовирусной и антигрибковой активностью.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	0,2-0,6 мг/л
Женское молоко	до 7,0 г/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Увеличение содержания белка в крови отмечается при беременности, гестозах, кожных заболеваниях, злокачественных новообразованиях ЖКТ.

## НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ИЗУЧЕННЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

### Сыворотка крови

Показатель	Пол, возраст, другое	Нормальные величины	
Амилаза		16-30 г/л·ч	
Активность АлАТ		0,10-0,68 ммоль/л·ч	
Активность АсАТ		0,10-0,45 ммоль/л·ч	
Коэффициент де Ритиса		1,33±0,40	
Остаточный азот		14,3-28,6 ммоль/л	
Мочевина	Дети	1,8-6,4 ммоль/л	
	Взрослые	2,5-8,3 ммоль/л	
Креатинин	Дети		
	до 1 года	18-35 мкмоль/л	
	от 1 года до 12 лет	27-62 мкмоль/л	
	Взрослые		
	женщины	44-97 мкмоль/л	
	мужчины	52-132 мкмоль/л	
Мочевая кислота		0,12-0,32 ммоль/л	
	Мясная диета	0,16-0,45 ммоль/л	
Белок общий	Дети		
	новорожденные	51-60 г/л	
	дети до 1 года	51-73 г/л	
	дети от 1 года до 3 лет	54-85 г/л	
	старшие	65-85 г/л	
	Взрослые	65-85 г/л	
Фракции белков			
альбумины		30-50 г/л	50-70 %
$\alpha_1$ -глобулины		1-3 г/л	3-6 %
$\alpha_2$ -глобулины		6-10 г/л	9-15 %
$\beta$ -глобулины		7-11 г/л	8-18 %
$\gamma$ -глобулины		8-16 г/л	15-25 %
Коэффициент альбумины/глобулины		1,2-1,8	
Коэффициент альбумины/ $\alpha_1$ + $\alpha_2$ -глобулины		3,9-6,1	
Тимоловая проба		0-4 ед. S-H	

Глюкоза	3,5-5,5 ммоль/л		
Тест толерантности к глюкозе			
Натощак	3,5-5,5 ммоль/л	100 %	
Через 60 мин	5,3-9,6 ммоль/л	150-175 %	
Через 120 мин	ниже 5,3 ммоль/л	около 100 %	

Триацилглицеролы	Дети		0,15-1,56 ммоль/л
		0-5 лет	0,2-1,1 ммоль/л
		6-11 лет	0,3-1,3 ммоль/л
		12-15 лет	0,4-1,6 ммоль/л
		16-19 лет	0,5-1,8 ммоль/л
	Взрослые		
		20-29 лет	0,5-2,1 ммоль/л
		30-39 лет	0,5-3,2 ммоль/л
		40-49 лет	0,6-3,4 ммоль/л
		50-59 лет	0,6-3,4 ммоль/л
Холестерол общий	Дети		
		новорожденные	1,2-2,7 ммоль/л
		впоследствии	2,9-5,2 ммоль/л
	Взрослые		
		20-29 лет	3,70-6,51 ммоль/л
		30-39 лет	4,25-7,04 ммоль/л
		40-49 лет	4,37-7,70 ммоль/л
		старше 50 лет	4,55-8,24 ммоль/л

Пролактин	Взрослые		фолликулярная фаза 4,5-33 нг/мл (98-784 мкМЕ/л)
			середина цикла
		женщины	6,3-49 нг/мл (134-975 мкМЕ/л)
			лютеиновая фаза
			4,9-40 нг/мл (104-848 мкМЕ/л)
		мужчины	2,5-17 нг/мл (53-360 мкМЕ/л)
Тестостерон	Взрослые		
		женщины старше 10 лет	0,45-3,75 нмоль/л
		мужчины старше 14 лет	5,76-28,14 нмоль/л

Гемоглобин	Дети	100-140 г/л
	Взрослые	
	женщины	120-140 г/л
	мужчины	130-160 г/л
Общий билирубин	Взрослые	8,5-20,5 мкмоль/л
	Дети доношенные	
	кровь из пуповины	< 34,2 мкмоль
	возраст до 5 дней	< 205,2 мкмоль/л
	впоследствии	3,4-17,1 мкмоль/л
	Дети недоношенные	
	кровь из пуповины	< 34,2 мкмоль/л
	возраст до 5 дней	< 273,6 мкмоль/л
Прямой билирубин	Дети	отсутствие
	Взрослые	2,2-5,1 мкмоль/л

Калий	Дети	
	новорожденные	3,7-5,9 ммоль/л
	до 2 лет	4,1-5,3 ммоль/л
	старше 2 лет	3,4-4,7 ммоль/л
	Взрослые	3,5-5,1 ммоль/л
Натрий	Дети	
	новорожденные	134-146 ммоль/л
	дети	138-146 ммоль/л
	Взрослые	136-146 ммоль/л
Железо	Дети	
	новорожденные	17,9-44,8 мкмоль/л
	до 2 лет	7,1-17,9 мкмоль/л
	старше 2 лет	8,9-21,4 мкмоль/л
	Взрослые	
	мужчины	8,9-28,6 мкмоль/л
	женщины	7,1-26,8 мкмоль/л
Фосфаты	Дети	
	новорожденные	1,13-2,78 ммоль/л
	младшего возраста	1,45-2,16 ммоль/л
	школьного возраста	1,46-1,76 ммоль/л
	Взрослые	0,81-1,48 ммоль/л
Кальций		2,0-2,6 ммоль/л
Хлориды		97-108 ммоль/л

pH	Новорожденные	7,21-7,38
	Дети и взрослые	
	артериальная кровь	7,37-7,45
	венозная кровь	7,35-7,43

pCO <sub>2</sub>	Новорожденные и дети	27-41 мм рт. ст.
	Взрослые	
	мужчины	35-48 мм рт. ст. или 4,66-6,38 кПа
	женщины	32-45 мм рт. ст. или 4,26-6,00 кПа
Буферные основания Бикарбонаты	Новорожденные	44-48 ммоль/л
	Дети	17-24 ммоль/л
	Взрослые	19-24 ммоль/л
	артериальная кровь	21-28 ммоль/л
	венозная кровь	22-29 ммоль/л
Остаточные анионы Избыток буферных оснований	Новорожденные	12-16 ммоль/л
	Дети до 2 лет	от -10 до -2 ммоль/л
	Дети	от -7 до +1 ммоль/л
	Взрослые	от -4 до -2 ммоль/л
	Взрослые	от -2 до +3 ммоль/л
pO <sub>2</sub>	Взрослые	83-108 мм рт. ст. или 11,04-14,36 кПа
	Взрослые	94-97 %
Оксигемоглобин (HbO <sub>2</sub> )	Взрослые	94-97 %
Насыщение гемоглобина кислородом (HbO <sub>SAT</sub> , SO <sub>2</sub> )	Новорожденные	40-90 %
	Взрослые	94-98 %

#### Моча

Амилаза		28-160 г/л·ч
Мочевина		330-580 ммоль/сут
Креатинин		4,4-17,7 ммоль/сут
Мочевая кислота	обычная диета	1,46-4,43 ммоль/сут
	мясная диета	2,36-5,90 ммоль/сут
Белок		50-150 мг/сут
Глюкоза		0,06-0,83 ммоль/л
pH		5,0-6,5
Фосфаты		25,8-48,4 ммоль/сут
Кальций		2,5-7,5 ммоль/сут
Хлориды		120-240 ммоль/сут

#### Желудочный сок

Соляная кислота	Общая кислотность	40-60 ммоль/л
	Свободная HCl	20-40 ммоль/л
	Связанная HCl	10-20 ммоль/л

#### Клиренс эндогенного креатинина

	Мужчины	Женщины
Дети до 1 года	65-100 мл/мин	65-100 мл/мин
от 1 до 30 лет	88-146 мл/мин	81-134 мл/мин
Взрослые		
от 30 до 40 лет	82-140 мл/мин	75-128 мл/мин
от 40 до 50 лет	75-133 мл/мин	69-122 мл/мин
от 50 до 60 лет	68-126 мл/мин	64-116 мл/мин
от 60 до 70 лет	61-120 мл/мин	58-110 мл/мин
старше 70 лет	55-113 мл/мин	52-105 мл/мин

## Оглавление

Введение .....	3
Список сокращений .....	4
Раздел 1. Строение, свойства и функции белков .....	6
Тема 1.1. Строение и классификация аминокислот. Структура белков .....	6
Тема 1.2. Структура и физико-химические свойства белков .....	9
Тема 1.3. Классификация белков. Строение и функции белков в организме. Сложные белки .....	12
Раздел 2. Строение, классификация и роль витаминов .....	18
Тема 2.1. Жирорастворимые витамины .....	18
Тема 2.2. Водорастворимые витамины .....	21
Раздел 3. Энзимология .....	27
Тема 3.1. Строение и свойства ферментов. Использование ферментов в медицине .....	27
Тема 3.2. Регуляция активности ферментов .....	32
Тема 3.3. Классификация и номенклатура ферментов (семинар) .....	35
Раздел 4. Биологическое окисление .....	41
Тема 4.1. Общие пути катаболизма: окислительное декарбоксилирование пирувата. Цикл трикарбоновых кислот. Ферменты дыхательной цепи. Окислительное фосфорилирование (семинар) .....	41
Раздел 5. Обмен аминокислот и белков .....	45
Тема 5.1. Внешний обмен белков .....	45
Тема 5.2. Внутриклеточный обмен аминокислот .....	51
Тема 5.3. Пути превращения аммиака и его обезвреживание .....	54
Тема 5.4. Особенности и нарушения обмена некоторых аминокислот (семинар) .....	59
Раздел 6. Строение и обмен пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов .....	63
Тема 6.1. Строение и метаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов .....	63
Раздел 7. Матричные биосинтезы .....	69
Тема 7.1. Синтез нуклеиновых кислот и его регуляция .....	69
Тема 7.2. Биосинтез белка и его регуляция .....	72
Раздел 8. Строение и обмен углеводов .....	81
Тема 8.1. Строение и внешний обмен углеводов. Обмен гликогена .....	81
Тема 8.2. Окисление глюкозы в анаэробных условиях. Глюконеогенез .....	84
Тема 8.3. Аэробное окисление глюкозы. Пентозофосфатный путь .....	89
Раздел 9. Строение и обмен липидов .....	100
Тема 9.1. Строение и внешний обмен липидов .....	100
Тема 9.2. Внутриклеточный обмен жирных кислот и триацилглицеролов .....	103
Тема 9.3. Внутриклеточный обмен фосфолипидов и холестерина. Транспорт липидов в крови .....	107
Раздел 10. Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма .....	116
Тема 10.1. Механизмы передачи гормонального сигнала. Классификация гормонов. Гормоны гипофиза (семинар) .....	116
Тема 10.2. Гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной поджелудочной и паращитовидной желез .....	118

	Тема 10.3. Гормоны гипофиза, надпочечников и половых желез	124
Раздел 11.	Биохимия крови	131
	Тема 11.1. Азотсодержащие вещества крови: белки, ферменты, фракции остаточного азота	131
	Тема 11.2. Обмен железа. Гемопротеины. Синтез и распад гема	136
	Тема 11.3. Неорганические вещества крови. Кислотно-основное состояние	142
Раздел 12.	Биохимия почек	149
	Тема 12.1. Водно-солевой обмен. Нормальные и патологические компоненты мочи	149
	Ответы к тестовым заданиям	163
	Ответы к ситуационным задачам	166
	Рекомендуемая литература	173
	Приложения	174

Учебное издание

Носарева Ольга Леонидовна  
Степовая Елена Алексеевна  
Федорова Татьяна Сергеевна  
Тимин Олег Алексеевич  
Шахристова Евгения Викторовна  
Спирина Людмила Викторовна  
Серебров Владимир Юрьевич

## **ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ**

Учебное пособие

Издательство СибГМУ  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107  
тел. 8(382-2) 51-41-53  
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

Корректор И. А. Зеленская  
Технический редактор С.Б. Гончаров  
Обложка Шахристова Е.В.

---

Подписано в печать 27.04.16  
Формат 60x84  $\frac{1}{16}$ . Бумага офсетная.  
Печать ризограф. Гарнитура «Times». Печ. лист 12,5  
Тираж 100 экз. Заказ №

---

Отпечатано в Издательстве СибГМУ  
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2  
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru