

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра биологической химии

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум
для студентов, обучающихся по специальности
1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело»

3-е издание

Гродно
ГрГМУ
2022

УДК 577.1(076.5)
ББК 52.57я73
Б 63

Рекомендовано Центральным научно-методическим советом ГрГМУ
(протокол № 5 от 26.06.2020).

Авторы: зав. каф. биологической химии, проф. В. В. Лелевич;
доц. А. В. Наумов, доц. И. О. Леднева, доц. Н. Э. Петушок.

Рецензент: зав. каф. общей и биоорганической химии ГрГМУ,
канд. хим. наук В. В. Болтromeюк.

Биологическая химия : практикум для студентов, обу-
чающихся по специальности 1-79 01 04 «Медико-
диагностическое дело» / В. В. Лелевич, А. В. Наумов,
И. О. Леднева, Н. Э. Петушок. – 3-е изд. – Гродно : ГрГМУ,
2022. – 156 с.
ISBN 978-985-595-720-2.

Практикум по биологической химии для специальности 1-79 01 04 «Медико-
диагностическое дело» включает лабораторные работы в соответствии с дейст-
вующими учебными программами, основные референтные показатели, рекомен-
дуемую учебную литературу, экзаменационные вопросы по основным разделам
биохимии, а также словарь терминов.

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение практикума
любым способом не может быть осуществлено без предварительного разрешения
авторов.

УДК 577.1(076.5)
ББК 52.57я73

ISBN 978-985-595-720-2

© ГрГМУ, 2022

ПРЕДИСЛОВИЕ

Биологическая химия – учебная дисциплина, изучающая молекулярные основы процессов жизнедеятельности в организме человека в норме, механизмы развития и последствия патологических процессов.

Данный практикум способствует успешному усвоению учебного материала, выработке практических навыков биохимических исследований и формированию клинично-диагностического мышления у студентов. Он включает лабораторные работы, которые в соответствии с учебным планом и действующей учебной программой выполняются на лечебном факультете и факультете иностранных учащихся. Рекомендуемый практикум содержит:

- краткое обоснование выполнения каждой лабораторной работы;
- химический механизм (принцип метода) выполняемой методики;
- схему этапов выполняемой работы (ход работы);
- последовательность расчетов при обработке полученных результатов;
- нормальные величины определяемых биохимических показателей и возможные их отклонения при физиологических состояниях, болезнях и применении лекарств;
- словарь терминов;
- список экзаменационных вопросов.

Предлагаемый материал облегчит студентам понимание цели и задач лабораторного практикума, позволит им самостоятельно выполнять биохимические методики, покажет важное значение определения биохимических показателей в диагностике заболеваний человека. Выполнение заданий практикоориентированного характера будет способствовать приобретению профессиональных компетенций. Готовый макет лабораторной части протокола позволит студенту уменьшить затраты времени на внеаудиторную подготовку к занятию. Предлагаемый словарь терминов будет способствовать более детальной и эффективной подготовке студентов к занятиям.

Надеемся, что подготовленный коллективом кафедры практикум поможет студентам успешно овладеть программными знаниями по биологической химии.

Коллектив авторов

МЕТОДИЧЕСКИЕ СОВЕТЫ СТУДЕНТАМ

При подготовке к выполнению лабораторной работы следует вначале изучить рекомендуемый теоретический раздел по учебнику и лекции, что облегчит понимание цели и задач предстоящего биохимического исследования. Необходимо внимательно прочитать и понять указанную в руководстве информацию по выполнению лабораторной работы.

Знание обоснования и химического механизма методики, нормы и диагностического значения определяемых показателей является обязательным условием, позволяющим преподавателю допустить студента к выполнению лабораторной работы.

В процессе выполнения лабораторной работы в учебном практикуме в рабочем протоколе необходимо записать:

- наблюдения или регистрируемые на приборах данные (экстинкцию);
- математические расчеты или найти результат по калибровочному графику;
- конечный результат исследования;
- выводы.

Авторы надеются, что регулярная самоподготовка, осмысленное и грамотное выполнение лабораторных работ позволит студентам успешно овладеть программным материалом, расширить и закрепить знания по биологической химии.

ТЕХНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ И БЕЗОПАСНОСТЬ ТРУДА

Приступая к работе в биохимической лаборатории, каждый исследователь должен познакомиться с правилами техники безопасности и информацией о технике лабораторных работ. Меры охраны труда являются обязательными и соблюдение их необходимо при всех видах работ в лаборатории.

При работе в лаборатории необходимо соблюдать правила обращения с:

1. Биологическим материалом

1.1. При работе с биологическим материалом (кровь, моча, слюна, желудочный сок, спинномозговая жидкость, гомогенаты тканей и другие) необходимо соблюдать максимальную аккуратность и осторожность. Работу следует выполнять в перчатках. Это необходимо для исключения передачи различных вирусных, инфекционных болезней (СПИД, сифилис, гепатит и др.).

После выполнения работы тщательно вымыть руки.

2. Реактивами

2.1. На всех склянках с реактивами должны быть этикетки с указанием названия реактива и его концентрации. Склянки плотно закупорены.

2.2. Следует соблюдать особую осторожность при обращении с ядовитыми, огнеопасными веществами, с концентрированными кислотами и щелочами. Работать с такими реагентами следует под включенной вытяжкой.

2.3. Реактивы необходимо предохранять от загрязнения.

2.4. Реактивы следует расходовать экономно.

2.5. Недопустимо набирать реагенты в мерные пипетки ртом.

3. Электрическими приборами

3.1. Измерительные приборы (фотоэлектроколориметры, спектрофотометры и другие) должны быть заземлены, технически исправны.

3.2. Водяные термостаты, сухожаровые шкафы, центрифуги должны быть в рабочем состоянии, заземлены. Крышки этих аппаратов во время работы прибора должны быть закрыты.

3.3. Необходимо следить за тем, чтобы в водяном термостате всегда была вода.

4. Центрифугами в лабораторном практикуме

4.1. В центрифугу помещают парное (четное) количество

уравновешенных пробирок.

4.2. Ось симметрии между двумя пробирками должна проходить через центр ротора.

4.3. Проверяют, чтобы центрифужная камера была закрыта крышкой.

4.4. Устанавливают необходимую скорость вращения ротора центрифуги.

4.5. Включают центрифугу и наблюдают за ее работой в течение всего времени центрифугирования.

4.6. Во время работы центрифуги запрещается открывать крышку камеры.

4.7. После отключения центрифуги необходимо дать возможность ротору остановиться, запрещается тормозить ротор рукой.

4.8. После остановки ротора центрифуги достаньте пробирки из ячеек ротора и продолжите работу на своем рабочем месте.

5. Газовыми и другими нагревательными приборами

5.1. Нельзя нагревать посуду из простого химического стекла на открытом пламени.

5.2. Посуда с нагреваемым содержимым должна быть закреплена специальным держателем над нагреваемой поверхностью.

5.3. Огнеопасные вещества нельзя нагревать на открытом пламени, а только на водяной бане.

5.4. При работе с водяной баней необходимо следить за тем, чтобы в ней всегда была вода.

6. Водопроводом

6.1. При использовании водопровода по окончании работы в лаборатории всегда необходимо проверять, выключены ли краны холодной и горячей воды.

7. Химической посудой и вспомогательными приспособлениями для выполнения методик

7.1. Стеклянная химическая посуда (пробирки, пипетки, колбы, мерные цилиндры и др.) требует осторожного обращения. В противном случае она может разбиться и травмировать осколками стекла работающего и окружающих.

7.2. Автоматические пипетки должны находиться в штативах-подставках. Пластик, из которого они сделаны, достаточно хрупкий, при неосторожном обращении, ударах эти точные измерительные приборы могут быть выведены из строя.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 1

ТЕМА: ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: сформировать у студентов представление о предмете и задачах биологической химии, специфике биохимических лабораторий и особенностях работы с биологическим материалом.

К занятию повторить правила работы со стеклянными мерными пипетками.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Предмет и задачи биологической химии.
2. Важнейшие этапы развития биохимии, основные разделы и направления.
3. Объекты биохимических исследований и методы биохимии.
4. Медицинская биохимия, теоретические и практические аспекты.
5. Место биохимии среди биологических дисциплин и ее роль в формировании мировоззрения.
6. Вклад ученых-биохимиков в становление и развитие науки.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Прежде чем приступать к выполнению лабораторной работы, необходимо ознакомиться с правилами работы в биохимических лабораториях и техникой безопасности.

РАБОТА № 1. ОТРАБОТКА ПРАКТИЧЕСКИХ НАВЫКОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПИПЕТОК

Пипетки служат для точного отмеривания определенного объема жидкости. В биохимии используют мерные стеклянные и автоматические (механические) пипетки. Последние могут быть фиксированного или переменного объема. Пипеткой фиксированного объема можно набирать только тот объем, который предусмотрен моделью данной пипетки. В пипетке переменного объема можно выбирать объем, необходимый для анализа, из заданного в

модели диапазона (например, 20-200 или 100-1000 мкл). Выбор объёма дозирования происходит с помощью специального регулировочного колёсика на корпусе пипетки.

Правила пользования автоматическими пипетками:

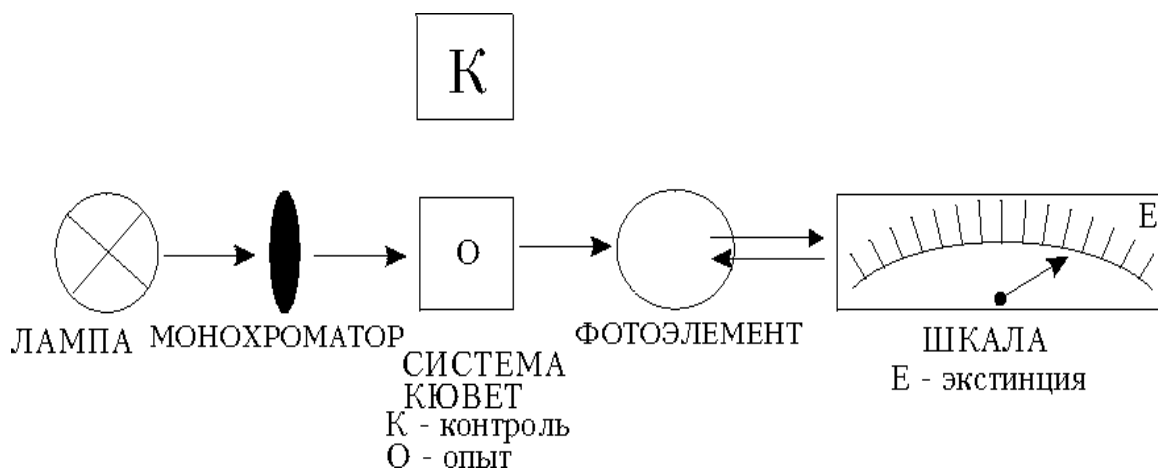
- регулировочным колесиком (если это механическая пипетка переменного объема) необходимо установить необходимый объем дозирования;
- к нижней части дозатора («посадочный конус») герметично присоединить наконечник, использование сменных наконечников позволяет набирать одной пипеткой разные растворы;
- опустить наконечник в жидкость приблизительно на 5 мм;
- произвести забор жидкости, равномерно нажимая и опуская поршень, и держа дозатор строго вертикально, чтобы избежать неточности дозирования.

ХОД РАБОТЫ:

Имеющимися на рабочем месте пипетками произвести взятие разных объемов дистиллированной воды.

РАБОТА № 2. КОЛОРИМЕТРИЯ. УСТРОЙСТВО ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРА. ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОГО ГРАФИКА

Колориметрическим методом определяют концентрацию веществ в окрашенных прозрачных растворах по интенсивности окраски раствора. В основу колориметрического метода анализа положен закон Ламберта-Бугера-Бера: поглощение света раствором (**экстинкция**) прямо пропорционально концентрации вещества в этом растворе и зависит от толщины слоя (толщины кювет, l). В фотометрии используют монохроматический свет (свет определенной длины волны, λ). Измерения производят на специальных оптических приборах – фотоэлектроколориметрах. Принципиальная схема устройства фотоэлектроколориметра представлена на рисунке:



Для перехода от значений экстинкции к значениям концентрации исследуемого вещества используют два подхода:

1) расчет по формуле (в случае использования стандартного раствора с известной концентрацией вещества);

$$C_0 = \frac{E_0}{E_{ст}} \times C_{ст}$$

где C_0 – концентрация опытной пробы;

E_0 – экстинкция опытной пробы;

$C_{ст}$ – концентрация стандартной пробы;

$E_{ст}$ – экстинкция пробы со стандартным раствором.

2) расчет по калибровочному графику, который строят, используя стандартные растворы, содержащие различные известные концентрации вещества и соответствующие им показания оптической плотности.

ХОД РАБОТЫ:

1. С помощью фотоэлектроколориметра, руководствуясь инструкцией работы на приборе, определите экстинкции 2% и 5% растворов $CuSO_4$:

$$E_{2\%} = \quad , \quad E_{5\%} =$$

2. Используя полученные значения постройте калибровочный график (график зависимости экстинкции E от концентрации C):



Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе

1. Правила работы в биохимических лабораториях. Техника безопасности.
2. Пипетки, предназначение, типы, правила работы с ними.
3. Колориметрия, общий принцип. Устройство и особенности эксплуатации фотоэлектроколориметра.
4. Способы расчета концентраций веществ в колориметрии.

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 2

ТЕМА: СОСТАВ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о физико-химических свойствах белка. Обучить методике выполнения цветных реакций на белки и аминокислоты.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Классификация белков по форме белковой молекулы, составу и функциям.
2. Аминокислотный состав белков.
3. Цветные реакции на белки и аминокислоты, их практическое применение.
4. Биологически активные пептиды, классификация, представители. Глутатион.
5. Белковый состав органов и тканей, его изменения в онтогенезе.
6. Физико-химические свойства белков, их характеристика.
7. Методы выделения и очистки белков. Белковые препараты.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Типы цветных реакций на белки и аминокислоты.
2. Химические механизмы биуретовой, нингидриновой, ксантопротеиновой реакций и реакции Фоля.

РАБОТА: ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛКИ И АМИНОКИСЛОТЫ

Существует два типа цветных реакций:

- 1) **универсальные** –
 - *биуретовая* (на белки и пептиды);
 - *нингидриновая* (на свободные аминогруппы в α -положении в составе белков, полипептидов и свободных аминокислот);
- 2) **специфические** – только на определенные аминокислоты как в составе молекуле белка, так и в растворах свободных аминокислот:

- ксантопротеиновая реакция (на ароматические аминокислоты),
- реакция Миллона (на тирозин),
- реакция Сакагучи (на аргинин) и др.

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Цветные реакции на белки и аминокислоты позволяют обнаружить присутствие белка в биологических жидкостях, установить аминокислотный состав. Эти реакции применяют как для качественного, так и для количественного определения белков и аминокислот.

1. Биуретовая реакция

ПРИНЦИП МЕТОДА. Раствор белка в щелочной среде в присутствии сульфата меди ($\text{NaOH}/\text{CuSO}_4$) окрашивается в синефиолетовый цвет. Окраска определена *образованием комплексного соединения ионов меди с пептидными связями белка*, которых должно быть не менее двух. Таким образом, эта реакция выявляет *пептидную связь* в белках, а также низкомолекулярных пептидах.

ХОД РАБОТЫ: взять пробирку.

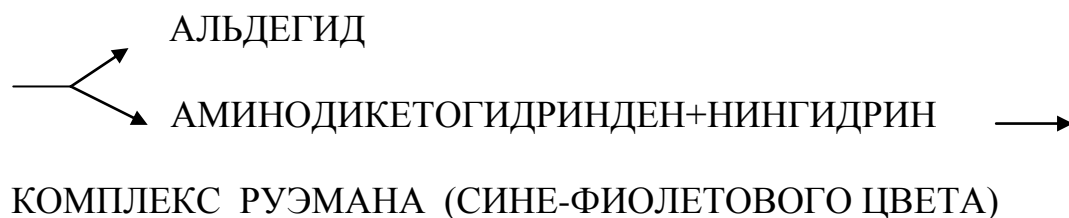
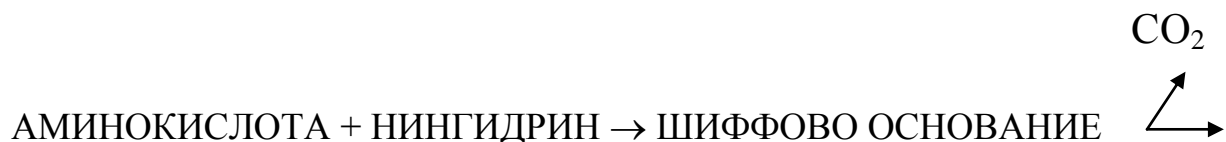
ОТМЕРИТЬ	
Раствор белка	5 капель
NaOH, 10 %	5 капель
CuSO ₄ , 1 %	2 капли

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

2. Нингидриновая реакция

ПРИНЦИП МЕТОДА. Аминокислоты, пептиды и белки при кипячении с раствором нингидрина дают синее окрашивание (комплекс Руэмана). Реакция характерна для **аминогрупп, находящихся в альфа-положении, входящих в состав белков, пептидов и свободных аминокислот.**



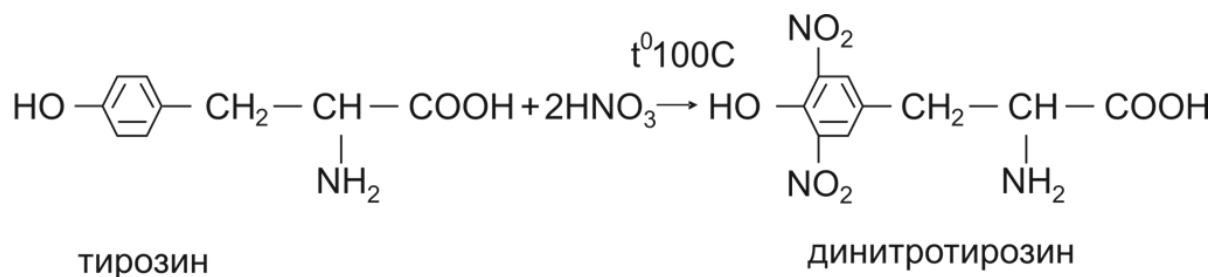
ХОД РАБОТЫ: взять пробирку.

ОТМЕРИТЬ	О П Ы Т
Раствор белка	5 капель
Нингидрин 0,5 %	5 капель
Кипятить до появления окраски	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

3. Ксантопротеиновая реакция Мульдера (на ароматические аминокислоты)



ПРИНЦИП МЕТОДА. *Ароматические аминокислоты* (фенилаланин, тирозин, триптофан) при нагревании с азотной кислотой нитруются. Это проявляется развитием желтого окрашивания.

ХОД РАБОТЫ: взять пробирку.

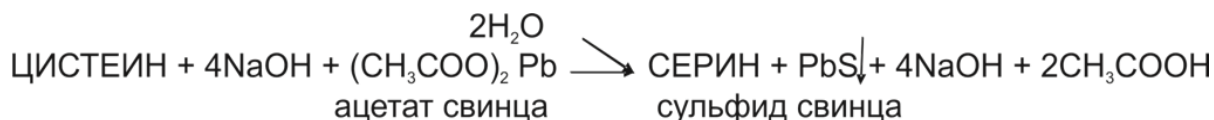
ОТМЕРИТЬ	О П Ы Т
раствор белка	5 капель
HNO ₃ концентрированная	5 капель
Кипятить до появления окраски	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

4. Реакция Фоля на цистеин

ПРИНЦИП МЕТОДА. Реакция характерна для *слабосвязанной серы в составе аминокислоты цистеин*. Конечный продукт – сульфид свинца – черного цвета.



ХОД РАБОТЫ: взять пробирку.

ОТМЕРИТЬ	О П Ы Т
Раствор белка	5 капель
NaOH, 30 %	5 капель
Раствор $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ 5 %	1 каплю
Кипятить до появления окраски.	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 3

ТЕМА: СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о структурной организации белков, научиться проводить реакции осаждения белка и объяснять их механизмы.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Первичная структура белка, методы ее установления. Зависимость биологических свойств и видовой специфичности белков от первичной структуры.

2. Вторичная структура белка, виды, значение, роль водородных связей. Надвторичная структура и ее типы.

3. Третичная структура белка, механизм образования, методы ее установления.

4. Четвертичная структура белка, ее биологическое значение.

5. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.

6. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Обратимое осаждение белков, факторы, механизмы.

2. Необратимое осаждение белков, (денатурация), факторы, механизмы.

3. Практическое использование обратимого и необратимого осаждения белков.

РАБОТА № 1. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКОВ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ АЗОТНОЙ КИСЛОТОЙ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ: демонстрируют влияние химических факторов на устойчивость белков в растворах.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Белок осаждается вследствие химической денатурации белка и образования комплексной соли белка с кислотами.

Соблюдать осторожность при работе с концентрированной HNO_3 . Реактив добавлять под включенной вытяжкой!

ХОД РАБОТЫ: взять пробирку.

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ
HNO_3 концентрированная	10 капель -
Раствор белка	10 капель

Наклонив пробирку под углом 45° , осторожно по стенке пробирки приливают раствор белка так, чтобы обе жидкости не смешивались.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

РАБОТА № 2. РАЗДЕЛЕНИЕ АЛЬБУМИНОВ И ГЛОБУЛИНОВ ЯИЧНОГО БЕЛКА МЕТОДОМ ВЫСАЛИВАНИЯ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Высаливание – обратимая реакция осаждения белков из растворов с помощью больших концентраций нейтральных солей: NaCl ,

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 . На процесс высаливания влияет ряд факторов: гидрофильность белка, его относительная молекулярная масса, форма и размеры белковой молекулы, заряд, дегидратирующая способность соли. Высаливанием обратимо осаждают белки, фракционируют их. Используют для выделения белков, в том числе ферментов.

ПРИНЦИП МЕТОДА. При высаливании происходит дегидратация макромолекул белка и устранение заряда. Осаждение белка обратимо и зависит от молекулярной массы белка и дегидратирующей способности растворов нейтральных солей.

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки (опыт 1 и опыт 2).

ЭТАПЫ РАБОТЫ	ОПЫТ 1	ОПЫТ 2
Раствор белка NaCl (порошок) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - насыщенный рас- твор (100 %)	1,0 мл до насыщения (100%) - Отставить на 10 минут	1,0 мл - 1,0 мл (получится 50% раствор) Без инкубации
РЕЗУЛЬТАТ:		
	Отфильтровать на бумажном фильтре	Отфильтровать на бумажном фильтре
	Прокипятить	-
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (порошок)	-	Добавить соль до насыщения
РЕЗУЛЬТАТ:		

В ы в о д:

Работа зачтена _____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 4

ТЕМА: СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о природе, свойствах и механизмах действия ферментов. Отработать методические подходы к определению активности и изучению свойств ферментов.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Химическая природа ферментов. Активный и аллостерический центр.
2. Простые и сложные ферменты.
3. Кофакторы ферментов. Коферментные функции витаминов.
4. Механизм действия ферментов. Виды ферментативного катализа (кислотно-основной, ковалентный, электростатический).
5. Свойства ферментов. Специфичность действия ферментов.
6. Классификация и номенклатура ферментов.
7. Изоферменты.
8. Единицы измерения активности ферментов.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Реакция, катализируемая амилазой. Принцип метода определения активности фермента.
2. Факторы, влияющие на активность амилазы (температура, активаторы, ингибиторы).
3. Принцип метода определения активности амилазы в сыворотке крови. Единицы амилазной активности.
4. Диагностическое значение определения активности амилазы в сыворотке крови.

РАБОТА № 1. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Позволяет охарактеризовать одно из свойств ферментов – зависимость про-

РАБОТА № 2. ВЛИЯНИЕ АКТИВАТОРОВ И ИНГИБИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ СЛЮНЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Активаторы и ингибиторы регулируют действие ферментов. Эти сведения используют для изучения влияния ксенобиотиков и изучения воздействия на энзимы изменяющихся концентраций нормальных метаболитов клетки.

ПРИНЦИП МЕТОДА. При активации идет конформационная перестройка активного центра фермента и увеличивается скорость реакции. Ингибиторы оказывают противоположное действие (механизмы различны: через аллостерический центр, путем ковалентного связывания, денатурации и т.д.).

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки: контрольную и две опытные.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ 1	ОПЫТ 2
H ₂ O	10 капель	8 капель	8 капель
NaCl 1%	-	2 капли	-
CuSO ₄ 1%	-	-	2 капли
Амилаза слюны (1: 10)	20 капель	20 капель	20 капель
Крахмал 1%	5 капель	5 капель	5 капель



Пробирки оставить при комнатной температуре на 5 минут (10 или 15 минут).



Добавить по 2 капли KI 1% во все пробирки.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

РАБОТА № 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ α -АМИЛАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Определение активности α -амилазы в сыворотке крови используют для диагностики заболеваний поджелудочной железы.

ПРИНЦИП МЕТОДА. α -Амилаза катализирует гидролиз пара-нитрофенил-2-D-мальтогептазида до промежуточных метаболитов, которые под действием α -глюкозидазы распадаются до пара-нитрофенола и глюкозы. Скорость образования пара-нитрофенола, измеряемая фотометрически при длине волны 405 нм, пропорциональна каталитической активности α -амилазы в образце сыворотки крови или мочи.

ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ
Рабочий реагент, мл	2
прогреть 2 мин в термостате при 37° С	
Сыворотка, мл	0,04
перемешать и инкубировать 2 мин. при 37° С	

Измеряют экстинкцию (E_1) раствора относительно дистиллированной воды и опять ставят на инкубацию. Через 3 мин. инкубации еще раз измеряют экстинкцию (E_2) раствора.

Фотометрию проводят при длине волны 405 нм, кювета с длиной оптического пути – 1 см.

РЕЗУЛЬТАТЫ: $E_1 =$

$E_2 =$

Активность α -амилазы = $(E_2 - E_1) \times 843,3 =$ Е/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Активность α -амилазы в сыворотке крови в норме до **90 Е/л**.

Повышение активности фермента наблюдается при паротите, остром и хроническом панкреатите, раке поджелудочной железы, перитоните, циррозе печени, остром инфекционном гепатите, почечной недостаточности, внематочной беременности, диабетическом кетоацидозе, язве желудка, гастрите.

Снижение активности α -амилазы отмечается при атрофии поджелудочной железы, муковисцидозе, тяжелых поражениях печени, сахарном диабете, гипотиреозе, снижении массы тела.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 5

ТЕМА: КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о кинетике ферментативных реакций регуляции ферментативной активности. Изучить действие липазы и влияние желчи на активность фермента.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.
2. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, рН, концентраций субстрата и фермента.
3. Регуляция активности ферментов:
 - 3.1. Влияние активаторов и ингибиторов. Типы ингибирования: обратимое (конкурентное и неконкурентное), необратимое.
 - 3.2. Аллостерическая регуляция.
 - 3.3. Ковалентная модификация структуры ферментов: фосфорилирование-дефосфорилирование, ограниченный протеолиз и прочее.
4. Лекарственные препараты – ингибиторы активности ферментов, их использование в медицине.

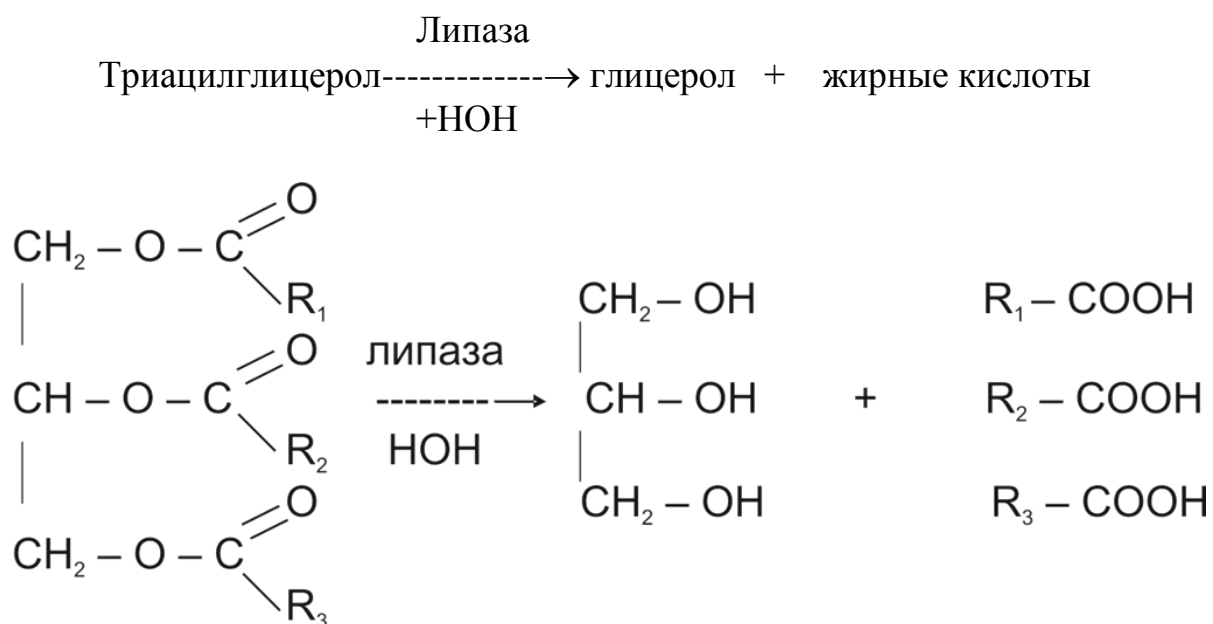
Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Реакция, катализируемая липазой, ее роль в процессе пищеварения.
2. Факторы, активирующие липазу в кишечнике.
3. Принцип метода количественного определения активности липазы.

РАБОТА. КИНЕТИКА ДЕЙСТВИЯ ЛИПАЗЫ. ВЛИЯНИЕ ЖЕЛЧИ НА АКТИВНОСТЬ ЛИПАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Липолитические ферменты поджелудочной железы гидролизуют жиры пищи в тонком кишечнике. Желчные кислоты эмульгируют жиры, активируют липазу и участвуют во всасывании продуктов переваривания липидов. Изучая кинетику действия липазы, можно проследить в динамике активность фермента и обозначить факторы, влияющие на этот процесс (температура, концентрация субстрата и продуктов реакции, желчь).

ПРИНЦИП МЕТОДА. Липаза катализирует реакцию:



Скорость действия липазы можно определить по количеству жирных кислот, образующихся за определенный промежуток времени. Количество жирных кислот определяют титрованием щелочью с индикатором фенолфталеином и выражают в мл 0,01 н раствора щелочи.

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки: опыт 1 и опыт 2.

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ-1 (без желчи)	ОПЫТ-2 (с желчью)
Молоко	10,0 мл	10,0 мл
H ₂ O	1,0 мл	-
Раствор желчи	-	1,0 мл
Липаза из поджелудочной железы	1,0 мл	1,0 мл
	Перемешать, отобрать из пробирок по 2 мл смеси в соответствующие колбы, после этого пробирки поместить в термостат при 37°C. В колбы добавить 1-2 капли фенолфталеина и титровать 0,01 н NaOH до розовой окраски	

При первом титровании нейтрализуют кислоты, присутствующие в молоке до начала действия липазы.

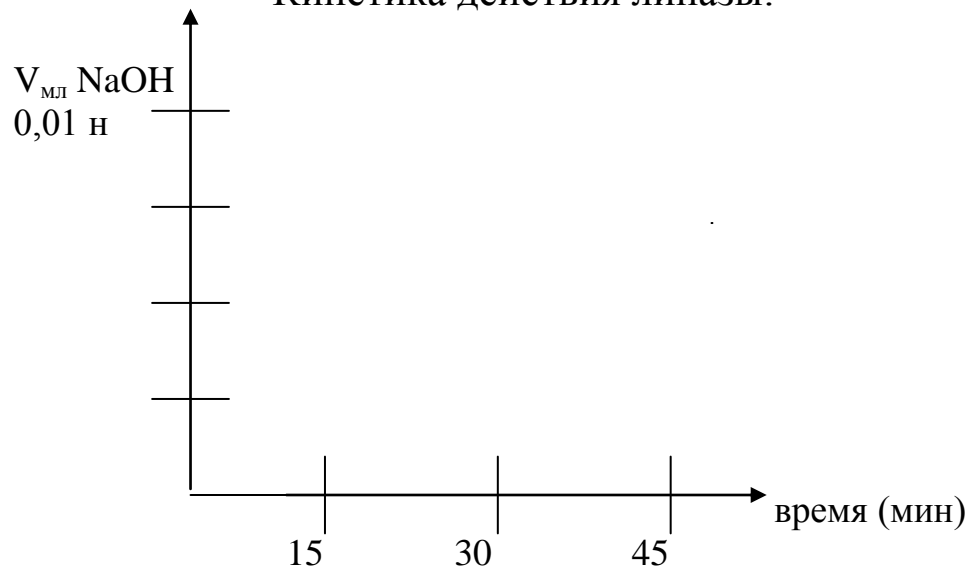
Результаты первого титрования (до начала действия липазы) вычитают из результатов последующих титрований, которые проводят через 15, 30 и 45 минут.

РЕЗУЛЬТАТ: данные титрования записать в таблицу:

Время инкубации, мин.	Объем 0,01 н раствора NaOH, пошедшего на титрование	
	Без желчи	С желчью
Результат	X	
определения: 0	Y - X = Δ Y	
15	Z - X = Δ Z	
30	E - X = Δ E	
45		

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: полученные данные используют для построения графика.

Кинетика действия липазы:



В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 6

ТЕМА: ФЕРМЕНТЫ В ДИАГНОСТИКЕ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о применении ферментов в диагностике и закрепить знания о структуре и функциях белков и ферментов.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

1. Различия ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты.
2. Энзимодиагностика, её цели и задачи.
3. Ферменты плазмы крови: происхождение, определение с диагностической целью.
4. Изменение активности ферментов при патологии. Наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные) энзимопатии.
5. Применение ферментов для лечения болезней и как аналитических реагентов в лабораторной диагностике.
6. Иммуобилизованные ферменты.

Компьютерное тестирование по разделу «Белки. Ферменты»

Просмотр обучающих видеофильмов.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «БЕЛКИ, ФЕРМЕНТЫ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Записать схему строения молекулы сложного фермента. Какие функциональные группы аминокислотных остатков наиболее часто участвуют в формировании активного центра фермента?

2. Записать схему строения аминокислотного анализатора, указать его применение. Какая цветная реакция используется в автоматическом анализаторе? Какие методы разделения веществ используются в автоматическом анализаторе?

3. Написать пептид, состоящий из моноаминодикарбоновой, диаминомонокарбоновой, ароматической, полярной и неполярной аминокислот.

4. Укажите типы взаимодействий между боковыми радикалами аминокислотных остатков: а) *тир*, *глу*; б) *цис*, *цис*; в) *гис*, *асп*; г) *ала*, *вал*.

5. Решение ситуационных задач по разделу «Белки. Ферменты» из сборника задач и заданий «Биологическая химия».

Работа зачтена _____подпись преподавателя

ЗАНЯТИЕ № 7

КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «БЕЛКИ. ФЕРМЕНТЫ»

1. История изучения белков.
2. Классификация белков по форме белковой молекулы, составу и функциям.
3. Аминокислотный состав белков.
4. Цветные реакции на белки и аминокислоты, их практическое применение.
5. Биологически активные пептиды, классификация, представители. Глутатион.
6. Белковый состав органов и тканей, его изменения в онтогенезе.
7. Физико-химические свойства белков, их характеристика.
8. Методы выделения и очистки белков. Белковые препараты.
9. Первичная структура белка, методы ее установления. Зависимость биологических свойств и видовой специфичности белков от первичной структуры.
10. Вторичная структура белка, виды, значение, роль водородных связей. Надвторичная структура и ее типы.
11. Третичная структура белка, механизм образования, методы ее установления.
12. Денатурация белка, факторы, ее вызывающие, практическое использование.
13. Четвертичная структура белка, ее биологическое значение.
14. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.
15. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.
16. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.
17. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.
18. История изучения ферментов.
19. Химическая природа ферментов. Активный и аллостерический центр.
20. Простые и сложные ферменты.
21. Кофакторы ферментов. Коферментные функции витаминов.

22. Механизм действия ферментов. Виды ферментативного катализа (кислотно-основной, ковалентный, электростатический).
23. Свойства ферментов. Специфичность действия ферментов.
24. Классификация и номенклатура ферментов.
25. Изоферменты.
26. Единицы измерения активности ферментов.
27. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.
28. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, рН, концентраций субстрата и фермента.
29. Механизм регуляции активности ферментов.
30. Типы ингибирования: обратимое (конкурентное и неконкурентное), необратимое.
31. Лекарственные препараты – ингибиторы активности ферментов, их использование в медицине.
32. Различия ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты.
33. Энзимодиагностика, её цели и задачи.
34. Ферменты плазмы крови: происхождение, определение с диагностической целью.
35. Изменение активности ферментов при патологии. Наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные) энзимопатии. Клинико-диагностическое значение исследования активности амилазы в сыворотке крови.
36. Применение ферментов для лечения болезней и как аналитических реагентов в лабораторной диагностике.
37. Иммуобилизованные ферменты.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 8

ТЕМА: ОБЩИЕ ПУТИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания об основных путях метаболизма аминокислот и освоить метод определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Динамическое состояние белков организма. Азотистый баланс.
2. Белки пищи, их переваривание и всасывание. Биологическая ценность пищевых белков.
3. Превращение аминокислот микрофлорой кишечника.
4. Источники и пути использования аминокислот в тканях.
5. Общие пути обмена аминокислот в организме.
6. Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование и восстановительное аминирование.
7. Трансаминирование аминокислот. Механизм трансаминирования аминокислот. Коферментная функция витамина В₆. Биологическое значение.
8. Трансдезаминирование, трансреаминирование, их биологическое значение.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Реакции, катализируемые аланинаминотрансферазой и аспаратаминотрансферазой.
2. Принцип метода определения активности аминотрансфераз.
3. Клинико-диагностическое значение исследования аминотрансфераз.

РАБОТА. АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНО-ТРАНСФЕРАЗЫ (АЛТ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Аминотрансферазы – ферменты, катализирующие перенос аминогруппы с аминокислот на кетокислоты. В качестве кофермента ферменты содержат производное витамина В₆ – пиридоксальфосфат и пи-

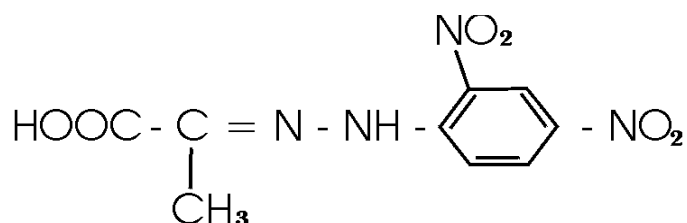
ридоксаминфосфат. Активность аминотрансфераз отражает состояние аминокислотного обмена в печени, сердечной мышце, почках, скелетной мускулатуре и других органах.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Аланинаминотрансфераза катализирует реакцию:



Задание: напишите формулы веществ, участвующих в аланинаминотрансферазной реакции.

При добавлении кислого 2,4-динитрофенилгидразина ферментативный процесс останавливается и образуется динитрофенилгидразон пирувата:



Это соединение в щелочной среде дает коричнево-красное окрашивание. Интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству образовавшейся пировиноградной кислоты. По количеству пирувата и судят об активности фермента (метод Райтмана-Френкеля).

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки.

ПРОБА отмерить	КОНТРОЛЬ	О П Ы Т
СУБСТРАТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ РАСТВОР СЫВОРОТКА КРОВИ	0,25 мл 0,05 мл --	0,25 мл -- 0,05 мл
Инкубируют в термостате 30 минут при 37°C		
2,4-Динитрофенилгидразин	0,25 мл	0,25 мл
Перемешать, оставить на 20 минут при комнатной температуре		
NaOH	2,5 мл	2,5 мл

Перемешать и через 10 минут измерить экстинкцию опыта на колориметре против контрольного раствора.

Длина волны 500-530 нм; кювета 0,5 см.

РЕЗУЛЬТАТ: $E =$

По калибровочному графику активность АлАТ составляет _____ ммоль/ч•л (Ед/л)

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) в сыворотке крови в норме: **5-42 Ед/л.**

Повышение активности фермента наблюдается при некрозе клеток печени любой этиологии, вирусных и хронических гепатитах, механической желтухе, травмах мышц, миозите, миокардите, инфаркте миокарда, дистрофии, миопатии.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 9

ТЕМА: ПУТИ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ АММИАКА. ОБМЕН ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о метаболизме отдельных аминокислот и путях обезвреживания аммиака. Освоить методику определения мочевины в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Декарбоксилирование аминокислот, типы, биологическое значение. Биогенные амины (триптамин, серотонин, мелатонин, гистамин, катехоламины, ди- и полиамины, ГАМК): образование, синтез, функции, реакции инактивации.
2. Пути образования и обезвреживания аммиака в организме.
3. Тканевое обезвреживание аммиака: восстановительное аминирование, синтез глутамина и аспарагина.
4. Биосинтез мочевины (орнитиновый цикл): последовательность реакций. Нарушения синтеза мочевины.
5. Пути катаболизма аминокислот в организме. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
6. Метаболизм метионина: образование S-аденозилметионина, его участие в реакциях трансметилирования, реакции синтеза креатина.
7. Обмен фенилаланина и тирозина.

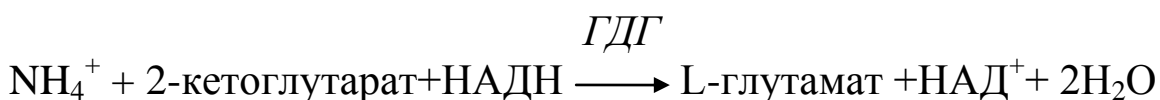
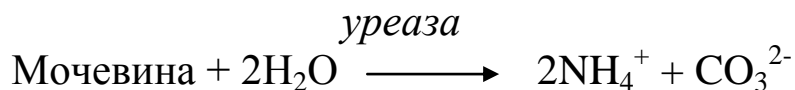
Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Принцип метода количественного определения мочевины в крови.
2. Диагностическое значение определения мочевины в сыворотке крови и моче.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВИНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ КИНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД)

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Мочевина – продукт, образующийся в печени при обезвреживании аммиака. Мочевина – основной конечный продукт обмена белков. Примерно 50% небелкового, остаточного азота крови приходится на долю мочевины.

ПРИНЦИП МЕТОДА: мочевины гидролизуются в присутствии воды и уреазы с образованием аммиака и двуокиси углерода. Далее, аммиак, взаимодействует с 2-кетоглутаратом и НАДН в присутствии глутаматдегидрогеназы (ГДГ) с образованием глутамата и НАД⁺. Уменьшение концентрации НАДН пропорционально концентрации мочевины в заданные интервалы времени.



ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки: контроль, стандарт, опыт.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Рабочий реагент	–	2,0мл	2,0мл
Дистиллированная вода	2,0мл	–	–
Прогреть пробирки в термостате при 37 ⁰ С 1 мин.			
Сыворотка крови	–	–	0,02мл
Стандарт, C _{ст} =13,33 ммоль/л	–	0,02мл	–
Тщательно перемешать и измерить поглощение опытной и стандартной пробы относительно контроля (воды) через 1 мин (E _{1оп} и E _{1ст}), затем через 2 мин (E _{2оп} и E _{2ст}), длина волны 340-365 нм; кювета 0,5см			

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА

Расчет изменения поглощения:

$$\Delta E_{\text{оп}} = (E_{1\text{оп}} - E_{2\text{оп}}) =$$

$$\Delta E_{\text{ст}} = (E_{1\text{ст}} - E_{2\text{ст}}) =$$

Расчет концентрации мочевины:

$$C_{\text{моч}} = \frac{\Delta E_{\text{оп}} \times C_{\text{ст}}}{\Delta E_{\text{ст}}} =$$

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание мочевины

- в сыворотке крови у взрослых **2,5-8,3 ммоль/л**;
- в моче **333-583 ммоль/сут**.

Незначительное повышение концентрации мочевины в сыворотке крови наблюдается при избыточном питании белковыми продуктами, при старении.

Значительное увеличение концентрации мочевины в сыворотке крови (уремия) наблюдается при почечной недостаточности, обезвоживании (рвота, понос), шоке, усиленном распаде белков, сепсисе.

Пониженное содержание мочевины в сыворотке крови отмечается при паренхиматозном гепатите, циррозе (резкое снижение мочевинообразовательной функции печени), эклампсии, во время беременности.

Пониженное содержание мочевины в моче отмечается при нефрите, ацидозе, паренхиматозной желтухе, циррозе печени.

ВЫВОД:

РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «АМИНОКИСЛОТНЫЙ ОБМЕН»

1. Составить метаболическую карту аминокислотного обмена, используя представленный образец.
2. На карте отметить:
 - 2.1. Источники аминокислот в тканях.
 - 2.2. Пути превращения аминокислот в тканях.
 - 2.3. Тканевое обезвреживание аммиака.
 - 2.4. Биосинтез мочевины.
 - 2.5. Аминокислоты, распад которых приводит к образованию Ацетил-КоА.
 - 2.6. Субстраты ЦТК, являющиеся промежуточными продуктами распада аминокислот.
 - 2.7. Конечные продукты распада аминокислот и нуклеотидов и их нормы в крови (мочевина, мочевая кислота).

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 10

ТЕМА: ***ПРОТЕИНОПАТИИ И НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ***

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о нарушениях структуры, функционирования и образования неферментных белков и связанных с этим заболеваниями, а также о нарушениях обмена аминокислот. Освоить биуретовый метод количественного определения белка.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Дефекты белков неферментной природы.
2. Изменения содержания общего белка в сыворотке крови (гипер- и гипопроотеинемии) и индивидуальных белковых фракций.
3. Диспротеинемии – примеры, характеристика.
4. Дефекты белков свертывания крови.
5. Гемоглобинопатии. Характеристика нарушений структуры гемоглобина.
6. Энзимопатии – классификация и краткая характеристика.
7. Энзимопатии обмена аминокислот – гистидинемия, гипергомоцистеинемия, гиперлизинемия.
8. Нарушения обмена фенилаланина и тирозина (фенилкетонурия, алкаптонурия, альбинизм).

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Принципы методов количественного определения белков в растворе:
 - а) колориметрические;
 - б) спектрофотометрический.
2. Клинико-диагностическое значение определения общего белка в сыворотке крови.

Количественное определение белков

Существуют две группы методов количественного определения белков:

- 1) методы, основанные на *физико-химических свойствах* белков: колориметрический (биуретовый, метод Лоури), спектрофотометрический, рефрактометрический, нефелометрический.
- 2) методы, основанные на *биологических свойствах* белков: радиоимунный, иммуноферментный, Вестерн-блоттинг.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА СЫВОРОТКИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

ПРИНЦИП МЕТОДА. БЕЛОК + NaOH/CuSO₄ = синевioletовый цвет, интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка в сыворотке и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	О П Ы Т
Реактив Горнала NaCl 0,9 % сыворотка	4,0 мл 0,1 мл -	4,0 мл - 0,1 мл
Перемешать, фотометрия через 20 минут. Кювета 1 см, $\lambda = 540$ нм		

Измерение на фотоэлектроколориметре проводят против контрольной пробы.

РЕЗУЛЬТАТ:

$E_o =$

Конечный результат: определяют по калибровочному графику:

$C_o =$ г/л

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание общего белка (общий белок = альбумины + глобулины) в сыворотке крови у взрослых – **65-85 г/л**.

Повышение концентрации общего белка сыворотки крови – **гиперпротеинемия**.

Абсолютная гиперпротеинемия характерна для: ревматоидного артрита, коллагенозов, гипериммуноглобулинемии при острых и хронических инфекционных заболеваниях, при патологиях, характеризующихся образованием аномальных белков (парапротеинов) – при миеломной болезни, макроглобулинемии Вальденстрема.

Относительная гиперпротеинемия наблюдается при обезвоживании: рвота, понос, ожоги, несахарный диабет, хронический нефрит в стадии полиурии.

Снижение концентрации белка в сыворотке крови (**гипопротеинемия**) отмечается при: голодании, нарушении переваривания белков в ЖКТ, беременности, нефротическом синдроме (гломерулонефрит), хронических заболеваниях печени (гепатиты и циррозы), гастроэнтеропатиях, остром панкреатите, злокачественных новообразованиях, тиреотоксикозе.

Относительная гипопротеинемия может наблюдаться при анурии, длительной перфузии физиологических жидкостей, гиперсекреции вазопрессина и альдостерона.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 11

ТЕМА: СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: сформировать знания о строении нуклеиновых кислот и обмене нуклеотидов. Освоить метод количественного определения мочевой кислоты в моче.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Нуклеотидный состав ДНК и РНК.
2. ДНК, структура, биологические функции.
3. РНК, виды, структура, биологические функции.
4. Нуклеопротеины. Строение рибосом эукариот и хроматина.
5. Особенности организации генома человека.
6. Схема синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Их регуляция.
7. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Образование тимидиловой кислоты.
8. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях.
9. Схема распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
10. Нарушения обмена нуклеотидов: ксантинурия, оротацидурия, подагра.

Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе

1. Напишите схему образования мочевой кислоты и формулу этого вещества.

2. Опишите принцип метода количественного определения мочевой кислоты, укажите ферменты, присутствующие в рабочем реагенте, назовите их субстраты.

РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Мочевая кислота образуется при распаде пуриновых нуклеозидов (аденозин, гуанозин). Выделение мочевой кислоты с мочой зависит от содержания пуринов в пище и от состояния обмена нуклеиновых кислот в организме. Мочевая кислота и её соли (ураты) входят в состав подагрических отложений в сухожилиях, хрящах, слизистых оболочках суставных сумок.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Мочевая кислота окисляется кислородом при каталитическом действии фермента уриказы с образованием перекиси водорода и аллантаина. Перекись водорода под действием пероксидазы расщепляется до воды и молекулярного кислорода, который окисляет хромоген с образованием окрашенного продукта, определяемого фотометрически.

ХОД РАБОТЫ

Взять две пробирки.

ОТМЕРИТЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Сыворотка крови, мл	-	0,02
Стандартный раствор, мл (375 мкмоль/л)	0,02	-
Рабочий реагент, мл	1	1

Реакционную смесь перемешать и инкубировать 10 мин при температуре 37°C. Длина волны 500 нм, кювета 0,5 см. Измеряют оптическую плотность опытной пробы против воды. Окраска раствора стабильна 15 минут.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА:

$$C_{\text{оп}} = C_{\text{ст}} \cdot E_{\text{оп}}/E_{\text{ст}} = \quad \text{мкмоль/л.}$$

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови

- у женщин составляет **140-340 мкмоль/л**,
- у мужчин – **200-415 мкмоль/л**.
- у взрослых здоровых людей с мочой выделяется **1,6-6,4 ммоль/сутки** мочевой кислоты.

Повышенный уровень мочевой кислоты в крови (**гиперурикемия**) наблюдается при болезнях почек, поражении сердечной мышцы, подагре, длительном голодании, терапии цитостатиками, приёме анаболических стероидов. Снижение содержания мочевой кислоты в крови (**гипоурикемия**) может возникать из-за поражения печени и ряда генетически обусловленных заболеваний (синдром Дауна, болезнь Вильсона-Коновалова, синдром Леша-Нихана), приема глюкокортикоидов.

Повышенная экскреция мочевой кислоты (**гиперурикурия**) наблюдается при заболеваниях, сопровождающихся ускоренной гибелью клеток (терапия раковых и лейкозных больных цитостатиками, гемобластозы, гемолитические процессы, псориаз, синдром длительного сдавления), токсикозах беременности, алкоголизации, потреблении богатых пуринами продуктов (печень, почки, икра рыб).

Пониженное выведение мочевой кислоты (**гипоурикурия**) отмечается при почечной недостаточности, подагре, нефритах, отравлениях свинцом и бериллием, синдроме Дауна.

В Ы В О Д

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 12

ТЕМА: БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКА

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: сформировать знания о синтезе нуклеиновых кислот и белка. Провести гидролиз нуклеопротеинов и освоить качественные реакции определения продуктов гидролиза.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Биосинтез ДНК (репликация) у эукариот, субстраты, ферменты, общая схема синтеза.
2. Повреждения ДНК, типы репарации.
3. Биосинтез РНК (транскрипция) у эукариот, этапы, схема, роль ДНК-зависимых РНК-полимераз. Процессинг РНК.
4. Образование и строение аминоксил-т РНК. Адапторная функция тРНК.
5. Синтез белка (трансляция) у эукариот, этапы, схема.
6. Посттрансляционные изменения белков, значение фолдинга белков.
7. Регуляция экспрессии генов.
8. Антибиотики - ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.

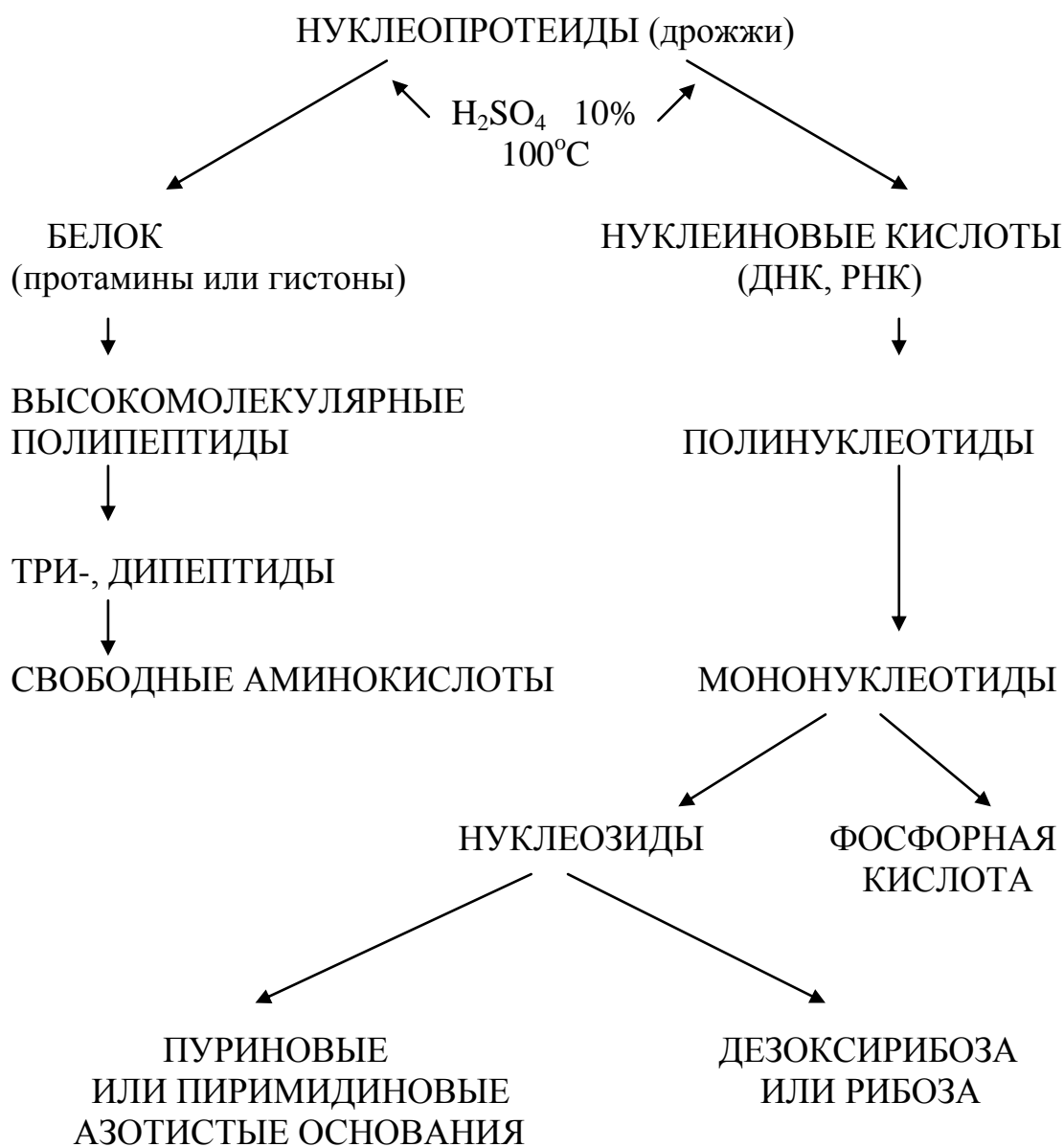
Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе

1. Назовите основных представителей нуклеопротеинов, опишите их биологическую роль.
2. Рассмотрите схему гидролиза нуклеопротеинов, подчеркните на ней конечные продукты гидролиза нуклеопротеинов.
3. Опишите сущность качественных реакций на продукты гидролиза нуклеопротеинов.

РАБОТА. ГИДРОЛИЗ НУКЛЕОПРОТЕИДОВ ДРОЖЖЕЙ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Кислотный гидролиз используется для изучения химического состава нуклеопротеидов.

СХЕМА ГИДРОЛИЗА НУКЛЕОПРОТЕИДОВ



Продукты гидролиза открывают специфическими реакциями:

- полипептиды – биуретовой реакцией (растворы белков и пептидов в щелочной среде в присутствии сульфата меди окрашиваются в сине-фиолетовый цвет);
- пуриновые основания – серебряной пробой (серебряные соли пуринов образуют светло-коричневый осадок),
- пентозы – пробой Троммера (выпадает красный осадок Cu_2O или желтый осадок CuOH вследствие окисления рибозы),
- фосфорную кислоту – молибденовой пробой (образуется фосфорномолибденовокислый аммоний – желтый кристаллический осадок).

ХОД РАБОТЫ:

- I. Получение гидролизата: взять колбу, внести 5 г дрожжей, добавить 40 мл 10% раствора H_2SO_4 , закрыть пробкой со стеклянной трубкой и поставить для кипения ($100^\circ C$) на 60 минут. Через час охладить и отфильтровать.
- II. Открытие продуктов гидролиза специфическими реакциями.

Взять четыре пробирки и в каждой выполнить реакцию:

1. Биуретовая реакция	
Гидролизат NaOH 10% CuSO ₄ 1%	5 капель 10 капель 1-2 капель
Результат:	
1. Серебряная проба на пурины	
Гидролизат (NH ₄)OH (конц.) AgNO ₃ 1%	10 капель 1 капля 5 капель Оставить на 5 минут
Результат:	
2. Проба Троммера на рибозу и дезоксирибозу	
Гидролизат NaOH 30 % CuSO ₄ 7 %	5 капель 10 капель 3 капли Нагреть до начала кипения
Результат:	
4. Молибденовая проба на фосфорную кислоту	
Молибденовый реактив Гидролизат	20 капель 5 капель Кипятить 1-2 мин

Результат:

В ы в о д :

**РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА
ПО ТЕМЕ «БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И
БЕЛКОВ»**

Задания для самостоятельной работы:

1. Написать реакции образования и строение валил-тРНК.
2. Составить схему биосинтеза дипептида метионилглутамата (стадии инициации и элонгации трансляции).

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 13

ТЕМА: ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания об основных методах молекулярной биологии и их практическом применении.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Ферменты и базовые методы, используемые в молекулярной биологии.
2. Методы исследования структуры ДНК (секвенирование ДНК).
3. Полимеразная цепная реакция, этапы, применение.
4. Блот-анализ ДНК и РНК. Методы идентификации белков. Вестерн-блот.
5. Геномная дактилоскопия, общая характеристика.
6. Представление о технологиях рекомбинантных ДНК (генной инженерии). Использование ее достижений в медицине. Клонирование ДНК.

Компьютерное тестирование по разделу «Обмен нуклеиновых кислот и нуклеотидов».

РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Рассмотреть роль генной инженерии в получении белков человека. Записать схему процесса.

2. Рассмотреть роль полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике. Записать схему ПЦР.

3. Заполнить таблицу характеристик разных видов блот-анализа:

Характеристика	Саузерн- блот	Нозерн- блот	Вестерн- блот
Исследуемая молекула(ы)			
Использование рестриктаз (да/нет)			
Применение электрофореза (да/нет)			
Природа зонда			

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

ЗАНЯТИЕ № 14

КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ. ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»

1. История изучения нуклеиновых кислот.
2. Нуклеотидный состав ДНК и РНК.
3. ДНК, структура, биологические функции.
4. РНК, виды, структура, биологические функции.
5. Нуклеопротеины. Строение хромосом и рибосом эукариот.
6. Особенности организации генома человека.
7. Схема синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Их регуляция.
8. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Образование тимидиловой кислоты.
9. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях.
10. Схема распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
11. Нарушения обмена нуклеотидов: ксантинурия, оротацидурия, подагра.
12. Биосинтез ДНК (репликация) у эукариот, субстраты, ферменты, общая схема синтеза.
13. Повреждения ДНК, типы репарации.
14. Биосинтез РНК (транскрипция) у эукариот, этапы, схема, роль ДНК-зависимых РНК-полимераз. Процессинг РНК.
15. Образование и строение аминоксил-т РНК. Адапторная функция тРНК.
16. Синтез белка (трансляция) у эукариот, этапы, схема.
17. Посттрансляционные изменения белков, значение фолдинга белков.
18. Регуляция экспрессии генов.
19. Антибиотики - ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.
20. Ферменты и базовые методы, используемые в молекулярной биологии.
21. Методы исследования структуры ДНК (секвенирование ДНК).
22. Полимеразная цепная реакция, этапы, применение.

23. Блот-анализ ДНК и РНК. Методы идентификации белков. Вестерн-блот.
24. Геномная дактилоскопия, общая характеристика.
25. Представление о технологиях рекомбинантных ДНК (генной инженерии). Использование ее достижений в медицине. Клонирование ДНК.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 15

ТЕМА: БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Систематизировать знания о биохимии питания, биологической роли витаминов и участии их в обмене веществ. Освоить метод количественного определения аскорбиновой кислоты в моче.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Состав пищи человека, значение питания для жизнедеятельности. Незаменимые факторы питания.
2. Нарушения питания. Квашиоркор, истощение, малярия. Причины развития, биохимические нарушения.
3. Витамины, история открытия, классификация, биологические функции. Витаминоподобные вещества.
4. Обеспеченность организма витаминами, гипо-, а- и гипervитаминозы, их причины. Роль микрофлоры толстого кишечника в синтезе некоторых витаминов.
5. Жирорастворимые витамины: А, Д, Е, К, пищевые источники, роль в организме, суточная потребность, проявление недостаточности и избытка в организме.
6. Водорастворимые витамины: В₁, В₂, В₃ (РР), В₅ (пантотенат), В₆, В₇ (биотин), В₉ (фолиевая кислота), В₁₂, С, пищевые источники витамина, роль в метаболизме, суточная норма потребления, проявления недостаточности.
7. Витаминоподобные соединения.
8. Использование витаминов в клинической практике. Поливитаминные препараты.

ПРИМЕЧАНИЕ: Знать строение витаминов: А, Д, В₁, В₂, В₆, РР, В₇ С, пантотеновая кислота.

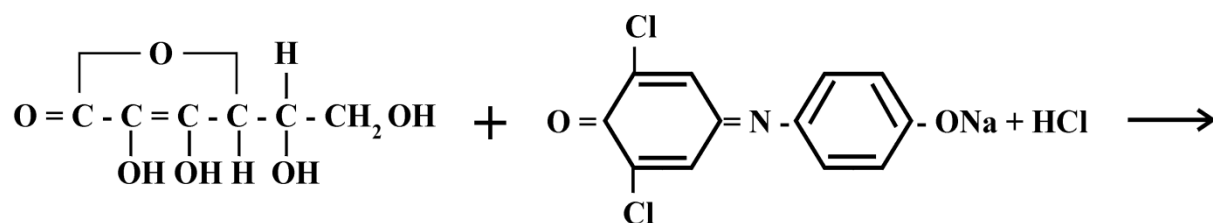
Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Принцип метода количественного определения аскорбиновой кислоты в моче.
2. Диагностическое значение определения витамина С в моче.

РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С

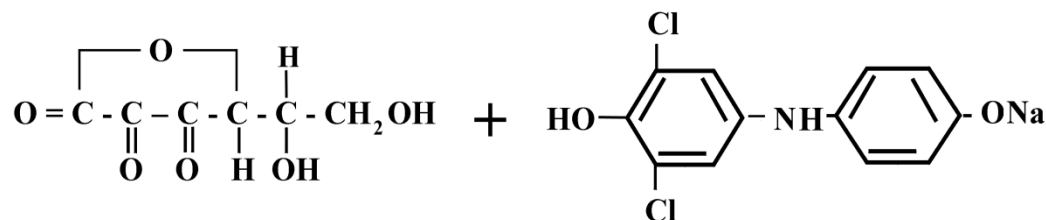
ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Витамин С участвует в окислительно-восстановительных процессах; в синтезе стероидных гормонов и катехоламинов в надпочечниках; как кофактор ферментов гидроксилаз (катализирующих превращение пролина в окипролин); ускоряет всасывание железа, активирует пепсиноген. Недостаток витамина С в организме приводит к нарушению этих процессов.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Метод основан на восстановлении витамином С 2,6-дихлорфенолиндофенола (2,6-ДХФИФ), который в кислой среде имеет красную окраску, в щелочной среде синюю, а при восстановлении обесцвечивается. Исследуемый раствор титруют в кислой среде щелочным раствором 2,6-ДХФИФ до розовой окраски.



аскорбат

2, 6 ДХФИФ
(окисленный)



2, 6 ДХФИФ
(восстановленный)

ХОД РАБОТЫ: взять колбу.

ОТМЕРИТЬ	О П Ы Т
М о ч а	10,0 мл
H ₂ O дист.	10,0 мл
HCl 10 %	20 капель
2,6 ДХФИФ 0,001 н	Титровать до розовой окраски

РЕЗУЛЬТАТ:

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,088 \cdot A \cdot 1500}{10} = \text{мг/сутки}$$

0,088 – содержание аскорбиновой кислоты, мг

A – результат титрования

1500 – среднее суточное количество мочи, мл

10 – объем мочи, взятый для титрования, мл

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание витамина С в крови составляет **34-114 мкмоль/л.**

Норма экскреции витамина с мочой - **20-30 мг/сут.**

Содержание витамина С в моче дает сведения о запасах витамина в организме, о соответствии между его содержанием в крови и экскрецией из организма. При приеме 100 мг витамина С в случае его дефицита в организме его концентрация в моче не повышается. Уровень аскорбата в моче снижается при острых и хронических инфекционных заболеваниях, анемии, стеаторее, нарушении всасывания, алкоголизме.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 16

ТЕМА: ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать представление о макроэргах тканей (АТФ, креатинфосфат) и принципах их количественного определения, функционирования цепи переноса электронов

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Энергетика клетки, общие представления.
2. Макроэрги клетки, строение (АТФ и другие нуклеозидтрифосфаты, 1,3-бисфосфоглицерат, фосфоенолпируват, креатинфосфат, ацетил-КоА, сукцинил-КоА).
3. АТФ, пути синтеза и использования. Окислительное фосфорилирование АДФ, механизмы, теория Митчелла.
4. Структурная организация цепи переноса электронов: полиферментные комплексы митохондрий и их строение.
5. НАД⁺(НАДФ⁺)-зависимые дегидрогеназы, строение кофермента, биологическая роль.
6. ФАД(ФМН)-зависимые дегидрогеназы, строение кофермента, биологическая роль.
7. Кофермент Q, строение, биологическая роль.
8. Цитохромы и цитохромоксидаза, биологическая роль.
9. Регуляция цепи переноса электронов: дыхательный контроль, активаторы, ингибиторы, разобщители.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. АТФ, строение, пути синтеза, биологическая роль.
2. Креатинфосфат мышц, его биологическая роль.
3. Принцип метода количественного определения макроэргов мышц.

РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАКРОЭРГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МЫШЦ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Главный макроэрг клеток человека и животных – АТФ – образуется в реакциях окислительного и субстратного фосфорилирования АДФ. В мышцах содержится креатинфосфат – макроэрг, образующийся с участием АТФ. Оба вещества обеспечивают энергией мышцы при их сокращении.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Богатые энергией два остатка фосфорной кислоты АТФ и фосфорный остаток креатинфосфата быстро отщепляются при гидролизе в кислой среде (лабильно связанный фосфор). Сравнение содержания неорганического фосфора, определяемого по цветной реакции с молибдатом аммония и аскорбиновой кислотой до и после гидролиза, указывает на количество лабильно связанного фосфора макроэргов, что отражает количество макроэргических соединений в мышцах.

ХОД РАБОТЫ:

А. Получение безбелкового фильтрата из мышечной ткани

0,5 г мышцы гомогенизируют в 5 мл охлажденной 2,5% трихлоуксусной кислоты (ТХУ). Фильтруют в мерную пробирку, осадок на фильтре промывают 5 мл холодной H_2O . Объем доводят до 10 мл.

Б. Определение лабильно связанных фосфатов

Взять две пробирки: контроль и опыт.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
Безбелковый фильтрат, мл	0,5	0,5
HCl, 1 М, мл	1	1 кипятить 15 минут, охлаждать
NaOH, 1 М, мл	1	1
H ₂ O, мл	2,5	2,5
Молибдат аммония 1 %,мл	0,5	0,5
Аскорбиновая кислота 1 %, мл	0,5	0,5
	Перемешать, инкубация 10 минут, при 18°C. Колориметрия против контроля, $\lambda = 640$ нм, кювета 1 см,	

РЕЗУЛЬТАТ: $E_{оп} =$

Расчеты:

зная $E_{оп}$, найти концентрацию фосфора в пробе по калибровочному графику (А). Конечный результат рассчитать по формуле:

количество АТФ = $A \cdot 260 =$ мкмоль/г ткани

В Ы В О Д:

К сведению: содержание АТФ в мышцах: ≈ 5 мкмоль АТФ в 1 г мышечной ткани в состоянии покоя.

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 17

ТЕМА: ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ПУТЬ МЕТАБОЛИЗМА. ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ В КЛЕТКЕ.

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Систематизировать знания о цикле трикарбоновых кислот, типах окисления, активных формах кислорода и антиоксидантной системе. Составить метаболическую карту энергетического обмена.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

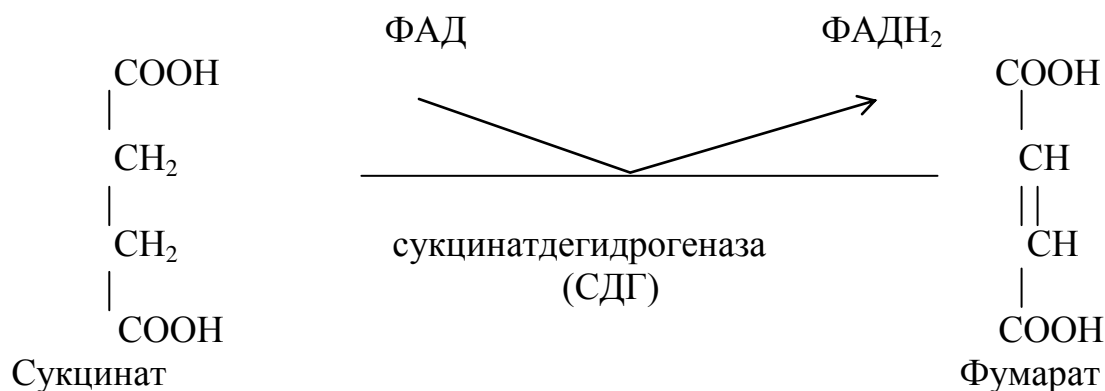
1. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), последовательность реакций, регуляция, биологическая роль.
2. Энергетика ЦТК, связь с ЦПЭ.
3. Оксидазный и пероксидазный типы окисления, схемы, ферменты, биологическая роль.
4. Диоксигеназный и монооксигеназный типы окисления, схемы, ферменты, биологическая роль.
5. Микросомальное окисление, схема, цитохром P450, биологическая роль.
6. Активные формы кислорода, образование, повреждающее действие.
7. Перекисное окисление липидов.
8. Антиоксидантные системы организма. Ферментативное и неферментативное звено.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Сукцинатдегидрогеназная реакция, принцип определения активности сукцинатдегидрогеназы.
2. Цитохромоксидаза, биологическая роль.
3. Принцип метода качественного определения активности цитохромоксидазы.

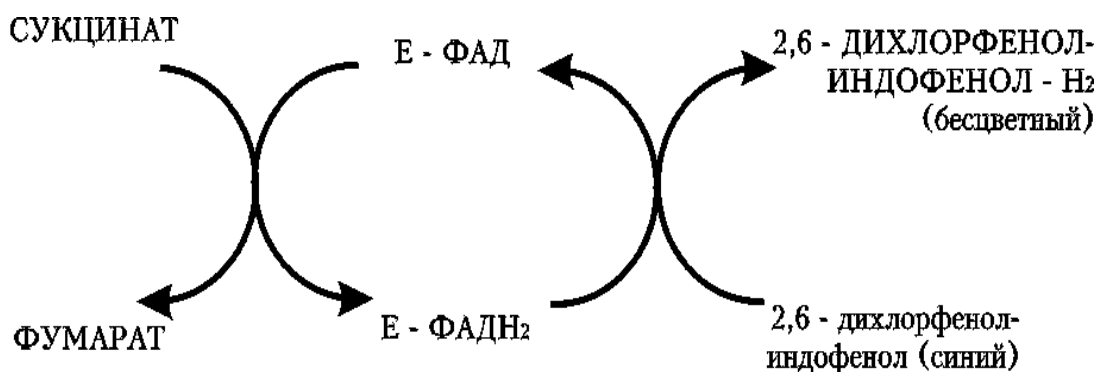
РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. СДГ один из ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот, прочно связанный с внутренней мембраной митохондрий. Роль кофермента выполняет ФАД, соединенный с белком ковалентной связью. Фермент *in vivo* окисляет янтарную кислоту (сукцинат):



ПРИНЦИП МЕТОДА.

Субстрат – янтарная кислота. Конечный акцептор водорода – 2,6-дихлорфенолиндофенол (синий цвет), который при восстановлении превращается в бесцветную лейкоформу. Источником фермента является отмытая мышечная ткань. В опыте (*in vitro*) ход реакций следующий:



Малонат является конкурентным ингибитором фермента СДГ, напишите его формулу:

ХОД РАБОТЫ:

А. Получение ферментного препарата (выполняется лаборантами кафедры): 2 г свежих мышц измельчают ножницами, гомогенизируют с небольшим количеством воды. Мышечную кашицу переносят на воронку с двойным слоем марли и промывают 25 мл воды. Отжатую мышечную массу переносят в пробирку, добавляют 4 мл воды, размешивают стеклянной палочкой, суспензию используют для последующей работы.

Б. Определение активности фермента

Взять четыре пробирки и приготовить инкубационные смеси в соответствии со схемой:

	t 100°	Опыт	Контроль	Ингибитор
№ пробирки отмерить	1	2	3	4
Ферментный препарат (гомогенат ткани)	1,0 мл кипячение 5 минут	1,0 мл -	1,0 мл -	1,0 мл -
H ₂ O	0,5 мл	0,5 мл	1,5 мл	-
Малонат	-	-	-	0,5 мл
Сукцинат	1,0 мл	1,0 мл	-	1,0 мл
2,6- дихлорфенолиндофенол	2 капли	2 капли	2 капли	2 капли
Перемешать.	Инкубация 15 минут при 37°С в термостате			

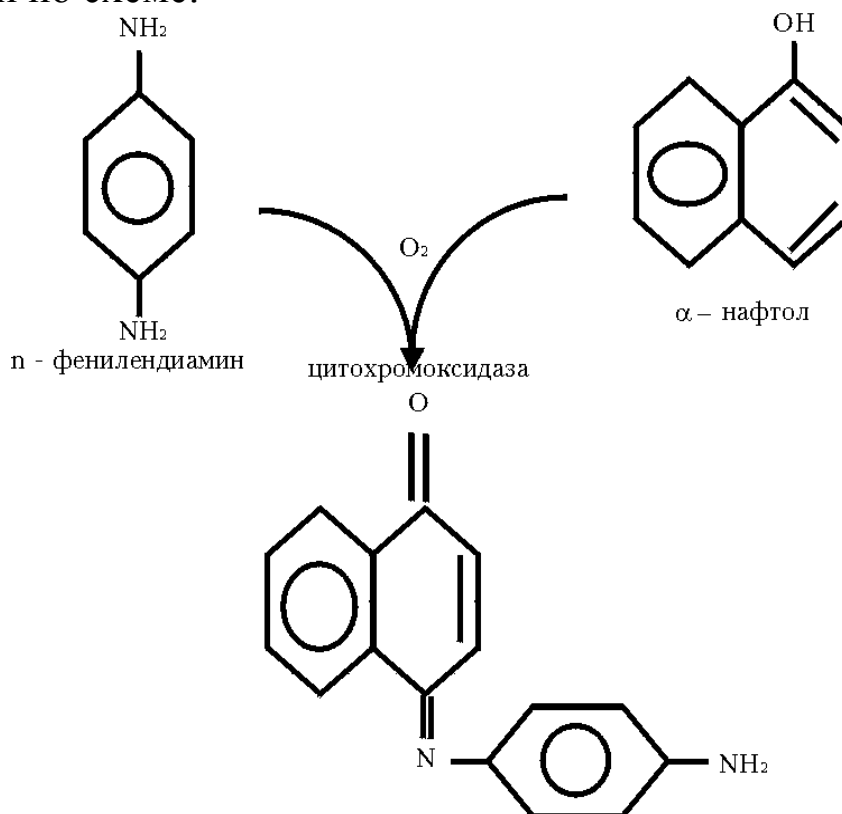
РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Цитохромоксидаза является хромопротеином, содержит геминую группу и Cu^{2+} , активна в растительных и животных тканях, осуществляет перенос электронов на кислород в цепи тканевого дыхания. Определение активности фермента дает представление о функционировании цепи переноса электронов.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Смесь α -нафтола и п-фенилендиамина (реактив «Нади») окисляется цитохромоксидазой в присутствии кислорода, образуя продукт конденсации индофеноловый синий по схеме:



ХОД РАБОТЫ:

Мышечную ткань разделяют на 2 части. Одну помещают на фильтр, другую переносят в пробирку, добавляют 1 мл H_2O и кипятят 1 минуту. После охлаждения извлекают прокипяченную мышечную ткань стеклянной палочкой и помещают на фильтр.

На оба образца мышц нанести по 2 капли реактива «НАДИ». Инкубировать 5-10 минут, при температуре $18^{\circ}C$ (комнатная). Сравнить окраску образцов.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту энергетического обмена, используя предложенный образец.
2. На карте выполнить следующие задания:
 - 2.1. Показать взаимосвязь ЦТК и ЦПЭ.
 - 2.2. Указать витаминзависимые ферменты ЦТК.
 - 2.3. Показать анаболические функции ЦТК.
 - 2.4. Отметить регуляцию ЦТК.
3. Решение ситуационных задач по разделу «Энергетический обмен» из сборника задач и заданий «Биологическая химия».

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 18

ТЕМА: ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. БИОХИМИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЗАЧЕТНОЕ ЗАНЯТИЕ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Получить представление о метаболизме и метаболических путях, структуре и роли биологических мембран.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Общие свойства и функции биологических мембран.
2. Химический состав и строение мембран. Липиды и белки мембран.
3. Механизмы мембранного транспорта веществ.
4. Представление о метаболизме и метаболических путях. Формы метаболических путей. Связь между анаболизмом и катаболизмом.
5. Общие и специфические пути катаболизма.
6. Методы изучения обмена веществ. Изотопные методы.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 19

ТЕМА: УГЛЕВОДЫ. ОБМЕН ГЛЮКОЗЫ – I

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания об основных метаболических путях превращения углеводов. Освоить метод количественного определения глюкозы в крови энзиматическим методом.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Строение, классификация, биологические функции углеводов.
2. Углеводы пищи, их переваривание и всасывание.
3. Общая схема путей метаболизм глюкозы в организме и их характеристика.
4. Фосфорилирование глюкозы, дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Регуляция.
5. Анаэробный распад глюкозы (гликолиз): последовательность реакций, энергетика, регуляция.
6. Аэробный распад глюкозы (аэробный гликолиз): последовательность реакций, энергетика, регуляция.
7. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, схема реакции, регуляция, биологическая роль.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Представление о нормо-, гипо- и гипергликемии.
2. Принцип метода количественного определения глюкозы в крови энзиматическим методом.
3. Диагностическое значение определения глюкозы в крови.

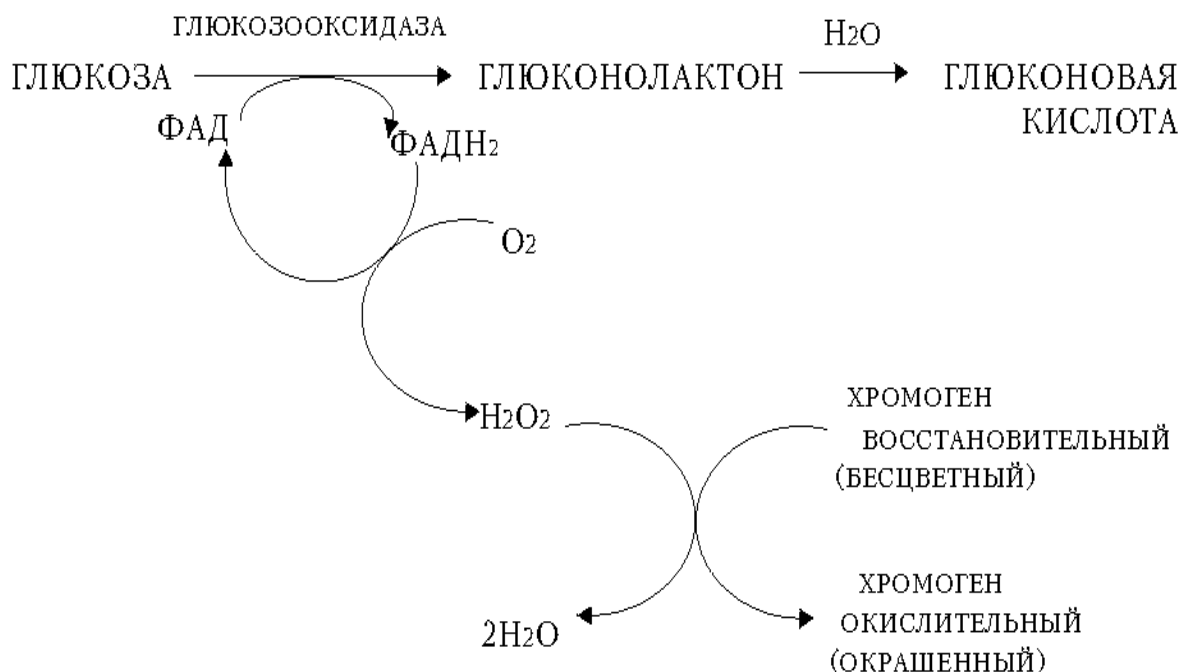
РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Определение глюкозы в цельной крови или плазме производится у каждого пациента для оценки состояния метаболизма углеводов и диагностики патологии (гипергликемий, гипогликемий). Для определе-

ния содержания глюкозы в крови используется ферментативный метод, основанный на окислении глюкозы глюкозооксидазой до глюконовой кислоты в присутствии кислорода воздуха. Метод является высокоспецифическим для определения D-глюкозы в присутствии других восстанавливающих веществ, содержащихся в экстрактах тканей и биологических жидкостях.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Глюкозооксидаза – сложный фермент, содержащий в качестве простетической группы молекулу ФАД. При окислении глюкозы глюкозооксидазой происходит отщепление двух атомов водорода у первого атома углерода в молекуле глюкозы. Далее эти два атома водорода передаются на ФАД, что приводит к его восстановлению с образованием ФАДН₂. Последний передает атомы водорода на молекулярный кислород с образованием Н₂О₂. Далее Н₂О₂ расщепляется ферментом пероксидазой на воду и атомарный кислород, который окисляет хромоген (краситель), приобретающий при окислении окраску.

ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЕТОДА:



ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки: опыт, стандарт и контроль.

ПРОБА ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Рабочий реактив	2,0 мл	2,0	2,0
H ₂ O	0,02 мл	–	–
Стандартный раствор глюкозы (5,55 ммоль/л)	–	0,02 мл	–
Сыворотка крови	–	–	0,02 мл
Перемешать, инкубация в термостате 20 минут при 37° С			
ФЭК, λ = 500 нм, колориметрия опыта и стандарта против контрольной пробы, кювета – 0,5 см			

РЕЗУЛЬТАТ: E_{ст} = ; E_{оп} = ; C_{ст} = 5,55 ммоль/л

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ получают по формуле:

$$C_{оп} = \frac{C_{ст} \times E_{оп}}{E_{ст}} = \quad \text{ммоль/л.}$$

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание глюкозы в крови у взрослых составляет **3,3-6,4 ммоль/л.**

Содержание глюкозы в крови увеличивается (**гипергликемия**) при некоторых физиологических состояниях: стресс, прием углеводов с пищей; а также при патологиях: сахарный диабет, инфаркт миокарда, острый панкреатит, стенокардия, гиперфункции ряда эндокринных желез (тиреотоксикоз, глюкагонома, синдром Иценко-Кушинга, феохромоцитома).

Содержание глюкозы в крови уменьшается (**гипогликемия**) при некоторых физиологических состояниях: голодание, недостаток приема с пищей углеводов, тяжелая изнурительная физическая работа; а также при патологии: гипотиреоз, инсулинома, передозировка инсулина при лечении сахарного диабета, дефицит глюкагона, болезнь Аддисона, отравление мышьяком, четыреххлористым углеродом, фосфором, бензолом, нарушение всасывания углеводов, гликогенозы, у детей от больных диабетом матерей.

В ы в о д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 20

ТЕМА: ОБМЕН ГЛЮКОЗЫ – II

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о специфических путях обмена глюкозы. Освоить проведение теста толерантности к глюкозе.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Схема путей метаболизма пировиноградной кислоты в организме.
2. Спиртовое брожение: реакции.
3. Глюконеогенез: схема, регуляция, биологическая роль.
4. Специфические реакции глюконеогенеза. Роль биотина.
5. Метаболизм молочной кислоты. Цикл Кори, глюкозо-аланиновый цикл.
6. Пентозофосфатный путь (ПФП): последовательность реакций, биологическая роль.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Методика проведения теста толерантности к глюкозе.
2. Типы гликемических кривых.
3. Диагностическое значение теста толерантности к глюкозе.

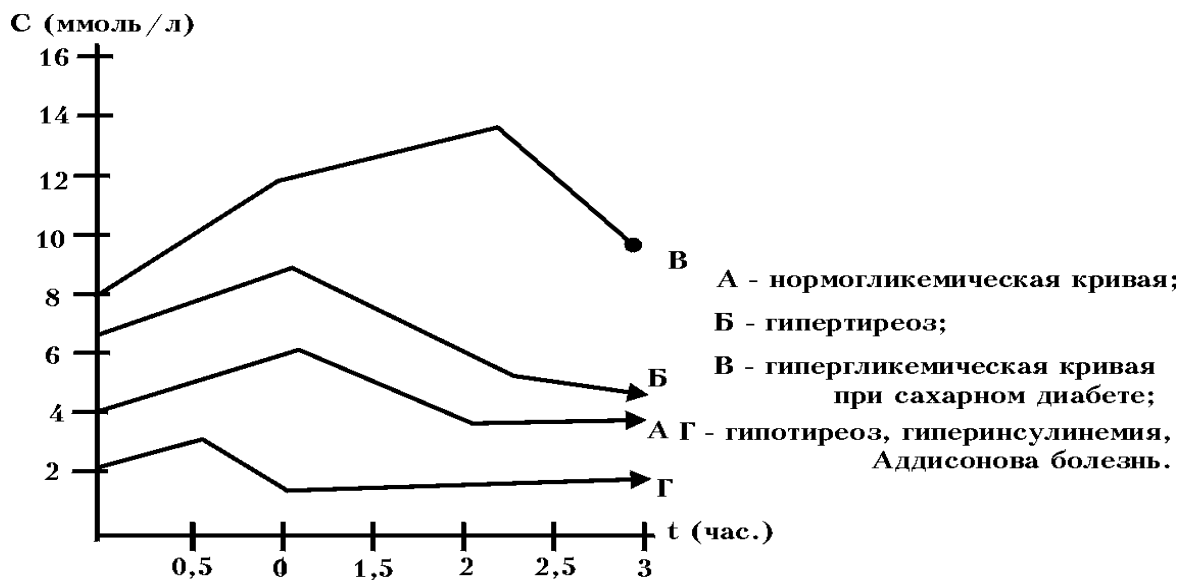
РАБОТА № 1. ТЕСТ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Тест толерантности к глюкозе (нагрузка глюкозой или сахарная нагрузка) проводят с целью углубленного исследования углеводного обмена в организме человека при подозрении на недостаточную эндокринную функцию поджелудочной железы (скрытая форма сахарного диабета) или нарушение гликогенообразовательной способности печени.

ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ: Натощак (утром, через 8-10 часов после приема пищи) забирают кровь из пальца (1-я проба). Пациент после этого (в течение 5 мин.) выпивает раствор глюкозы в 200 мл

воды, из расчета 1 г/кг массы тела (сахароза 1,5 г/кг). Через 30 мин. от времени забора первой пробы забирают 2-ю пробу и через каждые 30 мин. забирают пробы в течение 2,5 часа. На практике достаточно осуществлять следующий забор проб: натощак, затем через 30 мин., 1 час и 2 часа после нагрузки. В каждой из проб определяют концентрацию глюкозы и строят график, откладывая на оси ординат содержание глюкозы, а на оси абсцисс – время забора проб. Полученный график называется сахарная кривая.

У здоровых людей максимальное значение содержания глюкозы в крови наблюдается между 30 и 60-й минутами. В норме оно не превышает 180 мг% (9,9 ммоль/л) и к 2-м часам снижается до исходного уровня. При нарушении утилизации углеводов сахарные кривые отличаются от нормальной.



ХОД РАБОТЫ:

На лабораторных занятиях необходимо провести определение содержания глюкозы в трех пробах крови, полученных от пациентов. Первая проба – кровь, взятая натощак; вторая – через 1 час после углеводной нагрузки; третья – через 2 часа после нагрузки. Методика количественного определения глюкозы изложена в работе «Количественное определение глюкозы в крови. Энзиматический (глюкозооксидазный) метод».

По результатам определения следует построить график и определить тип сахарной кривой.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

Работа зачтена _____ Подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 21

ТЕМА: ОБМЕН ГЛИКОГЕНА, ФРУКТОЗЫ, ГАЛАКТОЗЫ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о метаболизме гликогена, фруктозы, галактозы. Освоить метод количественного определения пировиноградной кислоты в моче.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

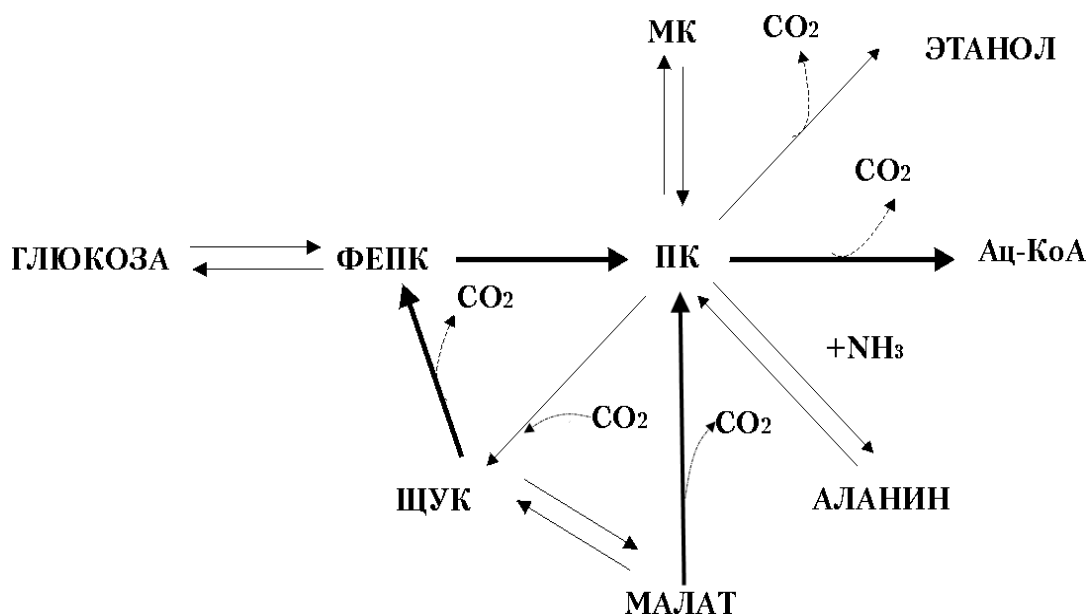
1. Строение, содержание в тканях, биологическая роль гликогена.
2. Синтез и расщепление гликогена: последовательность реакций, гормональная регуляция.
3. Регуляция гликемии (механизмы и факторы).
4. Схема метаболизм фруктозы.
5. Схема метаболизма галактозы и лактозы.
6. Путь глюкуроновой кислоты. Схема, биологическая роль.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

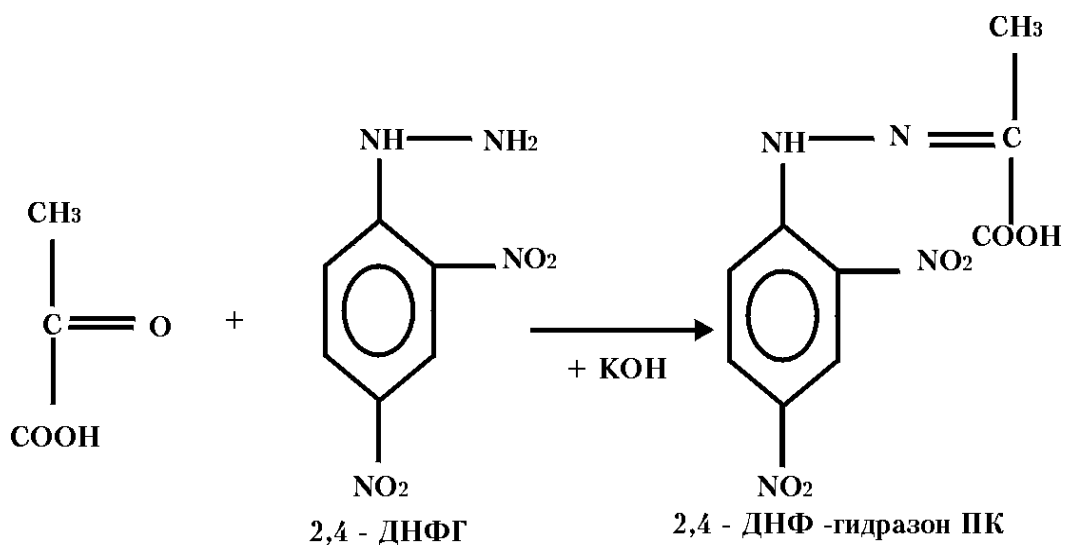
1. Схема метаболизма пирувата (ПК) в организме.
2. Принцип метода определения ПК в моче.
3. Содержание ПК в крови и суточное выделение с мочой. Диагностическое значение определения ПК в крови и моче.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Пировиноградная кислота образуется в тканях организма в значительных количествах и является важным метаболитом углеводного обмена. Пути превращения ПК представлены на схеме:



ПРИНЦИП МЕТОДА. ПК в щелочной среде реагирует с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразона ПК, имеющего коричнево-красный цвет. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации ПК.



ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки: контроль и опыт.

ПРОБА ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
Н ₂ О Моча КОН (25 % спиртовой раствор)	1,0 мл - 1,0 мл	- 1,0 мл 1,0 мл
Раствор 2,4-ДНФГ (0,1 %)	Перемешать содержимое обеих пробирок одновременно, 1 мин.	
	0,5 мл	0,5 мл
	Перемешать, инкубация 15 минут при 18°С ФЭК, λ = 470-480 нм, кювета 0,5 см Определяют экстинкцию опыта против контрольной пробы	

РЕЗУЛЬТАТ: ΔЕ =

Расчет проводят по калибровочному графику. Полученный результат (..... мкг) умножают на переводной коэффициент.

$C = \dots \cdot 11,366 =$ мкмоль/сут.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

У здоровых людей при сбалансированном пищевом рационе за сутки с мочой выделяется **114-284 мкмоль (10-25 мг) ПК**. Содержание ПК в крови в норме составляет **56,8-113,6 мкмоль/л**.

Содержание пировиноградной кислоты увеличивается в крови и моче при авитаминозе и гиповитаминозе В₁, при сахарном диабете, сердечной недостаточности, гиперфункции гипофизарно-адреналовой системы.

ВЫВОД :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 22

ТЕМА: НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания об основных патологиях метаболизма углеводов. Составить метаболическую карту обмена углеводов.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Нарушения переваривания и всасывания углеводов в ЖКТ.
2. Гипергликемии и гипогликемии – причины возникновения.
3. Нарушения углеводного обмена при сахарном диабете.
4. Врожденные патологии обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.
5. Патология обмена фруктозы, галактозы, лактозы.

Темы рефератов:

1. Гликогенозы и агликогенозы – болезни метаболизма гликогена.
2. Механизмы поддержания нормогликемии в организме человека.
3. Сахарный диабет: причины, проявления,
4. Поздние осложнения сахарного диабета.

Компьютерное тестирование по разделу «Обмен и функции углеводов».

РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту углеводного обмена, используя предложенный образец.
2. На карте отметить:
 - 2.1. Диагностически значимые субстраты (глюкоза, пируват, лактат, гликоген печени и мышц, галактоза, фруктоза).
 - 2.2. Ферменты, исследуемые с целью диагностики (глюкозо-6-фосфатаза, фруктозо-1,6-дифосфатальдолаза, ЛДГ, гликоген-фосфорилаза, глюкозо-6-ф-дегидрогеназа).
 - 2.3. Регуляторные ферменты гликолиза, метаболизма гликогена, глюконеогенеза.
 - 2.4. Витаминзависимые ферменты.
3. Решение ситуационных задач по разделу «Обмен и функции углеводов» из сборника задач и заданий «Биологическая химия».

ЗАНЯТИЕ № 23

КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН»

1. Строение, классификация, биологические функции углеводов.
2. Углеводы пищи, их переваривание и всасывание.
3. Общая схема путей метаболизм глюкозы в организме и их характеристика.
4. Фосфорилирование глюкозы, дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Регуляция.
5. Анаэробный распад глюкозы (гликолиз): последовательность реакций, энергетика, регуляция.
6. Аэробный распад глюкозы (аэробный гликолиз): последовательность реакций, энергетика, регуляция.
7. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, схема реакции, регуляция, биологическая роль.
8. Схема путей метаболизма пировиноградной кислоты в организме.
9. Спиртовое брожение: реакции.
10. Глюконеогенез: схема, регуляция, биологическая роль,.
11. Специфические реакции глюконеогенеза. Роль биотина.
12. Метаболизм молочной кислоты. Цикл Кори, глюкозо-аланиновый цикл.
13. Пентозофосфатный путь (ПФП): последовательность реакций, биологическая роль.
14. Строение, содержание в тканях, биологическая роль гликогена.
15. Синтез и расщепление гликогена: последовательность реакций, гормональная регуляция.
16. Регуляция гликемии (механизмы и факторы).
17. Схема метаболизм фруктозы.
18. Схема метаболизма галактозы и лактозы.
19. Путь глюкуроновой кислоты. Схема, биологическая роль.
20. Нарушения переваривания и всасывания углеводов в ЖКТ.
21. Гипергликемии и гипогликемии – причины возникновения.
22. Нарушения углеводного обмена при сахарном диабете.
23. Врожденные патологии обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.
24. Патология обмена фруктозы, галактозы, лактозы.
25. Диагностическое значение определения глюкозы в крови. Методы определения.
26. Тест толерантности к глюкозе, его диагностическое значение. Виды гликемических кривых.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 24

ТЕМА: ЛИПИДЫ ПИЩИ И ТКАНЕЙ. МЕТАБОЛИЗМ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о строении, функции и метаболизме жирных кислот, триацилглицеролов и кетоновых тел. Освоить методику определения триацилглицеролов в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Классификация, структура и функции основных липидов организма человека.
2. Липиды пищи, их переваривание и всасывание в желудочно-кишечном тракте. Роль жёлчных кислот.
3. Ресинтез триацилглицеролов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт.
4. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
5. β -Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.
6. Реакции образования и утилизации кетоновых тел в норме.
7. Механизмы избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.
8. Биосинтез триацилглицеролов: последовательность реакций.
9. Гормональная регуляция мобилизации триацилглицеролов (липолиза) в жировой ткани.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Принцип метода количественного определения триацилглицеролов в сыворотке крови.
2. Диагностическое значение определения триацилглицеролов.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИАЦИЛГОИЦЕРОЛОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ПРИНЦИП МЕТОДА. Освободившийся в процессе расщепления триацилглицеролов глицерол превращается в 3-фосфоглицерат под действием *глицеролкиназы*, который окисляется *глицерофосфатоксидазой* до диоксиацетонфосфата с образованием H_2O_2 . Далее H_2O_2 расщепляется *пероксидазой* на воду и атомарный кислород, который и окисляет хинониминный краситель. Оптическая плотность окрашенного соединения определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки – опыт, стандарт и контроль

Реагенты	Контроль	Стандарт	Опыт
H_2O	0,02 мл	-	-
Стандарт (2,5 ммоль/л)	-	0,02 мл	-
Сыворотка крови	-	-	0,02 мл
Рабочий реагент (буфер, смесь ферментов и краситель)	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Перемешать, инкубация в термостате 10 минут при 37° С			
ФЭК, $\lambda = 490-500$ нм, колориметрия опыта и стандарта против контрольной пробы, кювета – 0,5 см			

РЕЗУЛЬТАТ: $E_{ст} =$; $E_{оп} =$; $C_{ст} = 2,5$ ммоль/л

Конечный результат рассчитывают по формуле:

$$C_{оп} = \frac{C_{ст} \cdot E_{оп}}{E_{ст}} = \quad \text{ммоль/л.}$$

От рассчитанной концентрации ТАГ вычесть **0,11 ммоль/л** (концентрация свободного глицероло в сыворотке).

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание триацилглицеролов в сыворотке крови **0,40-1,54 ммоль/л** у женщин и **0,45-1,82 ммоль/л** у мужчин.

Гипертриглицеридемия может быть обусловлена:

- приемом жирной пищи,
- ожирением, голоданием, кровопотерями, тяжелой анемией, сахарным диабетом, панкреатитом, вирусным гепатитом, алкогольным циррозом печени, острой перемежающейся порфирией, гликогенозом I, III, IV типов.

Гипотриглицеридемия отмечается при абеталипопротеинемиях и гипобеталипопротеинемиях, что чаще всего связано с угнетением синтеза в печени **апопротеина В**.

В ы в о д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 25

ТЕМА: СИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ. МЕТАБОЛИЗМ СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о специфических путях обмена липидов. Освоить методику определения холестерина в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Синтез жирных кислот: характеристика синтазы жирных кислот.
2. Источники ацетил-КоА и НАДФН для синтеза жирных кислот. Перенос ацетил-КоА в цитоплазму.
3. Последовательность реакций синтеза пальмитиновой кислоты.
4. Биосинтез глицерофосфолипидов: последовательность реакций.
5. Метаболизм сфинголипидов и гликолипидов: схема.

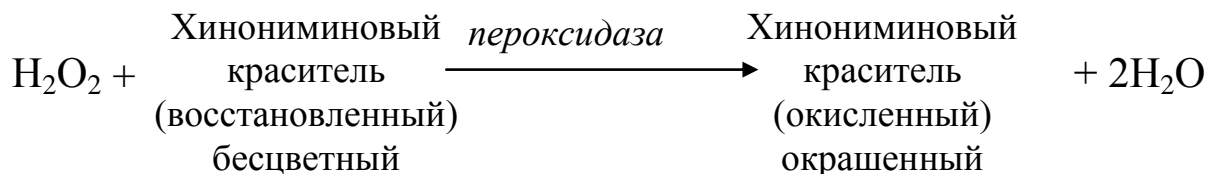
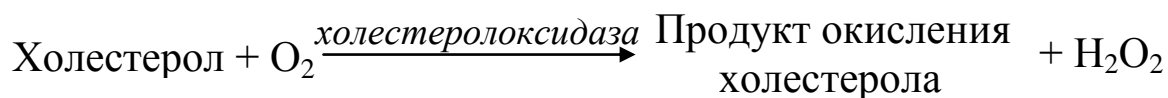
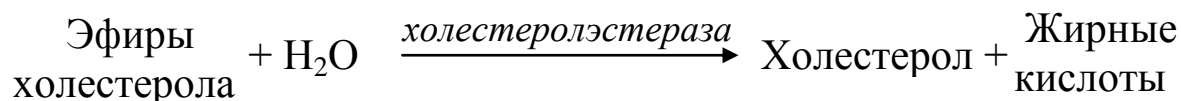
Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Гиперхолестеролемии и их причины.
2. Принцип энзиматического метода определения холестерина в сыворотке крови.
3. Диагностическое значение определения холестерина.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО ХОЛЕСТЕРИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (энзиматический метод)

В организм человека холестерол поступает с пищевыми продуктами (0,3-0,5 г) и постоянно синтезируется в печени, почках, надпочечниках, слизистой оболочке тонкого кишечника, стенке артерий, коже. Содержание холестерина в крови увеличивается при нарушении липидного обмена.

ПРИНЦИП МЕТОДА.



Интенсивность окраски красителя прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки

Проба	Контроль	Стандарт	Опыт
Отмерить			
Рабочий реактив	2 мл	2 мл	2 мл
Дист. вода	0,02 мл	-	-
Стандарт	-	0,02 мл	-
Сыворотка крови	-	-	0,02 мл

Пробы перемешать и инкубировать 15 минут при температуре 20-25⁰С или 10 минут при 37⁰С.

Фотометрия против контроля при $\lambda = 490-520$ нм, кювета 0,5 см.

РЕЗУЛЬТАТ: $E_o =$ $E_{ст} =$
 $C_{ст} = 5,17$ ммоль/л

РАСЧЁТ: $C_{оп} = \frac{E_{оп} \times 5,17}{E_{ст}} =$ ммоль/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Содержание общего холестерина в крови у взрослых составляет **3,6-5,2 ммоль/л**.

Повышение концентрации холестерина в крови (**гиперхолестеролемиа**) наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, механической желтухе, нефрозе, гипотиреозе, гиперлипопротеинемии II-IV типа.

Понижение холестерина в крови (**гипохолестеролемиа**) наблюдается при гипертиреозе, голодании, анемии, туберкулезе, раковой кахексии, лихорадочных состояниях, паренхиматозной желтухе, циррозе печени.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 26

ТЕМА: ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ. ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о метаболизме стероидов и липопротеинов в организме. Освоить методику определения ЛПНП в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Липопротеины крови: представители, характеристика, функции.
2. Метаболизм ЛПОНП и ЛПНП.
3. Метаболизм ЛПВП.
4. Метаболизм холестерина в организме.
5. Схема синтеза холестерина, этапы, регуляция.
6. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Липопротеины сыворотки крови, их функции.
2. Диагностическое значение определения липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ (ЛПНП) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. ЛПНП (β -липопротеины) содержат в своем составе ~ 100 белков, (основной – Апо В100), полиненасыщенные ЖК, ТГ, фосфолипиды и эстерифицированный и неэстерифицированный холестерол. Количество ЛПНП изменяется при нарушении метаболизма липопротеинов в организме (см. гиперлипопротеинемии).

ПРИНЦИП МЕТОДА. ЛПНП образуют с гепарином комплекс, который при добавлении хлорида кальция выпадает в осадок. Степень помутнения раствора пропорциональна содержанию ЛПНП в сыворотке крови и определяется нефелометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять одну пробирку. Добавить:

Раствор CaCl ₂ 0,27%	2 мл
Сыворотка крови	0,2 мл
Перемешать.	
ФЭК, $\lambda = 630$ нм, кювета 5 мм, определить E ₁ против H ₂ O.	
Перелить раствор в пробирку. Добавить:	
Гепарин, 1%	0,04 мл
Перемешать.	
Инкубация 4 минуты.	
Определить в тех же условиях E ₂ против H ₂ O.	

РЕЗУЛЬТАТ: E₁ = ;
E₂ = .

РАСЧЕТ: концентрация ЛПНП = (E₂ – E₁) • 10 = г/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ:

Нормальное содержание ЛПНП в сыворотке крови: **2-4 г/л.**

Увеличение концентрации ЛПНП наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, гипотиреозе, механической желтухе, острых гепатитах, хронических заболеваниях печени, ожирении, гиперкортицизме, гиперлипопротеинемии IIa, IIb, и III типа.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 27

ТЕМА: НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ЛИПИДОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать и закрепить знания о нарушениях липидного обмена. Составить метаболическую карту обмена липидов.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Нарушение переваривания и всасывания липидов пищи.
2. Дислиппротеинемии: гипер- и гиполиппротеинемии.
3. Биохимия атеросклероза. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
4. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.
5. Нарушения метаболизма липидов при ожирении.
6. Нарушения обмена сфинголипидов (сфинголипидозы).

Выступления студентов с подготовленными рефератами по предложенным темам.

Компьютерное тестирование по разделу «Обмен и функции углеводов».

РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту липидного обмена, используя предложенный образец.
2. На карте отметить:
 - 2.1. Диагностически значимые субстраты (триацилглицеролы, холестерол, липопротеины, кетоновые тела).
 - 2.2. Ферменты, исследуемые с целью диагностики (липаза, липопротеинлипаза).
 - 2.3. Регуляторные ферменты β -окисления, синтеза жирных кислот и холестерола, липолиза.
 - 2.4. Витаминзависимые ферменты.
3. Решение ситуационных задач по разделу «Обмен и функции липидов» из сборника задач и заданий «Биологическая химия».

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

ЗАНЯТИЕ № 28

КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «ОБМЕН ЛИПИДОВ»

1. Классификация, структура и функции основных липидов организма человека.
2. Липиды пищи, их переваривание и всасывание в желудочно-кишечном тракте. Роль жёлчных кислот.
3. Ресинтез триацилглицеролов в клетках кишечника. Образование хиломикроннов, их состав и транспорт.
4. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
5. β -Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.
6. Реакции образования и утилизации кетоновых тел в норме.
7. Механизмы избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.
8. Биосинтез триацилглицеролов: последовательность реакций.
9. Гормональная регуляция мобилизации триацилглицеролов (липолиза) в жировой ткани.
10. Синтез жирных кислот: характеристика синтазы жирных кислот.
11. Источники ацетил-КоА и НАДФН для синтеза жирных кислот. Перенос ацетил-КоА в цитоплазму.
12. Последовательность реакций синтеза пальмитиновой кислоты.
13. Биосинтез глицерофосфолипидов: последовательность реакций.
14. Метаболизм сфинголипидов и гликолипидов: схема.
15. Липопротеины крови: представители, характеристика, функции.
16. Метаболизм ЛПОНП и ЛПНП.
17. Метаболизм ЛПВП.
18. Метаболизм холестерина в организме.
19. Схема синтеза холестерина, этапы, регуляция.
20. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции.
21. Нарушение переваривания и всасывания липидов пищи.
22. Дислипидопроteinемии: гипер- и гиполipoproteinемии.

23. Биохимия атеросклероза. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
24. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.
25. Нарушения метаболизма липидов при ожирении.
26. Нарушения обмена сфинголипидов (сфинголипидозы).
27. Основные липидные компоненты плазмы крови, их клинико-диагностическое значение.

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 29

ТЕМА: МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о роли гормонов в регуляции метаболизма и биологических процессов в организме. Освоить качественную реакцию определения адреналина.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Гормоны: классификация, свойства, типы биологического действия.
2. Механизм действия гормонов, не проникающих в клетку. Вторичные посредники
3. Механизм действия гормонов, проникающих в клетку (стероиды и тироксин).
4. Тироксин и трийодтиронин: строение, ткани-мишени, биологическое действие. Их гипер- и гипопродукция.
5. Паратгормон и кальцитонин: строение, ткани-мишени, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция паратгормона.
6. Инсулин и глюкагон: строение, ткани-мишени, влияние на обмен веществ. Сахарный диабет, гиперинсулинизм.
7. Адреналин и норадреналин: строение, ткани-мишени, влияние на обмен веществ и функции. Феохромоцитома.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Синтез адреналина в тканях.
2. Биологическая роль адреналина.
3. Сущность метода качественного обнаружения адреналина.
4. Использование определения адреналина и конечных продуктов его распада для диагностики.

РАБОТА. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА АДРЕНАЛИН

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. В мозговом слое надпочечников из аминокислоты тирозина синтезируются катехоламины. Адреналин и норадреналин способствуют распаду гликогена, стимулируют фосфоорилазную активность в печени, мышцах, надпочечниках.

ПРИНЦИП МЕТОДА. В молекулу адреналина и норадреналина входит пирокатехиновое кольцо. При его взаимодействии с хлорным железом наблюдается зеленое окрашивание. При добавлении NaOH – вишнево-красное окрашивание.

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки: контроль и опыт.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
H ₂ O дист.	10 капель	-
Раствор адреналина	-	10 капель
FeCl ₃	1 капля	1 капля
	Окрашивание слабо-желтое за счет FeCl ₃	Наблюдается зеленое окрашивание
NaOH, 10%	3 капли	3 капли
	Окраска не изменилась	Наблюдается красно-коричневое окрашивание

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ:

Нормальное содержание адреналина в крови – до **6,28 нмоль/л**, в моче **27,3-81,9 нмоль/сут**.

Увеличение экскреции адреналина отмечается при феохромоцитоме, гипертонической болезни (в период кризов), в острый период инфаркта миокарда, при гепатитах и циррозах печени, обострении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а также под влиянием курения, физической нагрузки и эмоционального стресса.

Экскреция адреналина с мочой снижена при аддисоновой болезни, коллагенозах, острых лейкозах, остро протекающих инфекционных заболеваниях.

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 30

ТЕМА: ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА МЕТАБОЛИЗМ. ЭНДОКРИНОПАТИИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о роли гормонов в регуляции метаболизма и биологических процессов в организме.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Глюкокортикоиды: строение кортизола, ткани-мишени, регуляция обмена веществ, биологическое действие, гипер- и гипопродукция.
2. Минералокортикоиды: строение альдостерона, ткани-мишени, биологическое действие, гипер- и гипопродукция.
3. Половые гормоны: строение тестостерона, эстрадиола и прогестерона, ткани-мишени, влияние на обмен веществ и функции, гипер- и гипопродукция.
4. Система гипоталамус-гипофиз в регуляции эндокринных желез: либерины, статины, тропные гормоны.
5. Соматотропин, кортикотропин: ткани-мишени, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция соматотропина.
6. Гормоны задней доли гипофиза. Биологическое действие.
7. Простагландины, тромбоксаны, лейкотриены: строение, роль в регуляции обмена веществ и биологических функций.
8. Применение гормонов в медицинской практике.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ГОРМОНЫ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить рабочую таблицу, в которой суммировать сведения, характеризующие важнейшие гормоны организма: тироксин, инсулин, глюкагон, глюкокортикоиды, минералокортикоиды, адреналин, паратгормон, кальцитонин, женские и мужские половые гормоны, соматотропный гормон, адренотропный гормон.

Таблица – Характеристика основных гормонов

Гормон	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани-мишени

Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

Таблица – Характеристика основных гормонов

Гормон	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани-мишени

Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

2. Выступления студентов с подготовленными рефератами по предложенным темам.

Темы рефератов:

1. Гормоны и нарушения роста.
2. Ожирение при гормональных нарушениях.
3. Анаболические стероиды: влияние на организм.
4. Влияние гормонов на костную ткань и гомеостаз кальция.
5. Применение гормонов в медицине.
6. Биологические эффекты и клиническое применение эйкозаноидов.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 31

ТЕМА: БИОХИМИЯ ВОСПАЛЕНИЯ И КАНЦЕРОГЕНЕЗА

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о молекулярных аспектах воспаления и канцерогенеза.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Стадии воспаления. Метаболические изменения в зоне альтерации.
2. Клетки воспаления
3. Медиаторы воспаления.
4. Белки острой фазы.
5. Основные факторы канцерогенеза (физические, химические, вирусные).
6. Основные механизмы канцерогенеза. Концепция онкогенов.
7. Метаболические особенности опухолевых клеток.

Выступления студентов с подготовленными рефератами по предложенным темам.

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 32

ТЕМА: БИОХИМИЯ КРОВИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о биохимии крови. Освоить количественные методы определения гемоглобина и кальция в крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Кровь, общая характеристика, функции крови.
2. Особенности метаболизма в форменных элементах крови.
3. Гемоглобин человека, строение, производные гемоглобина, варианты в онтогенезе.
4. Участие гемоглобина в транспорте кислорода и углекислого газа кровью. Гипоксии.
5. Обмен железа. Нарушения обмена железа: железодефицитные анемии.
6. Общая характеристика белковых компонентов плазмы (альбумины, глобулины, белки системы комплемента).
7. Свертывание крови: факторы, схема. Внутренняя и внешняя системы коагуляционного механизма.
8. Противосвертывающая и фибринолитическая система крови. Представление о гемофилиях и тромбозах.
9. Биохимический анализ крови, основные показатели, значение в клинико-лабораторной диагностике.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Биологическая роль гемоглобина в организме человека.
2. Биологическая роль кальция в организме человека.
3. Принцип метода определения гемоглобина в крови.
4. Принцип метода определения кальция в сыворотке крови.
5. Диагностическое значение определения гемоглобина и кальция в крови.

РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА ГЕМОГЛОБИНЦИАНИДНЫМ МЕТОДОМ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Содержание гемоглобина и эритроцитов крови изменяется под влиянием различных физиологических, патологических факторов и при назначении лекарств. В этой связи определение гемоглобина в крови имеет важное значение для диагностики различных заболеваний.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Гемоглобин окисляется железосинеродистым калием в гемиглобин. Далее гемиглобин взаимодействует с ацетонциангидрином. Образующийся при этом окрашенный гемиглобинцианид определяют фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять 1 пробирку.

Отмерить	Проба	Опыт
	Рабочий реактив	5,0 мл
	Кровь	0,02 мл

Перемешать и через 10 мин. измерить оптическую плотность раствора против контроля (рабочий реактив) при λ 540 нм, кювета 1,0 см.

РЕЗУЛЬТАТ: $E_0 =$

Концентрацию гемоглобина в г/л рассчитывают по формуле:

$$C_0 = E_0 \cdot 392 = \quad \text{г/л}$$

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Концентрация гемоглобина в крови взрослого человека составляет **130-160 г/л** у мужчин и **115-145 г/л** у женщин.

Повышение концентрации гемоглобина возникает при потере жидкости (происходит сгущение крови), тканевой гипоксии (заболевания легких, сердечно-сосудистая недостаточность, ус-

ловия высокогорья), при язвенной болезни, у новорожденных в первые часы жизни.

Снижение концентрации гемоглобина наблюдается при анемии, наследственных и гемолитических гемоглобинопатиях, дефиците витаминов В₁₂, Е, фолиевой кислоты.

В ы в о д:

РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Кальций является составным компонентом костной ткани, участвует в функционировании свёртывающей системы крови, в мышечном сокращении, в проведении нервного импульса, как вторичный посредник в реализации гормонального сигнала внутри клетки-мишени.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Кальций в щелочной среде с глиоксальбис(2-гидроксианилом) (ГБОА) образует окрашенное соединение. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации кальция в сыворотке крови и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки.

	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Сыворотка крови, мл	-	-	0,02
Са стандарт, мл	-	0,02	-
Н ₂ О дист., мл	0,02		
Рабочий реагент Са, мл	2	2	2

Перемешать, инкубация 5 мин. Измерить оптическую плотность опыта и стандарта относительно контроля при $\lambda = 574$ нм, кювета 0,5 см

Стандарт кальция = 2,5 ммоль/л.

РЕЗУЛЬТАТ: $E_0 =$
 $E_{ст} =$

РАСЧЁТЫ: $C_0 = \frac{E_0}{E_{ст}} \cdot 2,5 =$ ммоль/л

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Содержание кальция в сыворотке крови составляет в норме **2,25-2,75 ммоль/л.**

Физиологическая **гиперкальцимия** бывает у новорожденных, у недоношенных, а также у некоторых лиц после принятия пищи.

Патологическая **гиперкальцимия** наблюдается при гиперпаратиреозе (мобилизация ионов кальция из костей), акромегалии, злокачественных опухолях с поражением костей, миеломной болезни, саркоидозе, тиреотоксикозе, раке легкого, почки, поджелудочной железы, печени.

Гипокальцимия отмечается при дефиците витамина Д, гипопаратиреозе, хронической почечной недостаточности, нефротическом синдроме, циррозе печени, остром панкреатите.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 33

ТЕМА: БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о роли печени в обмене углеводов, липидов, аминокислот, билирубина, причинах гипербилирубинемии. Освоить количественный метод определения билирубина в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Роль печени в обмене углеводов, липидов, аминокислот. Синтез белков плазмы в печени.
2. Обезвреживающая функция печени: обезвреживание токсических веществ путём защитных синтезов, микросомальным окислением, ацетилированием, конъюгацией с глюкуроновой и серной кислотами.
3. Реакции синтеза гема, субстраты, ферменты.
4. Роль печени в пигментном обмене. Обмен билирубина в норме.
5. Нарушения обмена билирубина. Желтухи: их виды, биохимическая диагностика.
6. Биохимические механизмы патогенеза печёночной недостаточности и печёночной комы. Биохимические методы диагностики нарушений функций печени.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Превращение гемоглобина в тканях, образование билирубина, его обезвреживание в печени, экскреция.
2. Гипербилирубинемия, её причины.
3. Принцип метода количественного определения прямого и непрямого билирубина в сыворотке крови.

РАБОТА. КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИЛИРУБИНА (ПО МЕТОДУ ЙЕНДРАШИКА)

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. При разрушении эритроцитов (у человека через 100-120 дней) в клетках ретикулоэндотелиальной системы костного мозга, селезенки, печени

происходит распад гемоглобина. Конечным продуктом распада гема является непрямой билирубин, который поступает в кровь и транспортируется альбуминами в печень, где происходит его обезвреживание с образованием прямого билирубина.

В сыворотке крови имеется два вида билирубина. Основная форма – это непрямой (свободный) билирубин, который не связан с глюкуроновой кислотой и дает непрямую диазореакцию. В крови содержится незначительное количество прямого (связанного) билирубина – этот билирубин связан с глюкуронатом и дает прямую диазореакцию. Сумма обоих пигментов дает общий билирубин.

Нарушение обмена билирубина сопровождается развитием желтухи. В связи с этим раздельное количественное определение общего, прямого и непрямого билирубина в сыворотке крови имеет значение для дифференциальной диагностики различных типов желтух.

ПРИНЦИП МЕТОДА: Диазореактив дает с прямым билирубином розовое окрашивание. Непрямой билирубин переводят в растворимое состояние добавлением к сыворотке кофеинового реактива, после этого общий билирубин определяется диазореакцией. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации билирубина в пробе.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки.

	Объём, мл		
	Контроль	Общий билирубин	Прямой билирубин
Сыворотка	0,50	0,50	0,50
Кофеиновый реактив	1,75	1,75	–
0,9% NaCl	0,25	–	1,75
Диазореактив	–	0,25	0,25

Содержимое пробирок перемешать.

Инкубация при комнатной температуре:

ОБЩИЙ БИЛИРУБИН – колориметрирование через 20 минут (после внесения диазореактива).

ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН – колориметрирование через 10 минут (после внесения диазореактива).

Длина волны 500-600 нм, кювета 0,5 см.

РЕЗУЛЬТАТ:

1. Концентрацию общего билирубина рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{общ. билирубина}} = E_{\text{об}} \cdot 222,3 \text{ мкмоль/л} =$$

2. Концентрацию прямого билирубина рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{прям. билирубина}} = E_{\text{пр}} \cdot 222,3 \text{ мкмоль/л} =$$

Исходя из того, что общий билирубин = прямой билирубин + непрямой билирубин, находят концентрацию непрямого билирубина по формуле:

$$C_{\text{непрям. билирубина}} = C_{\text{общ. билирубина}} - C_{\text{прям. билирубина}} =$$

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание

- общего билирубина в сыворотке крови: **5,0-20,5 мкмоль/л;**
- связанного билирубина (прямого) – **1,0-7,5 мкмоль/л;**

Повышенное содержание общего билирубина в сыворотке крови отмечается при желтухе новорожденных, повреждении гепатоцитов (воспалительном, токсическом), закупорке желчных протоков, гемолитической болезни.

При **паренхиматозной** желтухе:

- в крови повышается содержание прямого и непрямого билирубина;
- в моче появляется прямой билирубин и уробилиноген.

При **обтурационной** (механической) желтухе:

- в крови повышается содержание прямого билирубина;
- в моче появляется прямой билирубин (темная моча);
- уменьшается выделение стеркобилина (бесцветный кал).

При **гемолитической** желтухе:

- в крови повышается содержание непрямого билирубина;
- в моче повышается содержание стеркобилиногена;
- увеличивается выделение стеркобилина (темный кал).

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 34

ТЕМА: БИОХИМИЯ ПОЧЕК И МОЧИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о водно-минеральном обмене и особенностях метаболизма в почечной ткани. Освоить практические приемы качественного и количественного определения патологических компонентов в моче. Освоить использование экспресс-методов в биохимических исследованиях.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Особенности метаболизма в почечной ткани.
2. Роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия.
3. Вода, биологическая роль в организме. Обмен воды.
4. Электролитный состав биологических жидкостей организма человека.
5. Механизмы регуляции объема, электролитного состава, рН жидкостей организма.
6. Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия: обезвоживание, отеки, ацидоз, алкалоз.
7. Минеральные компоненты тканей, классификация, представители, биологическая роль.
8. Натрий, калий: биологическая роль, обмен и его регуляция.
9. Кальций, фосфор, биологическая роль, обмен и его регуляция.
10. Микроэлементы: железо, медь, кобальт, йод, цинк, марганец, селен. Их биологическая роль

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Основные показатели анализа мочи в норме.
2. Патологические компоненты мочи (белок, глюкоза, кровяные пигменты, кетоновые тела, желчные пигменты), причины их появления, диагностическое значение их определения.
3. Принципы методов обнаружения патологических компонентов в моче.

4. Диагностическое значение биохимического анализа мочи (на примере: мочевины, мочевой кислоты, креатинина, пировиноградной кислоты, витамина С, диастазы).

РАБОТА. БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЧИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. К компонентам мочи, которые у здорового человека не обнаруживаются обычными качественными реакциями, относятся: белок, сахар, кетоновые тела, желчные пигменты, кровь. Они появляются в моче при нарушениях обмена веществ или нарушении функции органов. Поэтому их определение в моче используют для диагностики заболеваний и контроля за ходом лечения.

1. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА БЕЛОК

ПРИНЦИП МЕТОДА: с помощью азотной (или сульфосалициловой) кислоты при наличии белка в моче образуется белый осадок (денатурированный белок).

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки – контроль и опыт.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	О П Ы Т
М О Ч А	-	1,0 мл
Н ₂ О	1,0 мл	-
Сульфосалицилат 20% (или наслоение на концентрированную азотную кислоту – ННО ₃)	3 капли	3 капли

РЕЗУЛЬТАТ:

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Белок появляется в моче при нефрите, сердечной декомпенсации, воспалении мочевыводящих путей (цистите), повышении артериального давления, иногда при беременности, нефрозах.

В ы в о д:

2. ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА

ПРИНЦИП МЕТОДА: метод основан на реакции Геллера с концентрированной азотной кислотой. Путем последовательного разведения мочи достигают такого максимального разведения, при котором еще появляется кольцо между 2 и 3-й минутой.

ХОД РАБОТЫ:

1) отмерить в 4 пробирки по 1 мл HNO_3 ;

2) в других 4-х пробирках приготовить разведения мочи по схеме:

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ 1	ОПЫТ 2	ОПЫТ 3	ОПЫТ 4 и т.д.
Разведение	неразвед.	1 : 10	1 : 20	1 : 30
Моча	1,0 мл	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл
H_2O	-	0,9 мл	1,9 мл	2,9 мл
Наслоить с помощью пипетки разведенную мочу (1мл) на азотную кислоту				
HNO_3 конц.	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл

РЕЗУЛЬТАТ:

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: Умножают разведение на 0,033, получают содержание белка в моче в г/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ: то же, что и в работе Качественная реакция на белок.

В ы в о д:

3. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В МОЧЕ (проба Гайнеса)

ПРИНЦИП МЕТОДА: метод основан на способности глюкозы восстанавливать при нагревании в щелочной среде гидроксид меди в оксид меди красного цвета.

ХОД РАБОТЫ: взять пробирку: опыт

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ
Реактив Гайнеса	9 капель
Моча	2 капли

Перемешать, нагреть до начала кипения.

РЕЗУЛЬТАТ:

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Присутствие глюкозы в моче – глюкозурия – наблюдается при сахарном диабете, при поражении почек, отравлении оксидом углерода, эфиром, хлороформом и т.д.

В ы в о д:

4. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА КРОВЯНЫЕ ПИГМЕНТЫ (Бензидиновая проба)

ПРИНЦИП МЕТОДА: Бензидиновая проба основана на окислении бензидина атомарным кислородом, который образуется при разложении перекиси водорода кровяным пигментом – гемоглобином, оказывающим пероксидазное действие.

ХОД РАБОТЫ: В пробирку наливают 20 капель мочи, доводят ее до кипения и затем охлаждают. К охлажденной моче добавляют 20 капель раствора бензидина в уксусной кислоте и 2 капли перекиси водорода. При наличии кровяных пигментов моча окрашивается в синий или зеленый цвет.

РЕЗУЛЬТАТ:

В ы в о д:

5. ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 35

ТЕМА: БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ, МЫШЕЧНОЙ И СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания об основных особенностях биохимических процессов в нервной, мышечной и соединительных тканях.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Химический состав нервной ткани. Миелиновые мембраны: особенности состава и структуры.
2. Особенности метаболизма углеводов, липидов и аминокислот в нервной ткани. Энергетический обмен в головном мозге.
3. Молекулярные механизмы синаптической передачи.
4. Медиаторы, биогенные амины, активные пептиды мозга.
5. Особенности строения и состава мышечной ткани. Миофибриллярные и саркоплазматические белки мышц, характеристика, функции.
6. Биохимические механизмы сокращения и расслабления мышц. Роль ионов в регуляции мышечного сокращения.
7. Особенности энергетического обмена в мышцах. Креатинфосфокиназа, её изоферменты.
8. Особенности метаболизма в соединительной ткани. Химический состав межклеточного вещества. Коллаген, эластин – особенности обмена.
9. Протеогликаны, глюкозаминогликаны, гликопротеины, особенности синтеза и распада, роль в организме.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Содержание общего белка в спинномозговой жидкости в норме.
2. Значение определения общего белка в спинномозговой жидкости для диагностики болезней.
3. Принцип химического механизма метода определения общего белка в спинномозговой жидкости.

РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА В СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Содержание белка в спинномозговой жидкости (СМЖ), в отличие от сыворотки крови, незначительно. Определение общего белка в спинномозговой жидкости имеет важное значение для диагностики опухолей мозга и воспалительных заболеваний центральной нервной системы.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Раствор белка в щелочной среде в присутствии сульфата меди ($\text{NaOH}/\text{CuSO}_4$) окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации белка в растворе и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять опытную и контрольную пробирки.

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
РЕАКТИВ ГОРНАЛА	4,0 мл	4,0 мл
NaCl 0,9%	0,1 мл	-
СМЖ	-	0,1 мл
Перемешать, фотометрия через 20 минут. Кювета – 1 см, $\lambda=540$ нм		

РЕЗУЛЬТАТ:

$E_{оп} =$

Конечный результат: определяют по калибровочному графику:

$C_{общего\ белка} =$

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание общего белка в спинномозговой жидкости – **0,22-0,33 г/л**.

Гиперпротеинрагия – увеличение уровня белка в СМЖ наблюдается при менингитах (серозный и гнойный), опухолях головного мозга, полиомиелите, арахноидите, кровоизлияниях в мозг, абсцессах мозга, рассеянном склерозе.

Гипопротеинрагия – снижение уровня белка в СМЖ отмечается при гидроцефалии, гиперсекреции ликвора, доброкачественной внутричерепной гипертензии.

В Ы В О Д :

Работа зачтена _____ подпись преподавателя

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 36

ТЕМА: ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА. ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ. ИТОГОВОЕ КОМПЬЮТЕРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ.

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать представление о взаимосвязи и интеграции метаболизма, о подходах к лабораторной диагностике.

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать представление о взаимосвязи и интеграции метаболизма, о подходах к лабораторной диагностике.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Основные механизмы регуляции метаболизма: регуляция с участием мембран, циклических нуклеотидов, изменение количества ферментов, регуляция активности ферментов, гормональная регуляция.
2. Взаимосвязь метаболизма: общие промежуточные продукты различных метаболических путей.
3. Энергетические взаимосвязи между катаболическими и анаболическими путями.
4. Примеры метаболических нарушений: сахарный диабет, ожирение, голодание.
5. Предмет и задачи клинической биохимии.
7. Основные и специальные биохимические исследования.
8. Порядок проведения и трактовка результатов биохимических исследований в клинике.

Итоговое компьютерное тестирование.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ОСНОВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ВЗРОСЛЫХ

Показатель	Значение
<i>КРОВЬ</i>	
Аланинаминотрансфераза (АлАТ)	5–42 Ед/л
Альбумин	33–53 г/л
Амилаза	до 90 Ед/л
Аспартатаминотрансфераза (АсАТ)	5–37 Ед/л
Белок общий	65–85 г/л
Билирубин общий	5,0-20,5 мкмоль/л
Билирубин связанный (прямой)	1,0–7,5 мкмоль/л
Гаммаглутамилтранспептидаза (ГГТП)	11–50 Ед/л
Гемоглобин	115–145 г/л (женщины) 130–160 г/л (мужчины)
Гемоглобин гликозилированный	До 6,5%
Глюкоза (сыворотка)	3,3–6,4 ммоль/л
Глюкоза (капиллярная)	3,3–5,55 ммоль/л
Железо	8,9–31,0 мкмоль/л
Калий	3,2–5,6 ммоль/л
Кальций	2,25–2,75 ммоль/л
Креатинин	53–115 мкмоль/л
Креатинкиназа	25–200 Ед/л
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)	174–516 Ед/л
Магний	0,8–1,0 ммоль/л
Медь	4,4–12,6 ммоль/л (женщины) 11–24 ммоль/л (мужчины)
Мочевая кислота	140–340 мкмоль/л у женщин 200–415 мкмоль/л у мужчин
Мочевина	2,5–8,3 ммоль/л
Натрий	130–155 ммоль/л

С-реактивный белок	0–10 мг/л
Трансферрин	1,74–3,82 г/л
Триглицериды	0,4–1,54 мкмоль /л у женщин 0,45–1,82 мкмоль /л у мужчин
Фибриноген	2–4 г/л
Фосфор	0,8–1,6 ммоль/л
Хлориды	95–110 ммоль/л
Холестерол	3,6–5,2 ммоль/л
ЛПНП	2-4 г/л
Церулоплазмин	150–600мг/л
Щелочная фосфатаза	18–306 Ед/л
<i>МОЧА</i>	
Амилаза	28–160 г/ч•л
Мочевая кислота	1,6–6,4 ммоль/сут
Мочевина	333–583 ммоль/сут
<i>СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ</i>	
Белок	0,22–0,33 г/л
Глюкоза	2,5–3,89 ммоль/л
Хлориды	120–130 ммоль/л

ЛИТЕРАТУРА

1. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.
2. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – М.: Высшая школа, 1988. – 239 с.
3. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
4. Справочник врача общей практики: в 2 т. / под ред. В.С. Казакова. – Мн.: Высшая школа, 1995. – 624 с.
5. Камышников В.С. О чем говорят медицинские анализы: Справочное пособие. – Мн.: Беларуская навука, 1997. – 189 с.
6. Чиркин А.А. Практикум по биохимии. – Мн.: Новое знание, 2002. – 512 с.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Аденозиндифосфат – рибонуклеозид-5'-дифосфат, выполняющий роль акцептора фосфатной группы в энергетическом цикле клетки.

Аденозинтрифосфат – рибонуклеозид-5'-трифосфат, участвующий в энергетическом цикле клетки в качестве донора фосфатной группы.

Активация аминокислоты – АТФ-зависимое ферментативное образование эфирной связи между карбоксильной группой аминокислоты и 3'-гидроксильной группой соответствующей ей тРНК.

Активный транспорт – требующий энергии перенос растворенного вещества через мембрану в направлении более высокой его концентрации.

Активный центр – участок поверхности фермента, в котором молекула субстрата связывается и претерпевает превращения.

Актин – белок, из которого состоят тонкие нити мышечных клеток.

Алкалоз – метаболические условия, при которых буферная емкость тела по отношению к ионам OH^- уменьшается; обычно алкалоз сопровождается повышением рН крови.

Аллостерические ферменты – регуляторные ферменты, каталитическая активность которых меняется при нековалентном связывании специфического метаболита не в каталитическом центре, а в другом участке.

Аллостерический центр – специфический участок на поверхности молекулы аллостерического фермента (отличный от активного центра), с которым связывается молекула модулятора или эффектора.

Аминоацил-тРНК – синтетаза – фермент, катализирующий образование аминоацил-тРНК за счет энергии АТФ.

Аминокислоты – карбоновые кислоты с аминогруппой в α -положении.

Аминотрансферазы – группа ферментов, катализирующих перенос аминогрупп от α -аминокислот к α -кетокислотам; их называют также трансаминазами.

Амфиболический путь – метаболический путь, используемый как для катаболизма, так и для анаболизма.

Анаболизм – фаза промежуточного метаболизма, связанная с требующим затрат энергии биосинтезом компонентов клеток из молекул-предшественников.

Антикодон – специфическая последовательность из трех нуклеотидов в тРНК, комплементарная кодону для аминокислоты в мРНК.

Аполипопротеин – белковая часть липопротеина.

Апопротеин – часть белка без простетической группы, необходимой для формирования активного холофермента.

Апоптоз – запрограммированная гибель клеток, выполнивших свою функцию, и клеток с поврежденным геномом.

АТФаза – фермент, гидролизующий распад АТФ до АДФ и фосфата; его действие обычно сопряжено с процессами, требующими затрат энергии.

АТФ-синтетаза – ферментный комплекс, синтезирующий АТФ из АДФ и фосфата в ходе окислительного фосфорилирования на внутренней мембране митохондрий.

Ацидоз – метаболические условия, при которых буферная емкость жидкостей организма по отношению к ионам H^+ уменьшается; обычно ацидоз сопровождается понижением рН крови.

Белки острой фазы – белки плазмы крови, связанные с воспалением, например С-реактивный белок, α_1 -антитрипсин, фибриноген, церулоплазмин, компоненты комплемента С9 и фактор В.

Белок G (протеин G) – внутриклеточные, связанные с клеточной мембраной белки, передающие сигнал на клеточные эффекторы.

Белок – полимер, состоящий из одной или нескольких полипептидных цепей, для каждой из которых характерны определенная аминокислотная последовательность и определенная молекулярная масса.

Библиотека генов – набор фрагментов ДНК, содержащий всю генетическую информацию данного вида.

Билирубин – желчный пигмент, продукт восстановления биливердина, образуется в результате катаболизма гема.

- **непрямой (неконъюгированный, несвязанный) б.** – фракция сывороточного билирубина, не соединяющаяся в клетках печени с глюкуроновой кислотой (реагирует с диазореактивом Эрлиха только после добавления этилового спирта).

- **прямой (связанный, конъюгированный) б.** – фракция сывороточного билирубина, соединяющаяся в клетках печени с глюкуроновой кислотой с образованием диглюкуронида билирубина (напрямую реагирует с диазореактивом Эрлиха).

Биополимеры – высокомолекулярные соединения биологического происхождения, молекулы которых состоят из мономеров (белки, нуклеиновые кислоты и полисахариды).

Брадикинин – нанопептид, один из кининов плазмы – потенциальный вазодилататор.

Вектор – автономно реплицирующаяся в клетке-хозяине молекула ДНК, к которой можно присоединить фрагмент ДНК, чтобы обеспечить его репликацию; например, плаزمид или ДНК умеренного фага.

Взаимодействие аллостерическое – изменение активности фермента путем изменения его конформации, осуществляемое в результате неконкурентного связывания какого-либо агента (не служащего субстратом) в участке (аллостерический участок), отличающемся от активного центра фермента.

Витамин – органическое вещество, которое должно присутствовать в пище в следовых количествах; большинство витаминов представляет собой составную часть определенных коферментов.

Водородная связь – слабое электростатическое притяжение между электроотрицательным атомом и атомом водорода.

Восстановительный эквивалент. Общий термин для электрона или для его эквивалента в форме атома водорода или иона водорода.

Восстановление – приобретение соединением электронов.

Вторичная структура белка – пространственная конформация полипептидной цепи.

Вырожденный код – код, в котором один элемент на каком-то одном языке кодируется несколькими элементами на другом языке.

Высокоэнергетическое соединение – соединение, гидролиз которого в стандартных условиях сопровождается значительным уменьшением свободной энергии.

Гель-фильтрация – хроматографическая процедура для разделения смеси молекул по размеру, основанная на способности пористых полимеров исключать (т.е. не пропускать сквозь поры) растворенные молекулы, превышающие определенный размер.

Гем – железопорфириновая простетическая группа гемопротенинов.

Гемоглобин – гемсодержащий белок эритроцитов, принимающий участие в переносе O_2 .

Гемопротенин – белок, содержащий в качестве простетической группы гем.

Ген – участок хромосомы, который кодирует одну или несколько полипептидных цепей или молекулу РНК.

Генетическая информация – наследственная информация, содержащаяся в нуклеотидной последовательности хромосомной ДНК или РНК.

Генетический код – набор кодовых слов (триплетов) в ДНК, кодирующих аминокислоты белков.

Геном – совокупность всех генов организма.

Гетеротроф – организм, который требует в качестве источника энергии и углерода сложные молекулы, такие, как глюкоза.

Гидролиз – расщепление молекулы на две или несколько меньших молекул в реакции с водой.

Гидрофобные взаимодействия – связывание полярных групп друг с другом в водных системах, обусловленное стремлением молекул окружающей воды достичь наиболее стабильного состояния.

Гиперхромный эффект – значительное увеличение поглощения света веществом при изменении его структуры. Этот эффект при 260 нм наблюдается, в частности, при денатурации двухцепочечной ДНК.

Гистоны – группа основных белков, связанных с хромосомами эукариотических клеток.

Гликолиз – тип брожения, при котором глюкоза расщепляется на две молекулы лактата (анаэробный). Аэробный распад глюкозы – катаболизм глюкозы до CO_2 и H_2O .

Глобулярный белок – растворимый белок, полипептидная цепь которого плотно свернута в пространстве с образованием глобулы.

Глюкогенные аминокислоты – аминокислоты, углеродная цепь которых может быть превращена в процессе метаболизма в глюкозу.

Глюконеогенез – биосинтез новых углеводов из неуглеводных предшественников.

Гомологичные белки – белки с одинаковой функцией и сходными свойствами у разных видов организмов, например гемоглобины.

Гормон – химическое вещество, которое синтезируется эндокринной тканью и выполняет роль посредника в регулировании функции другой ткани или органа.

ДВС – геморрагический синдром, возникающий в результате нарушения процесса регуляции активации факторов свертывания и фибринолитических ферментов.

Дегидрогеназы – ферменты, катализирующие удаление из субстрата двух атомов водорода.

Деаминация – ферментативное удаление аминогрупп из аминокислот.

Дезоксирибонуклеотиды – нуклеотиды, содержащие в качестве пентозного компонента 2-дезокси-D-рибозу.

Денатурация – частичное или полное расплетание полипептидной цепи (цепей) белка с утратой его специфической природной конформации.

Диабет сахарный – болезнь, вызванная нарушением метаболизма из-за нехватки инсулина и характеризующаяся нарушением транспорта глюкозы из крови в клетки при нормальных концентрациях глюкозы в крови.

Дисахариды – углеводы, состоящие из двух ковалентно соединенных моносахаридных единиц.

Дисульфидный мостик – ковалентная поперечная связь, образуемая между цистеиновыми остатками двух полипептидных цепей.

Дифференциальное центрифугирование – разделение клеточных органелл и т.п. за счет различий в скорости их седиментации в центрифуге.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) – полинуклеотид, обладающий специфической последовательностью дезоксирибонуклеотидных остатков и выполняющий функцию носителя генетической информации.

ДНК-лигаза – фермент, катализирующий образование фосфодиэфирной связи между 3'-концом одного фрагмента ДНК и 5'-концом другого в условиях, когда оба фрагмента комплементарно спарены с цепью-матрицей.

ДНК-полимераза – фермент, который катализирует протекающую в присутствии матрицы реакцию синтеза ДНК из предшественников - дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатов.

Домен – участок молекулы биополимера, обладающий особой конформацией и ответственный за определенную функцию.

Донор протонов – вещество, отдающее протон в кислотно-основной реакции, т. е. кислота.

Донор электронов – донор электронов в окислительно-восстановительной реакции.

Дыхание – окислительное расщепление молекулы питательного вещества с высвобождением энергии под воздействием кислорода.

Дыхательная цепь – электронпереносящая цепь, состоящая из последовательности белков-переносчиков электронов, которые переносят электроны от субстрата к молекулярному кислороду в аэробных клетках.

Жирная кислота – алифатическая кислота с длинной углеводной цепью, остатки которой содержатся в природных жирах и маслах.

Заменимые аминокислоты – аминокислоты белков, которые могут синтезироваться человеком и другими позвоночными из более простых предшественников и потому их присутствие в пище не обязательно.

Изомераза – фермент, катализирующий превращение соединения в его структурный изомер.

Изотопы – стабильные или радиоактивные формы элемента, различающиеся по молекулярной массе, но химически очень

близкие к наиболее распространенной в природе форме данного элемента; применяются в качестве меток.

Изоферменты (изозимы, изоэнзимы) – ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию, но различающиеся по структуре и физико-химическим свойствам; определение в крови некоторых органоспецифических изоферментов, например изоферментов ЛДГ, используют в диагностике.

Изоэлектрическая точка – значение рН, при котором растворенное вещество не имеет суммарного электрического заряда.

Иммуноглобулин – белок, являющийся антителом, вырабатываемым к специфическому антигену.

Ингибирование конечным продуктом – ингибирование аллостерического фермента, функционирующего в начале метаболической цепи, конечным продуктом этой цепи реакций.

Ингибитор – агент, подавляющий или замедляющий ферментативные реакции.

Индуктор – молекула, способная вызывать синтез данного фермента; обычно это субстрат фермента.

Индукцибельный фермент – фермент, который не вырабатывается клеткой до тех пор, пока его синтез не индуцируется своим субстратом или другим близкородственным соединением.

Иницирующие факторы – специфические белки, необходимые для инициации синтеза полипептида рибосомами.

Иницирующий кодон – триплет АУГ, кодирующий первую аминокислоту в полипептидной цепи, которой у прокариот является N-формилметионин, а у эукариот-метионин.

Иницирующий комплекс – комплекс рибосомы с мРНК и иницирующей Met-тРНК^{Met} или fMet-тРНК^{fMet}, готовый для элонгации.

Интрон – неинформативная последовательность в гене; она транскрибируется, но вырезается до процесса трансляции.

Информационная РНК (иРНК) – РНК, в точности отражающая нуклеотидную последовательность генетически активной ДНК и представляющая собой матрицу, по которой в цитоплазме синтезируется аминокислотная последовательность белка, первичная информация о которой закодирована в ДНК.

Ионообменная смола – полимерная смола, которая несет фиксированные заряженные группы и используется в хромато-

графических колонках для разделения ионогенных соединений.

Кальмодулин – Ca^{2+} -связывающий белок; связывание с Ca^{2+} в цитоплазме клеток изменяет его конформацию и превращает его в активатор ферментов.

Канцероген. Химический агент, вызывающий рак.

Каротиноиды – жирорастворимые фотосинтетические пигменты, образуемые из изопреновых элементов.

Катаболизм – Фаза метаболизма, включающая деградацию молекул питательных веществ и сопровождающаяся выделением энергии.

Катехоламины – гормоны типа адреналина, представляющие собой аминопроизводные катехола.

Катионообменная смола – нерастворимый полимер с фиксированными отрицательными зарядами; используется в хроматографическом разделении катионогенных веществ.

кДНК (комплементарная ДНК) – ДНК, синтезируемая обычно с помощью обратной транскриптазы и комплементарная данной мРНК.

Кератины – нерастворимые защитные или структурные белки, состоящие из параллельных полипептидных цепей в α -спиральной или β -конформации.

Кетоз (кетацидоз) – остояние, при котором концентрация кетоновых тел в крови, тканях и моче аномально высока.

Кетоновые тела – продукты неполного окисления жирных кислот - ацетоацетат, D- β -гидроксибутират и ацетон.

Киназа – фермент, катализирующий фосфорилирование молекулы-акцептора при помощи АТФ.

Ковалентная связь – химическая связь, образованная общей электронной парой.

Кодон – последовательность из трех соседних нуклеотидов в нуклеиновой кислоте, кодирующая определенную аминокислоту или какой-либо сигнал.

Компартментализация – структурная или функциональная специализация частей клетки.

Конкурентное ингибирование – тип ингибирования фермента, которое можно снять, повысив концентрацию субстрата.

Константа Михаэлиса (K_m) – концентрация субстрата, при которой скорость катализируемой ферментом реакции равна половине максимальной (V_{max}).

Конститутивные ферменты – ферменты главных метаболических путей, которые всегда присутствуют в нормальных клетках.

Конформация – трехмерная структура макромолекулы.

Кортикостероиды – стероидные гормоны, вырабатываемые корой надпочечников.

Кофактор – низкомолекулярное термостабильное неорганическое или органическое соединение, необходимое для проявления активности фермента.

Кофермент – термостабильное органическое соединение, необходимое организму как дополнительный фактор активности фермента, обычно входящее в состав фермента и образующее с его белковой частью легко диссоциирующий комплекс; большинство коферментов – производные витаминов.

Кофермент А – кофермент, содержащий пантотеновую кислоту, который выполняет роль переносчика ацильной группы в ряде ферментативных реакций.

Лейкотриены – медиаторы воспаления или вещества, участвующие в аллергических реакциях, вызывают значительное сокращение гладкой мускулатуры кишечника, сосудов, участвуют в регуляции иммунных реакций.

Либерин – гормон, способствующий усилению синтеза и секреции соответствующего гормона в эндокринных клетках передней доли гипофиза.

Лиганд – 1) молекула, связанная с ионом металла координационными связями (например, порфириновая часть гема); 2) молекула (гормон, фактор роста, цитокин и др.), специфически связывающаяся с рецептором.

Липоевая кислота – витамин для некоторых микроорганизмов, который служит промежуточным переносчиком водородных атомов и ацильных групп в дегидрогеназах α -кетокислот.

Липопротеины – сложный белок, содержащий липид или группу липидов.

Матричная РНК (мРНК) – класс молекул РНК, каждая из

которых комплементарна одной цепи клеточной ДНК и служит для переноса генетической информации от хромосомы к рибосомам.

Медиатор нервных импульсов – низкомолекулярное соединение (обычно содержащее азот), секретлируемое окончанием нейрона и связывающееся со следующим нейроном; служит для передачи нервных импульсов.

Медиаторы воспаления – биохимические факторы, вызывающие видимые симптомы (покраснение, отек) и жар; к ним относят гистамин, серотонин, факторы плазмы (система кинина и система комплемента), метаболиты арахидоновой кислоты (простагландины и лейкотриены).

Метаболизм – совокупность процессов превращения веществ и энергии в живом организме и обмена организма веществами и энергией с окружающей средой.

Метаболит – любой продукт или субстрат метаболизма, чаще катаболизма.

Металлофермент – фермент, содержащий в качестве простетической группы ион металла.

Микросомы – окруженные мембраной пузырьки, образованные в результате фрагментации эндоплазматического ретикула эукариотических клеток и выявляемые при дифференциальном центрифугировании.

Микроэлементы – химические элементы, необходимые организму лишь в следовых количествах.

Миозин – мышечный белок, основной компонент толстых нитей сократительной системы.

Миофибрилла – элементарная единица толстых и тонких нитей мышечных волокон.

Митохондрии – окруженные мембраной органеллы, присутствующие в цитоплазме эукариотических клеток; они содержат ферментные системы, необходимые в цикле лимонной кислоты, в транспорте электронов и при окислительном фосфорилировании.

Мицелла – ассоциация амфипатических молекул в воде, образующих структуру, в которой их неполярные части находятся внутри, а полярные части обращены наружу к молекулам воды.

Модификация посттрансляционная – изменение первичной структуры белковой молекулы, происходящее после ее синтеза.

Моносахариды – углеводы, содержащие один остаток сахара.

Мультиферментная система – последовательность связанных между собой ферментов, участвующих в данном метаболическом пути.

Насыщенная жирная кислота – жирная кислота, содержащая полностью насыщенную алкильную цепь.

Нативная конформация. Биологически активная конформация белковой молекулы.

Негемовые железосодержащие белки – белки, содержащие железо и не содержащие порфириновую группу.

Незаменимые аминокислоты – аминокислоты, которые не могут синтезироваться человеком и другими позвоночными и должны поступать с пищей.

Незаменимые жирные кислоты – группа полиненасыщенных жирных кислот растительного происхождения, которые обязательно должны содержаться в пище млекопитающих.

Нейтральные жиры – тривиальное название сложных эфиров жирных кислот, образующихся в результате этерифицирования всех трех гидроксильных групп глицерола; обычно их называют триацилглицеролами.

Неконкурентное ингибирование – тип ингибирования ферментов, которое не снимается при повышении концентрации субстрата.

Ненасыщенная жирная кислота – жирная кислота, содержащая одну или несколько двойных связей.

Неполярная группа – гидрофобная группа, обычно углеводородная.

Нингидриновая реакция – цветная реакция на аминокислоты и пептиды, протекающая при их нагревании с нингидрином; эта реакция широко применяется для выявления аминокислот и пептидов и количественной оценки их содержания.

Нонсенс-кодон – кодон, который не кодирует ни одну из аминокислот, а указывает место окончания синтеза полипептидной цепи.

Нуклеаза – фермент, способный гидролизовать межнуклеотидные связи в нуклеиновой кислоте.

Нуклеиновые кислоты – природные полинуклеотиды, в которых нуклеотидные остатки соединены между собой в определенной последовательности фосфодиэфирными связями.

Нуклеозид – соединение сахара (обычно рибозы или дезоксирибозы) с пуриновым или пиримидиновым основанием с помощью N-гликозидной связи.

Нуклеотид – 1) соединение пуринового или пиримидинового основания, сахара (обычно рибозы или дезоксирибозы) и фосфатной группы.

Обратная транскриптаза – синтезируемая ретровирусами РНК-зависимая ДНК-полимераза, способная катализировать синтез ДНК, комплементарной РНК.

Окисление – потеря соединением электронов.

β -Окисление – окислительное расщепление жирных кислот с образованием ацетил-КоА за счет последовательных актов окисления β -углеродного атома.

Окислительно-восстановительная реакция – реакция, в которой электроны переносятся от донорной молекулы к акцепторной.

Окислительное фосфорилирование – ферментативное превращение АДФ в АТФ, сопряженное с переносом электронов от субстрата к молекулярному кислороду.

Оксигеназа фермент, катализирующий реакцию, в ходе которой в акцепторную молекулу вводится кислород.

Олигомерный белок – белок, состоящий из двух или нескольких полипептидных цепей.

Олигосахарид – несколько моносахаридных групп, соединенных между собой гликозидными связями.

Омыление – щелочной гидролиз триацилглицеролов с образованием жирных кислот в виде мыл.

Оператор – область ДНК, которая взаимодействует с белком-репрессором, благодаря чему регулируется экспрессия гена или группы генов.

Оперон – единица генетической экспрессии, состоящая из одного или нескольких связанных между собой генов, а также из промотора и оператора, которые регулируют их транскрипцию.

Оптимум рН – значение рН, при котором фермент проявляет максимальную каталитическую активность.

Оптическая активность – способность вещества вращать плоскость плоскополяризованного света.

Пентоза – простой сахар, остов которого содержит пять атомов углерода.

Пентозофосфатный путь – путь окисления глюкозо-6-фосфата с образованием пентозофосфатов.

Пептид – две или большее число аминокислот, ковалентно соединенных друг с другом пептидными связями.

Пептидаза – фермент, катализирующий гидролиз пептидной связи.

Пептидная карта – характерное для данного белка двумерное расположение пептидов, образующихся при его частичном гидролизе.

Пептидная связь – замещенная амидная связь между α -аминогруппой одной аминокислоты и α -карбоксильной группой другой.

Первичная структура белков – структура ковалентного остова белка, включающая аминокислотную последовательность, а также дисульфидные мостики внутри цепи и между цепями.

Переносчик электронов – белок типа флавопротеина или цитохрома, который может обратимо приобретать и терять электроны и выполнять роль переносчика электронов от органических субстратов к кислороду.

Пиридоксальфосфат – кофермент, содержащий витамин пиридоксин и участвующий в реакциях переноса аминокрупп.

Полинуклеотид – последовательность ковалентно связанных нуклеотидов, в которой 3'-положение пентозы одного нуклеотида соединено посредством фосфодиэфирного мостика с 5'-положением пентозы следующего нуклеотида.

Полипептид – длинная цепь аминокислот, соединенных пептидными связями.

Полисахариды – линейные или разветвленные макромолекулы, состоящие из множества моносахаридных единиц, соединенных друг с другом гликозидными связями.

Порфирины – сложные азотсодержащие соединения, состоящие из четырех замещенных пиррольных циклов, ковалентно

соединенных в кольцо; часто в центре порфирина находится атом металла.

Посттрансляционная модификация – ферментативное преобразование полипептидной цепи после ее синтеза на матрице мРНК.

Промотор – участок оперона, расположенный между оператором и структурными генами, ответственный за инициацию транскрипции генетической информации.

Простагландины – группа биологически активных соединений, синтезируются из арахидоновой кислоты под влиянием циклооксигеназы. Обладают значительной физиологической активностью.

Простетическая группа – термостабильная органическая группа (но не аминокислота) или ион металла, которые связаны с белком и выполняют роль его активной группы.

Простой белок – белок, при гидролизе которого образуются только аминокислоты.

Протеинкиназы – ферменты, катализирующие фосфорилирование определенных аминокислотных остатков в ряде белков.

Протеогликан – гибридная макромолекула, состоящая из олиго- или полисахарида, присоединенного к полипептиду, причем полисахарид представляет собой основной компонент молекулы.

Протеолитический фермент – фермент, катализирующий гидролиз белков или пептидов.

Процессинг – процесс расщепления, перестройки и модификации молекул белка или нуклеиновой кислоты.

Пурин – основное азотсодержащее гетероциклическое соединение, присутствующее в нуклеотидах и нуклеиновых кислотах; оно состоит из конденсированных друг с другом пиримидинового и имидазольного колец.

Разобшающий агент – вещество, которое разобщает процессы фосфорилирования АДФ и транспорта электронов, например 2,4-динитрофенол.

Регуляторный ген – ген, продукт которого принимает участие в регуляции экспрессии другого гена, например ген, кодирующий белок-репрессор.

Рекомбинантная ДНК – ДНК, образованная в результате соединения генов в новой комбинации.

Ренатурация – сворачивание денатурированного глобулярного белка с образованием нативной конформации.

Рентгеноструктурный анализ – использование метода дифракции рентгеновских лучей на кристаллах исследуемого соединения для определения его трехмерной структуры.

Репликация – синтез дочерней молекулы двух-цепочечной ДНК, идентичной родительской двухцепочечной ДНК.

Репрессия фермента – ингибирование синтеза фермента, обусловленное доступностью продукта этого фермента.

Репрессор – белок, синтезируемый под контролем регуляторного гена, способный связываться с оператором, блокировать его функцию и тем самым подавлять синтез белка.

Ретровирус – РНК-содержащий вирус, в состав которого входит обратная транскриптаза, т.е. РНК-зависимая ДНК-полимераза.

Рецептор – 1) анатомическое образование (чувствительное нервное окончание или специализированная клетка), преобразующее воспринимаемое раздражение в нервные импульсы; 2) молекулярная структура (как правило, белок), характеризующаяся избирательным сродством к лигандам (гормоны, нейромедиаторы, факторы роста, антигены и др.). Связывание лигандов с рецепторами приводит к изменению активности ферментов, участвующих в формировании вторичных посредников.

Рецептор ЛПНП – гликопротеин, участвует в захвате липопротеинов, содержащих в своем составе апоЛП-В и апоЛП-Е (главным образом ЛПНП и остатки ХМ).

Рецептор ЛПОНП – участвует в метаболизме триглицеридов. Локализуется в миокарде, нервной, мышечной и жировой тканях.

Рибонуклеаза – нуклеаза, катализирующая гидролитическое расщепление межнуклеотидных связей в РНК.

Рибонуклеотид – нуклеотид, содержащий в качестве пентозного компонента D-рибозу.

Рибосомная РНК (рРНК) – класс молекул РНК, входящих в состав рибосом.

Рилизинг-факторы (факторы терминации) – факторы белковой природы, необходимые для высвобождения готовой полипептидной цепи из рибосомы.

РНК (рибонуклеиновая кислота) – полирибонуклеотид с определенной нуклеотидной последовательностью, в котором рибонуклеотидные остатки соединены между собой 3',5'-фосфодиэфирными связями.

РНК-полимераза – фермент, катализирующий синтез РНК из рибонуклеозид-5'-трифосфатов с использованием в качестве матрицы цепи ДНК или РНК.

Саркомер – функциональная и структурная единица мышечной сократительной системы.

Сателлитная ДНК – высокоповторяющиеся нетранслируемые участки ДНК в эукариотических клетках.

Сведберг (S) – единица скорости седиментации частицы в центрифуге.

Серповидно-клеточная анемия – заболевание человека, связанное с нарушением первичной структуры гемоглобина, которое характерно для гомозигот по аллелю, кодирующему β -цепь гемоглобина.

Складчатая структура – организация связанных водородными связями расположенных рядом («бок о бок») полипептидных цепей в вытянутой β -конформации.

Скрининг – обследование больших групп людей на выявление каких-либо состояний (болезней или носительства) с целью активной профилактики тяжелых форм болезней; предположительное выявление недиагностированной ранее болезни с помощью простых методов, дающих быстрый ответ.

Сложный белок – белок, содержащий в качестве простетической группы металл или органическое соединение, или и то, и другое.

Сопряженные реакции – две химические реакции, имеющие общий метаболит и обменивающиеся между собой энергией.

α -Спираль – скрученная, спиральная конформация полипептидной цепи, характеризующаяся максимальным числом внутримолекулярных водородных связей.

Сплайсинг генов – ферментативное присоединение одного гена или части гена к другому, а также процесс удаления интронов и соединение экзонов при синтезе мРНК.

Стероиды – класс липидов, содержащих циклопентанфенантроновую кольцевую структуру.

Структурный ген – ген, кодирующий белки и РНК.

Субстрат – определенное соединение, на которое действует фермент.

Терминирующие кодоны – три кодона УАА, УАГ и УГА, которые служат сигналами окончания синтеза полипептидной цепи.

Тетрагидрофолиевая кислота – кофермент, представляющий собой восстановленную активную форму витамина фолиевой кислоты.

Тиминовый димер – димер, состоящий из ковалентно соединенных друг с другом тиминовых остатков в цепи ДНК; появление таких димеров вызывается поглощением ультрафиолетовых лучей.

Токоферолы – группа соединений, представляющих собой формы витамина Е.

Топоизомеразы – ферменты, способные осуществлять положительное или отрицательное сверхскручивание колец двухцепочечной ДНК.

Точка изоэлектрическая – величина рН среды, при которой концентрация положительных и отрицательных ионов одинакова.

Трансаминирование – ферментативный перенос аминокетогруппы от α -аминокислоты к α -кетокислоте.

Трансген – ген, вводимый в клетку при генной терапии; включают в состав плазмиды-вектора.

Трансдукция – перенос генетического материала из одной клетки в другую с помощью вирусного вектора.

Транскрипция – ферментативный процесс, при котором генетическая информация, содержащаяся в одной цепи ДНК, используется для синтеза комплементарной нуклеотидной последовательности в цепи мРНК.

Транслоказа – фермент, вызывающий перемещение рибосомы вдоль мРНК.

Трансляция – процесс, при котором генетическая информация, содержащаяся в молекуле мРНК, направляет синтез соответствующей аминокислотной последовательности в белке.

Транспорт электронов – перемещение электронов от субстрата к кислороду, осуществляемое в дыхательной цепи.

Транспортная РНК (тРНК) – специальный вид низкомолекулярной РНК, способной связываться с одной аминокислотой и с определенными участками (кодонами) на иРНК.

Третичная структура белка – пространственное расположение полипептидной цепи глобулярного белка, находящегося в нативной свернутой форме.

Триацилглицерол – эфир глицерола с тремя молекулами жирной кислоты; его называют также нейтральным жиром.

Тромбоксаны – группа соединений, биохимически связанных с простагландинами; образуются при циклооксигеназном окислении арахидоновой кислоты, влияют на агрегацию тромбоцитов, вызывают сокращение сосудов.

Углевод – альдегид или кетон, содержащий большое число гидроксильных групп.

Удельная активность фермента – количество микромолей субстрата, преобразуемое препаратом фермента в 1 мин в расчете на 1 мг белка при 25°C.

Уравнение Лайнуивера-Берка – уравнение, полученное путем алгебраического преобразования уравнения Михаэлиса-Ментен, позволяющее более точно определить величины V_{\max} и K_m .

Уравнение Михаэлиса-Ментен – уравнение, связывающее скорость ферментативной реакции с концентрацией субстрата.

Факторы инициации – специфические белки, необходимые для инициации синтеза полипептида в рибосомах.

Факторы терминации – см. Рилизинг-факторы.

Факторы элонгации – особые белки, необходимые для элонгации синтеза полипептидных цепей в рибосомах.

Ферменты – белки, катализирующие различные метаболические реакции.

Фибриллярные белки – нерастворимые белки, которые выполняют защитную или структурную роль; полипептидная цепь в таких белках вытянута или скручена в одном направлении.

Флавинадениндинуклеотид (ФАД) – кофермент ряда окислительно-восстановительных ферментов, содержащий рибофлавин.

Флавиндегидрогеназы – дегидрогеназы, содержащие в качестве кофермента ФМН или ФАД.

Флавопротеин – белок, содержащий в качестве простетиче-

ской группы флавиновый нуклеотид.

Фосфолипид – липид, содержащий одну или несколько фосфатных групп.

Фосфорилирование в дыхательной цепи – окислительное фосфорилирование, т.е. фосфоилирование АДФ, сопряженное с переносом электронов от субстрата к кислороду.

Фосфорилирование на уровне субстрата – Фосфорилирование АДФ и некоторых других нуклеозид-5'-дифосфатов, сопряженное с дегидрированием органического субстрата и протекающее независимо от переноса электронов.

Фосфорилирование – образование фосфатного производного биомолекулы обычно за счет ферментативного переноса фосфатной группы от АТФ.

Фосфороллиз – ферментативное расщепление соединения в результате взаимодействия с фосфатом, аналогичное гидролизу.

Хемиосмотическое сопряжение – сопряжение синтеза АТФ и переноса электронов через мембрану за счет электрохимического градиента H^+ .

Хиломикрон – компонент плазмы крови, представляющий собой крупную каплю триацилглицеролов, стабилизированную с помощью оболочки из белка и фосфолипида.

Хроматин – нитевидный комплекс ДНК, гистонов и других белков, составляющий основу эукариотических хромосом.

Хроматография – метод разделения и анализа смесей веществ, основанный на различном распределении их компонентов между подвижной (газ или жидкость) и неподвижной (твердый сорбент) фазами.

Хромогены – органические вещества, содержащие в молекуле хромофорные группы; к хромогенам относят, например, пигменты.

Хромосома – одна большая молекула ДНК, содержащая ряд генов и выполняющая функцию хранения и передачи генетической информации.

Циклический АМФ (циклический аденилат) – вторичный посредник внутри клеток; его образование при помощи аденилатциклазы стимулируется некоторыми гормонами.

Цитостатики – лекарственные средства, подавляющие деление клеток; используют главным образом для лечения злокаче-

ственных опухолей.

Цитохромы – гемосодержащие белки, выполняющие роль переносчиков электронов при дыхании и фотосинтезе.

Четвертичная структура – пространственное расположение субъединиц олигомерного белка.

Экзергоническая реакция – химическая реакция, сопровождающаяся отрицательным изменением стандартной свободной энергии.

Экзон – участок эукариотического гена, транскрипт которого оказывается в зрелой мРНК; он кодирует определенный участок полипептидной цепи белка.

Экзонуклеаза – фермент, гидролизующий только концевую фосфодиэфирную связь нуклеиновой кислоты.

Экзоцитоз – выделение веществ из клетки; подлежащий экзоцитозу материал находится в секреторных пузырьках (гранулах), их мембрана сливается с клеточной мембраной.

Экстинкция – величина, характеризующая поглотительную способность при проведении спектрофотометрии.

Электрофорез – перемещение электрически заряженных частиц дисперсной фазы в дисперсионной среде под действием внешнего электрического поля к катоду или аноду.

Эндергоническая реакция – химическая реакция, сопровождающаяся положительным изменением стандартной свободной энергии.

Эндокринные железы – железы, содержащие клетки, специализирующиеся на синтезе гормонов и их секреции в кровь.

Эндонуклеаза – фермент, способный гидролизовать внутренние фосфодиэфирные связи в нуклеиновых кислотах.

Эндоцитоз – поступление в клетку веществ, частиц, бактерий и т.д.

Энергия активации – количество энергии (в килокалориях), необходимое для того, чтобы перевести все молекулы, содержащиеся в 1 моле реагирующего вещества, в состояние переходного комплекса.

Энтальпия – содержание тепла в системе.

Энтропия – мера степени неупорядоченности системы.

Эффлектор (модулятор) – метаболит, который, связываясь с аллостерическим центром регуляторного фермента, меняет его кинетические характеристики.

**СПИСОК ЭКЗАМЕНАЦИОННЫХ ВОПРОСОВ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ
МЕДИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**
(специальность медико-диагностическое дело)

I. ВВЕДЕНИЕ:

1. Предмет и задачи биологической химии. Роль биохимии в медицинском образовании. Объекты биохимических исследований. Методы биохимии.
2. Важнейшие этапы в истории биохимии. Основные разделы и современные направления науки. Развитие биохимии в Белоруссии.

II. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ:

3. Аминокислотный состав белков, строение пептидов. Гидролиз белков.
4. Цветные реакции на аминокислоты и белки. Методы количественного определения белка.
5. Физико-химические свойства белков. Размеры и форма белковых молекул.
6. Методы выделения и очистки белков. Белковые препараты (гормоны, ферменты).
7. Пептиды. Классификация, биологические функции, представители.
8. Первичная структура белка, методы установления, ее связь с биологическими свойствами и специфичностью белков.
9. Вторичная структура белка, виды, методы установления, связи, стабилизирующие вторичную структуру. Надвторичная структура.
10. Третичная структура белковой молекулы, методы установления, виды стабилизирующих связей, ее роль в функционировании белка.
11. Денатурация белков, факторы и механизмы денатурации. Использование денатурации в медицине и промышленности.
12. Четвертичная структура белка, её биологическое значение.
13. Многообразие белков и их функции. Количественное определение белков на основе их биологических свойств.
14. Различие белкового состава органов и тканей. Изменение бел-

- кового состава в онтогенезе и при болезнях.
15. Первичные и вторичные диспротеинемии.
 16. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.
 17. Сложные белки, характеристика, представители.

III. ФЕРМЕНТЫ:

18. История открытия и изучения ферментов. Химическая природа ферментов. Особенности ферментативного катализа.
19. Механизм действия ферментов. Активный и аллостерический центры. Специфичность действия ферментов.
20. Классификация и номенклатура ферментов. Представление об изоферментах.
21. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.
22. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, pH, концентрации субстрата и фермента.
23. Простые и сложные ферменты. Кофакторы ферментов. Коферментные функции витаминов.
24. Регуляция действия ферментов: аллостерические активаторы и ингибиторы, регуляция путем ковалентной модификации и частичным протеолизом.
25. Ингибирование ферментов: обратимое, (конкурентное, неконкурентное), необратимое. Лекарственные препараты - ингибиторы ферментов.
26. Различия ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты.
27. Изменение активности ферментов при патологии. Первичные и вторичные энзимопатии.
28. Происхождение ферментов плазмы крови. Изменение активности ферментов плазмы крови, определение их активности с диагностической целью.
29. Энзимопатии – классификация и краткая характеристика.
30. Применение ферментов для лечения болезней.
31. Ферменты как аналитические реагенты в лабораторных исследованиях. Имобилизованные ферменты.
32. Единицы измерения активности и количества ферментов.

IV. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

33. ДНК, нуклеотидный состав, структура, биологическая роль. Денатурация и ренатурация ДНК. Гибридизация нуклеиновых кислот.
34. РНК, нуклеотидный состав, виды, структура, биологические функции.
35. Роль белков в структурной организации нуклеиновых кислот. Структура хроматина.
36. Биосинтез ДНК у эукариот – схема, ферменты, регуляция.
37. Обратная транскрипция, схема, биологическая роль.
38. Биосинтез РНК у эукариот, этапы, роль РНК-полимераз. Механизмы регуляции транскрипции. Процессинг РНК.
39. Генетический код, его свойства. Основной постулат молекулярной биологии.
40. Адапторная функция тРНК. Образование и строение аминоксил-тРНК.
41. Строение рибосом и их роль в синтезе белка.
42. Биосинтез белка у эукариот – этапы, схема. Посттрансляционные изменения белков.
43. Регуляция синтеза белка. Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.
44. Полимеразная цепная реакция – принцип, виды.
45. Блот-анализ.
46. Методы исследования структуры ДНК.
47. Клонирование ДНК, геновая инженерия.

V. ГОРМОНЫ:

48. Общая характеристика гормонов: свойства, типы биологического действия.
49. Классификация гормонов. Клетки-мишени и клеточные рецепторы гормонов.
50. Посредники в действии гормонов на клетку: циклические нуклеотиды, ионы кальция, фосфоинозитиды. Протеинкиназы, их роль в механизмах передачи гормонального сигнала.
51. Механизм действия гормонов стероидной природы и тироксина.

52. Тиреоидные гормоны: строение, ткани-мишени, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция гормонов.
53. Паратгормон и кальцитонин. Гипер- и гипопродукция паратгормона.
54. Инсулин и глюкагон, строение, ткани-мишени, влияние на обмен веществ. Сахарный диабет, гиперинсулинизм: метаболические последствия.
55. Адреналин и норадреналин, строение, влияние на обмен веществ и функции. Гиперпродукция адреналина.
56. Глюкокортикоиды, строение кортизола, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.
57. Минералокортикоиды, строение альдостерона, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция гормона.
58. Женские половые гормоны, строение эстрадиола и прогестерона, влияние на обмен веществ и функции. Последствия избытка и недостатка гормонов.
59. Мужские половые гормоны, строение тестостерона, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.
60. Гормоны гипоталамуса и гипофиза, их биологическое действие. Соматотропин, кортикотропин, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция соматотропина.
61. Эйкозаноиды (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены) и их роль в регуляции метаболизма и физиологических функций.
62. Эндокринопатии, основные этиологические механизмы.

VI. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ. ВИТАМИНЫ:

63. Состав пищи человека, значение питания для жизнедеятельности.
64. Основные пищевые вещества: углеводы, липиды, белки. Их характеристика, биологическая роль, суточная потребность
65. Незаменимые компоненты пищи: аминокислоты, жирные кислоты, витамины, макро- и микроэлементы. Их характеристика и значение для жизнедеятельности.
66. Витамины, история открытия и изучения, классификация. Витаминоподобные вещества. Гипо-, а- и гипервитаминозы, их причины.
67. Витамин А. Биологические функции, пищевые источники,

суточная потребность, проявление состояния недостаточности и избытка. Каротины, биологическая роль.

68. Витамин Е. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности.
69. Витамин Д, активные формы. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности и избытка.
70. Витамин К. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности.
71. Витамин В₁. Строение, свойства, активная форма, участие в метаболизме, пищевые источники, суточная потребность. Проявления недостаточности.
72. Витамин В₂. Строение, свойства, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
73. Витамин РР. Строение, свойства, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
74. Витамин В₆. Строение, свойства, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
75. Пантотеновая кислота. Строение, свойства, активная форма (HS-CoA), участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
76. Фолиевая кислота. Строение, свойства, активные формы участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
77. Витамин Н. Строение, свойства, активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
78. Витамин С. Строение, свойства, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
79. Витамин В₁₂. Активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.

VII. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН:

80. Строение и функции биологических мембран. Липидный и белковый состав мембран.
81. Общие свойства мембран. Механизмы мембранного транспорта.

VIII. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ:

82. Понятие о метаболизме и метаболических путях. Методы исследования обмена веществ.
83. Специфические и общие и пути катаболизма. Связь между анаболизмом и катаболизмом.

IX. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. ЦТК:

84. Представление об энергетике клетки, фототрофы, хемотрофы. Макроэргические субстраты, строение.
85. АТФ, строение, пути образования и использования, биологическая роль.
86. Представления о биологическом окислении и тканевом дыхании.
87. НАД⁺(НАДФ⁺)-зависимые дегидрогеназы, строение коферментов, биологическая роль.
88. ФАД(ФМН)-зависимые дегидрогеназы, строение коферментов, биологическая роль.
89. Кофермент Q, строение, биологические функции.
90. Система цитохромов цепи тканевого дыхания, строение, биологические функции.
91. Структурная организация ЦПЭ. Комплексы ЦПЭ.
92. Окислительное фосфорилирование АДФ, механизмы, теория Митчелла. Коэффициент P/O.
93. Регуляция цепи тканевого дыхания. Активаторы, ингибиторы, разобщители ЦПЭ и окислительного фосфорилирования. Нарушения энергетического обмена (гипоксии, гиповитаминозы PP, B₂).
94. Типы окисления: оксидазный, пероксидазный, диоксигеназный, монооксигеназный - ферменты, биологическая роль.
95. Микросомальное окисление, схема, биологическая роль.
96. Активные формы кислорода, образование, повреждающее действие. Перекисное окисление липидов.

97. Характеристика ферментативных и неферментативных звеньев антиоксидантной системы.
98. Цикл трикарбоновых кислот, последовательность реакций.
99. Схема ЦТК, регуляция, биологическая роль.
100. Энергетика ЦТК, связь с ЦПЭ.

Х. ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ:

101. Углеводы, классификация, распространение, биологические функции, содержание в тканях человека.
102. Основные углеводы пищи их характеристика. Переваривание и всасывание углеводов в пищеварительном тракте, патология.
103. Глюкоза, пути метаболизма в организме, общая характеристика, биологические функции. Фосфорилирование глюкозы и дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата.
104. Метаболизм галактозы и лактозы, нарушения обмена.
105. Метаболизм фруктозы, нарушения обмена.
106. Гликолиз, последовательность реакций, биологическое значение.
107. Гликолитическая оксидоредукция в анаэробном гликолизе. Реакции субстратного фосфорилирования АДФ в гликолизе.
108. Энергетика и биологическая роль анаэробного гликолиза, его регуляция.
109. Аэробный распад глюкозы, последовательность реакций.
110. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, механизм реакции, регуляция, биологическая роль.
111. Энергетика аэробного распада глюкозы, его биологическая роль. Схема метаболизма пировиноградной кислоты,
112. Метаболизм молочной кислоты. Цикл Кори, аланиновый цикл. Схема глюконеогенеза.
113. Основные реакции глюконеогенеза, роль биотина. Регуляция и физиологическое значение глюконеогенеза.
114. Пентозофосфатный путь (ПФП), окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.
115. Путь глюкуроновой кислоты: схема, биологическая роль.
116. Синтез гликогена, регуляция.
117. Расщепление гликогена, регуляция. Биологическая роль гликогена.

118. Врожденная патология обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.
119. Регуляция гликемии (механизмы и факторы).
120. Гипергликемии и гипогликемии, их причины. Методы количественного определения глюкозы в крови.
121. Сахарный диабет: основные формы, нарушения метаболизма, механизмы развития поздней осложнений.
122. Тест толерантности к глюкозе, методика проведения и его диагностическое значение.

XI. ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ:

123. Классификация липидов. Важнейшие липиды тканей человека, структура, содержание в тканях. Функции липидов.
124. Липиды пищи, их переваривание и всасывание в желудочно-кишечном тракте. Нарушения переваривания и всасывания липидов.
125. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
126. β -Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.
127. Реакции образования и утилизации кетоновых тел. Механизм избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.
128. Образование малонил-КоА. Синтаза жирных кислот. Источники ацетил-КоА и НАДФН+H⁺ для синтеза жирных кислот.
129. Последовательность реакций синтеза жирных кислот (на примере пальмитиновой кислоты).
130. Синтез и мобилизация триацилглицеролов. Роль гормонов в регуляции этих процессов.
131. Биосинтез глицерофосфолипидов.
132. Метаболизм холестерина в организме.
133. Схема синтеза холестерина, этапы, регуляция. Начальные реакции синтеза холестерина.
134. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции.
135. Представление о метаболизме сфингофосфолипидов и гликолипидов. Врожденные нарушения обмена этих соединений.

136. Биохимия атеросклероза, роль гиперхолестеринемии и других факторов риска. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
137. Транспорт липидов и жирных кислот в крови, роль альбуминов. Характеристика липопротеинов.
138. Метаболизм липопротеинов: их образование и утилизация. Липопротеинлипаза и её роль в обмене липопротеинов. Роль апопротеинов.
139. Дислипидемии – классификация, характеристика отдельных форм.
140. Нарушения липидного обмена при ожирении и голодании.

XII ОБМЕН И ФУНКЦИИ АМИНОКИСЛОТ:

141. Динамическое состояние белков организма. Представление об азотистом балансе организма человека. Источники и пути расходования аминокислот в тканях.
142. Пищевые белки, переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Всасывание аминокислот.
143. Превращение аминокислот микрофлорой кишечника.
144. Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование и восстановительное аминирование.
145. Трансаминирование аминокислот, ферменты. Коферментная функция витамина В₆. Механизм трансаминирования аминокислот. Биологическое значение.
146. Трансдезаминирование и трансреаминирование. Биологическое значение.
147. Декарбоксилирование аминокислот, типы, биологическое значение. Биогенные амины, синтез, их функции, реакции окисления.
148. Пути образования и обезвреживания аммиака в организме. Тканевое обезвреживание аммиака.
149. Биосинтез мочевины. Нарушения синтеза и выведения мочевины.
150. Пути катаболизма аминокислот в организме. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
151. Обмен метионина: S-аденозилметионин, его роль в реакциях трансметилирования.

152. Пути обмена фенилаланина и тирозина в норме и патологии. Наследственные нарушения обмена фенилаланина и тирозина (фенилкетонурия, алкаптонурия, альбинизм).

XIV. ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН. БИОХИМИЯ ПОЧЕК И МОЧИ:

153. Компартиментализация жидкостей в организме, их состав, объем, осмоляльность, рН. Биологические функции воды в организме. Водный баланс.

154. Механизмы регуляции объема, электролитного состава, рН жидкостей организма.

155. Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия. Представление об обезвоживании, отеках, ацидозе, алкалозе.

156. Минеральные компоненты тканей, классификация, представители, биологическая роль.

157. Натрий, калий, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.

158. Кальций, фосфор, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.

159. Микроэлементы, биологическая роль (железо, медь, кобальт, йод, цинк, марганец, селен).

160. Почки, биохимические функции, особенности метаболизма в почечной ткани. Роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия.

161. Моча, общие свойства. Химический состав мочи. Патологические компоненты мочи. Клинико-диагностическое значение биохимического анализа мочи.

XV. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА:

162. Роль регуляции метаболизма в функционировании органов и систем. Внутриклеточная локализация основных метаболических путей.

163. Уровни регуляции метаболизма и основные регуляторные механизмы. Регуляция с участием мембран, вторичных посредников, ферментов, гормонов.

XVI. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ:

164. Роль печени в обмене углеводов, липидов, аминокислот и белков.

165. Обезвреживающая функция печени: обезвреживание токсических веществ путем защитных синтезов, микросомальным окислением, ацетилированием, конъюгацией с глюкуроновой и серной кислотами.

166. Реакции синтеза гема, субстраты, ферменты.

167. Роль печени в пигментном обмене. Обмен билирубина в норме и при патологии.

168. Желтухи, их виды. Биохимическая диагностика желтух. Желчные пигменты крови, кишечника, мочи.

169. Биохимические механизмы патогенеза печеночной недостаточности и печеночной комы. Биохимические методы диагностики нарушений функций печени.

XVII. БИОХИМИЯ КРОВИ

170. Кровь, общая характеристика, функции крови. Особенности метаболизма в форменных элементах крови.

171. Гемоглобин человека, строение, производные гемоглобина, варианты в онтогенезе. Участие гемоглобина в транспорте кислорода и углекислого газа кровью. Гипоксии. Гемоглобинопатии.

172. Обмен железа. Трансферрин и ферритин. Железодефицитные анемии, их диагностика.

173. Белки сыворотки крови, их характеристика.

174. Ферменты крови, диагностическое значение. Белки острой фазы. Кининовая система.

175. Свертывание крови. Факторы свертывающей системы крови. Роль тромбоцитов в процессах гемостаза.

176. Внутренняя и внешняя системы коагуляционного гемостаза. Фазы. Каскадный механизм активирования ферментов, участвующих в свертывании крови. Роль витамина К в свертывании крови.

177. Противосвертывающие системы крови (антикоагуляционная и фибринолитическая).

178. Патология свертывающей и противосвертывающей системы. Представление о тромбозах и гемофилии.

179. Биохимический анализ крови, основные показатели, значение в характеристике состояния здоровья человека.

XVIII. БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ:

180. Химический состав нервной ткани. Миелиновые мембраны: особенности состава и структуры.

181. Транспорт веществ в ткани мозга, роль гематоэнцефалического барьера. Аксональный транспорт.

182. Особенности метаболизма углеводов, липидов и аминокислот в нервной ткани. Энергетический обмен в головном мозге.

183. Молекулярные механизмы синаптической передачи.

184. Метаболизм медиаторов, типы медиаторов. Краткая характеристика (синтез, биохимические и физиологические эффекты, распад) – ацетилхолин, катехоламины, серотонин, дофамин, ГАМК, гистамин.

XIX. БИОХИМИЯ МЫШЦ:

185. Особенности строения и состава мышечной ткани. Миофибриллярные и саркоплазматические белки мышц, характеристика, функции.

186. Биохимические механизмы сокращения и расслабления мышц. Роль ионов в регуляции мышечного сокращения.

187. Особенности энергетического обмена в мышцах. Креатинфосфокиназа, её изоферменты.

XX. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ:

188. Особенности метаболизма в соединительной ткани. Химический состав межклеточного вещества. Коллаген, эластин – особенности метаболизма.

189. Протеогликаны, глюкозаминогликаны, гликопротеины, особенности синтеза и распада, биологическая роль в организме.

XXI. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

190. Общая характеристика опухолевых клеток. Основные механизмы канцерогенеза.

XXIII. ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

191. Роль клинической биохимии в диагностике и лечении заболеваний.

192. Основные и специальные биохимические исследования. Порядок проведения биохимических исследований.

193. Основные биохимические показатели, характеризующие состояние организма и его систем.

Учебное издание

Лелевич Владимир Владимирович
Наумов Александр Васильевич
Леднева Ирина Олеговна и др.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум
для студентов, обучающихся по специальности
1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело»

3-е издание

Ответственный за выпуск В. В. Воробьев

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной
Корректурa Я. И. Новогродская

Подписано в печать 13.06.2022.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Times New Roman. Ризография.
Усл. печ. л. 9,07. Уч.-изд. л. 4,08. Тираж 89 экз. Заказ 87.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.