Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра биологической химии

В. В. Лелевич, И. О. Леднева, Н. Э. Петушок

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум для студентов
лечебного (специальность 1-79 01 01 «Лечебное дело»),
медико-диагностического (специальность
1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело») факультетов
и факультета иностранных учащихся с русским языком обучения
(специальность 1-79 01 01 «Лечебное дело»)

3-е издание

Гродно
ГрГМУ
2016

УДК 577.1(076.5)
ББК 52.57я73
Л 43

Рекомендовано Центральным научно-методическим советом ГрГМУ (протокол № 5 от 21.06.2016 г.).

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

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

Лелевич, В. В.

Л 43 Биологическая химия : практикум для студентов лечебного (специальность 1-79 01 01 «Лечебное дело»), медико-диагностического (специальность 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело») факультетов и факультета иностранных учащихся с русским языком обучения (специальность 1-79 01 01 «Лечебное дело») / В. В. Лелевич, И. О. Леднева, Н. Э. Петушок. – 3-е изд. – Гродно : ГрГМУ, 2016. – 128 с.

ISBN 978-985-558-734-8.

Практикум по биологической химии для специальностей 1-79 01 01 «Лечебное дело» и 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело» включает лабораторные работы в соответствии с действующими учебными программами, основные референтные показатели, рекомендуемую 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 978-985-558-734-8

© Лелевич В.В., Леднева И.О.,
Петушок Н.Э., 2016
© ГрГМУ, 2016

ПРЕДИСЛОВИЕ

В связи с динамическим развитием биохимии как науки, совершенствованием обучающих технологий в медицинских вузах периодически обновляются и методические документы, обеспечивающие учебный процесс. Данный практикум отражает лабораторно-практический аспект изучения биохимии в течение всего учебного года. Он включает лабораторные работы, которые в соответствии с учебным планом и действующей учебной программой выполняются на лечебном, медико-диагностическом факультетах 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 с большим интересом и самостоятельностью выполнять биохимические методики и покажет важное значение определения биохимических показателей в диагностике заболеваний человека. 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 текущим занятиям и в предсессионный период.

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, колбочки, 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.

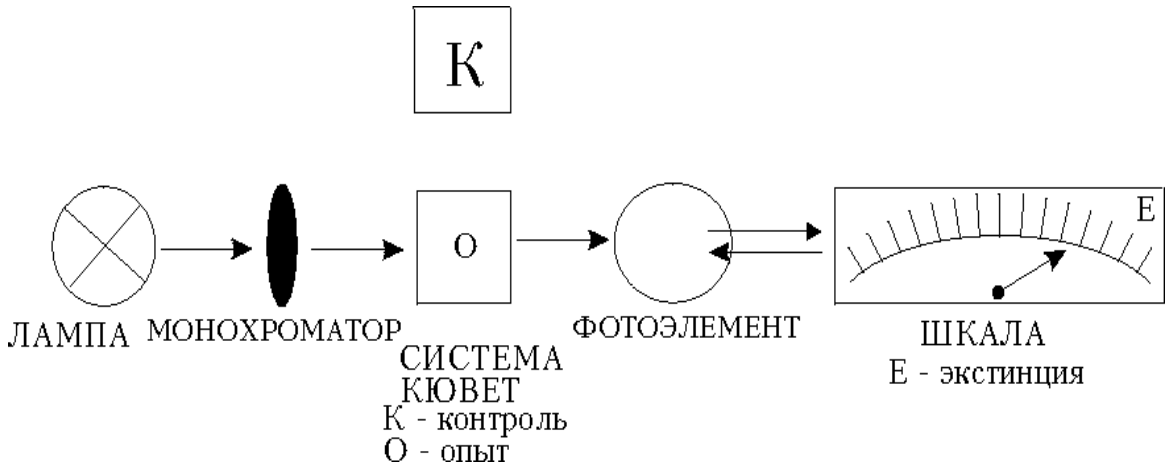
Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 1

РАБОТА № 1. КОЛОРИМЕТРИЯ, ОБЩИЙ ПРИНЦИП. УСТРОЙСТВО ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРА

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 прямо пропорционально концентрации вещества в растворе и зависит от толщины слоя (толщины кювет, *l*). В фотометрии используют монохроматический свет (свет определенной длины волны, λ).

Принципиальная схема устройства фотоэлектроколориметра



Расчет концентрации вещества

1) по формуле (с использованием стандартного раствора с известной концентрацией вещества);

$$C_0 = \frac{Eo}{Ecт} \text{ x } Cст$$

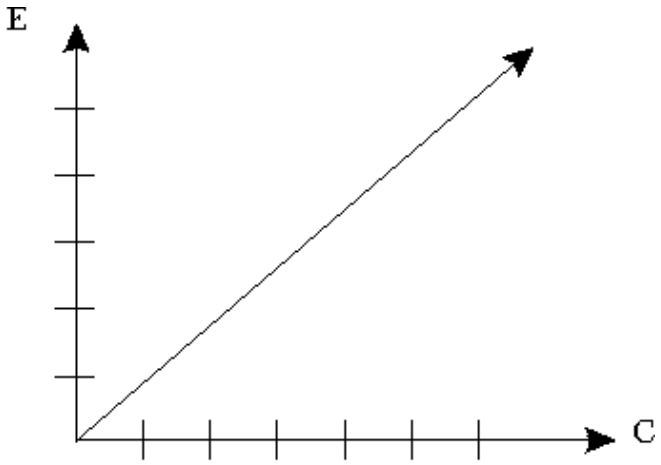
где C_o – концентрация опытной пробы;

E_o – экстинкция опытной пробы;

$C_{ст}$ – концентрация стандартной пробы;

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

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



E - экстинкция
C - концентрация

Дата: ________

ЗАНЯТИЕ № 2

РАБОТА № 1. ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛКИ И АМИНОКИСЛОТЫ

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 на белки

ПРИНЦИП МЕТОДА. Раствор белка в щелочной среде в присутствии сульфата меди ($NaOH/CuSO_4$) окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Окраска определена образованием комплексного соединения ионов меди с пептидными группами белка, которых должно быть не менее двух. Таким образом, эта реакция открывает все белки, а также низкомолекулярные пептиды.

ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

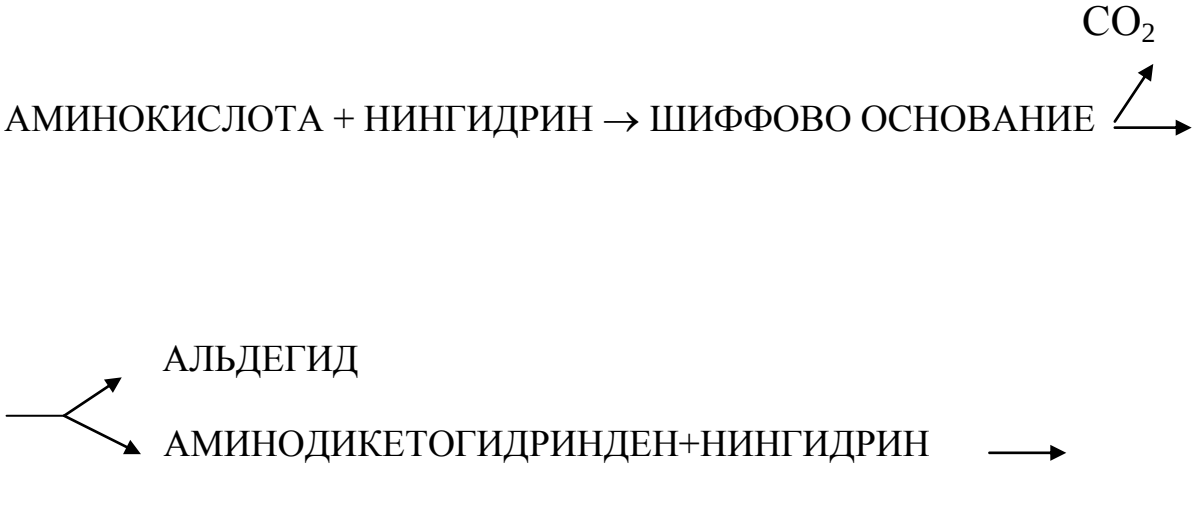
ОТМЕРИТЬ	**О П Ы Т**
Раствор белка NaOH, 10 % $CuSO_4$, 1 %	5 капель 5 капель 2 капли

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

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.



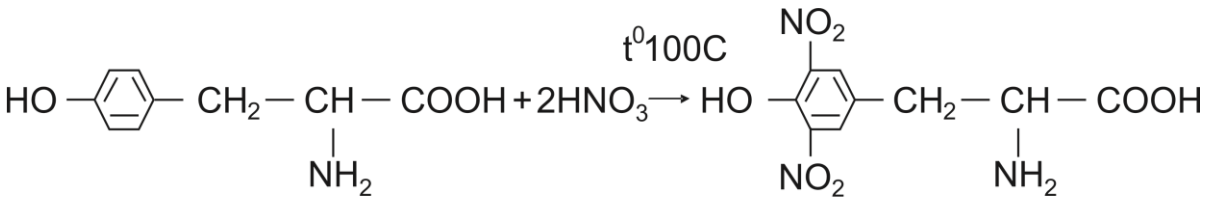
ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

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

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

3. Ксантопротеиновая реакция Мульдера (на ароматические аминокислоты)



тирозин динитротирозин

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

ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

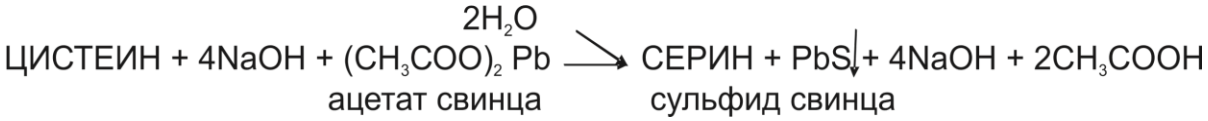
ОТМЕРИТЬ	**О П Ы Т**
раствор белка	5 капель
HNO_3 концентрированная	5 капель
Кипятить до появления окраски	

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 NaOH, 30 % Раствор $(CH_3COO)_2$ Pb 5 %	5 капель 5 капель 1 каплю
Кипятить до появления окраски.	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА СЫВОРОТКИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

ПРИНЦИП МЕТОДА. БЕЛОК + $NaOH/CuSO_4$ = сине-фиолетовый цвет, интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка в сыворотке и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки: контрольную и опытную.

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 10мм, λ = 540 нм		

Измерение на колориметре проводят против контрольной пробы и отмечают экстинкцию.

РЕЗУЛЬТАТ:

E_0 =

Конечный результат: определяют по калибровочному графику:

Со = 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)** характерно для: ревматоидного артрита, коллагенозов, бронхоэктатической болезни, миеломной болезни, гипериммуноглобулинемии, а также гипогидратации организма (рвота, понос) и венозного стаза.

Снижение концентрации белка в сыворотке крови **(гипопротеинемия)** отмечается при: голодании, беременности, нефротическом синдроме (гломерулонефрит), хронических заболеваниях печени (гепатиты и циррозы), гастроэнтеропатиях, ожогах, раковой кахексии.

В Ы В О Д :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 3

РАБОТА № 1. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКОВ КОНЦЕНТРИРОВАННЫМИ МИНЕРАЛЬНЫМИ КИСЛОТАМИ

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.

ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

ОТМЕРИТЬ	**ОПЫТ**
HNO_3 концентрированная	10 капель -
Раствор белка	10 капель

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

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

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

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. 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).

ОТМЕРИТЬ	**ОПЫТ 1**	**ОПЫТ 2**
Раствор белка NaCl (порошок) $(NH_4)_2SO_4$-насыщенный раствор (100 %)	1,0 мл до насыщения (100%) - Отставить на 10 минут	1,0 мл - 1,0 мл (получится 50% раствор) Без инкубации
Р Е З У Л Ь Т А Т:		
	Отфильтровать	Отфильтровать
	Прокипятить	-
$(NH_4)_2\ SO_4$ (порошок)	-	Добавить соль до насыщения
Р Е З У Л Ь Т А Т:		

В Ы В О Д:

Дата: _____

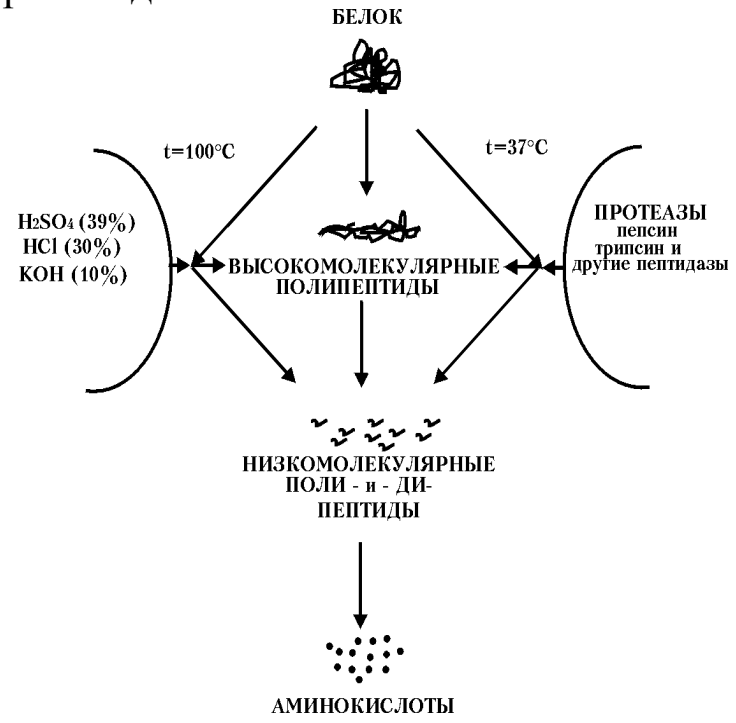
ЗАНЯТИЕ № 4

РАБОТА № 1. КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Гидролиз белка – это расщепление биополимера с присоединением воды по месту разрыва пептидных связей под действием кислот, оснований или протеаз. Последовательность гидролиза белка показана на схеме.

В лабораторных условиях гидролиз белков используется для определения первичной структуры, аминокислотного состава белков. Гидролизаты белков применяются в качестве лечебных препаратов при парентеральном питании. В организме человека и животных постоянно происходит гидролиз белков в пищеварительном тракте и клетках органов под действием протеолитических ферментов.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Большинство биополимеров в реакциях с водой распадаются на мономеры. Гидролиз катализируют протоны, ионы гидроксила и ферменты по механизму нуклеофильного замещения у углерода с карбонильной группой. Полный кислотный гидролиз белков при кипячении происходит в течение 12-96 часов.



ХОД РАБОТЫ:

1. В химическую колбу внести 20 мл раствора яичного белка.

↓

2. Добавить 5 мл концентрированной HCl.

↓

3. Отлить 0,5 – 1 мл смеси в пробирку (№ 1), (5 капель).

↓

4. Колбу закрыть резиновой пробкой с длинной стеклянной трубкой (обратный холодильник).

↓

5. Содержимое колбы кипятить под вытяжкой в течение 45 минут.

↓

6. После охлаждения отлить 0,5–1 мл гидролизата в пробирку (№ 2) (5 капель).

↓

7. Нейтрализовать содержимое пробирок 20 % NaOH по лакмусу до голубой окраски.

↓

8. Провести биуретовую реакцию в пробирках № 1 и № 2.

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРИПСИНА

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Протеолитический фермент трипсин осуществляет расщепление пищевых белков в содержимом двенадцатиперстной кишки в верхних отделах тонкого кишечника. Фермент используется также для расщепления белков в лабораторных условиях.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Протеолитическая активность трипсина регистрируется по количеству освобождающегося аргинина и лизина, которые с фенольным реактивом дают синюю окраску, измеряемую колориметрически.

ХОД РАБОТЫ: взять две центрифужные пробирки: контрольную и опытную.

ОТМЕРИТЬ	**КОНТРОЛЬ**	**О П Ы Т**
Раствор белка Фосфатный буфер pH-8,0 ТХУ, 10% Раствор трипсина	0,5 мл 1,0 мл 2,0мл 0,5 мл	0,5 мл 1,0 мл - 0,5 мл
Инкубация 20 минут, при 37° С в термостате		
ТХУ, 10%		2 мл
Центрифугирование 10 минут, 1500 об/мин. Центрифугат перелить в сухие пробирки.		
раствор NaOH 0,5 М фенольный реактив	5,0 мл 0,5 мл	5,0 мл 0,5 мл
Размешать. Инкубация 20 минут при 18° С		

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 5

РАБОТА № 1. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Позволяет охарактеризовать одно из свойств ферментов – зависимость протекания ферментативных реакций от температуры (термолабильность).

ПРИНЦИП МЕТОДА:

амилаза амилаза

Крахмал ---------→ декстрины ----------→ мальтоза.

Крахмал дает с иодом синий цвет.

Декстрины дают с иодом фиолетовое, красно-бурое окрашивание.

Мальтоза – желтый (цвет иода в воде).

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки, опыт 1-3. Развести слюну 1 : 10 (1мл слюны в отдельной пробирке + 9мл H_2O).

ОТМЕРИТЬ	**ОПЫТ-1**	**ОПЫТ-2**	**ОПЫТ-3**
Крахмал 1 % Амилаза слюны (разведение 1:10)	0,5 мл 0,5 мл	0,5 мл 0,5 мл	0,5 мл 0,5 мл
Поместить пробирки на 10 минут	Комнатная температура (20^oC)	Термостат (40^oC)	Кипящая водяная баня (100^oC)
Через 10 минут во все пробирки добавить по 1-2 капли KJ 1%			

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

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_20	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, 15 минут).

↓

Добавить по 2 капли раствора йода во все пробирки.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

РАБОТА № 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИЛАЗЫ (ДИАСТАЗЫ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПО МЕТОДУ КАРАВЕЯ

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

ПРИНЦИП МЕТОДА. Метод основан на колориметрическом определении концентрации крахмального субстрата до и после его ферментативного гидролиза. В качестве

рабочего раствора используется 0,01 н. раствор йода.

ХОД РАБОТЫ:

В 2-х пробирках (опытной и контрольной) проводят анализ согласно таблице:

КОМПОНЕНТЫ	**ОПЫТНАЯ ПРОБА**	**КОНТРОЛЬНАЯ ПРОБА**
Раствор стойкого крахмального субстрата	0,5 мл	0,5 мл
прогреть 5 мин в водяном термостате при 37° С		
Негемолизированная сыворотка крови	0, 01 мл	-
прогреть 5 мин в водяном термостате при 37° С		
Рабочий раствор йода (0,01 н.)	0,5 мл	0,5 мл
Дистиллированная вода	4 мл	4 мл
Негемолизированная сыворотка крови	-	0,01 мл
пробирки встряхивают и растворы фотометрируют относительно воды		

Длина волны **630-690 нм**, кювета с толщиной слоя 1 см.

РАСЧЕТЫ. Расчет активности α-амилазы в г расщепленного крахмала на 1 л сыворотки за 1 час инкубации при 37^0 С производят по формуле:

$$X = \frac{E_к - E_{оп}}{E_к} \cdot 240$$

$E_к$ - экстинкция контрольной пробы;

$E_{оп}$ – экстинкция опытной пробы.

РЕЗУЛЬТАТ:

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Активность α-амилазы в сыворотке крови в норме = 16 – 30 г/час•л, в моче – 28 – 160 г/час•л.

Повышение активности фермента наблюдается при паротите, панкреатите, раке поджелудочной железы, перитоните, циррозе печени, остром инфекционном гепатите, внематочной беременности, диабетическом кетоацидозе.

Снижение активности α-амилазы отмечается при атрофии поджелудочной железы, нарушении фильтрационной функции почек, кахексии.

В Ы В О Д :

Дата: _____

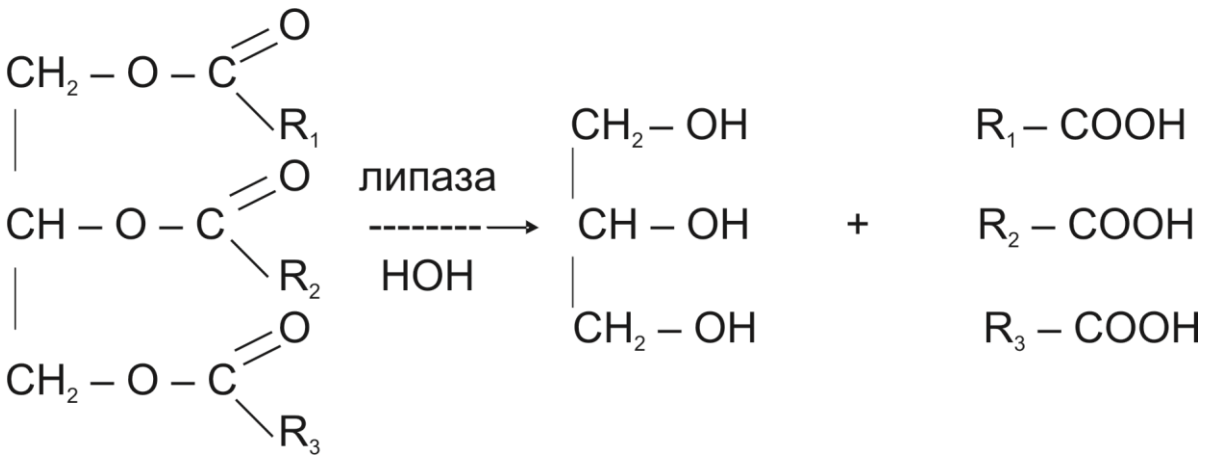
ЗАНЯТИЕ № 6

РАБОТА № 1. 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:

Липаза
Триацилглицерол----------→ глицерол + жирные кислоты
+HOH



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 большие пробирки: опыт 1 и опыт 2.

ОТМЕРИТЬ	**ОПЫТ-1 (без желчи)**	**ОПЫТ-2 (с желчью)**
Молоко (1:10) H_2O Раствор желчи Липаза из поджелудочной железы	10,0 мл 1,0 мл - 1,0 мл	10,0 мл - 1,0 мл 1,0 мл
	Перемешать и поместить в термостат при 38°С. Взять по 2 мл в колбочки + 1-2 капли фенолфталеина, титровать 0,01 н NaOH до розовой окраски	

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

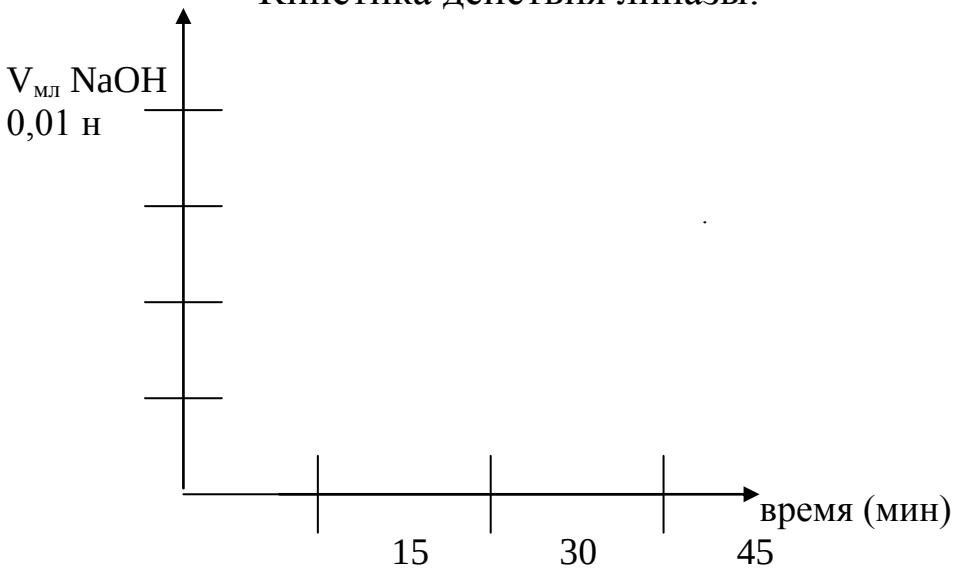
Результаты первого титрования (до начала действия липазы) вычитают из результатов последующих титрований, которые проводят через 15, 30 и 45 минут.

РЕЗУЛЬТАТ: данные титрования записать в таблицу:

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

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: полученные данные используют для построения графика.

Кинетика действия липазы:



В Ы В О Д :

*Дата*_____

ЗАНЯТИЕ № 7

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «БЕЛКИ, ФЕРМЕНТЫ»

Дата: _____

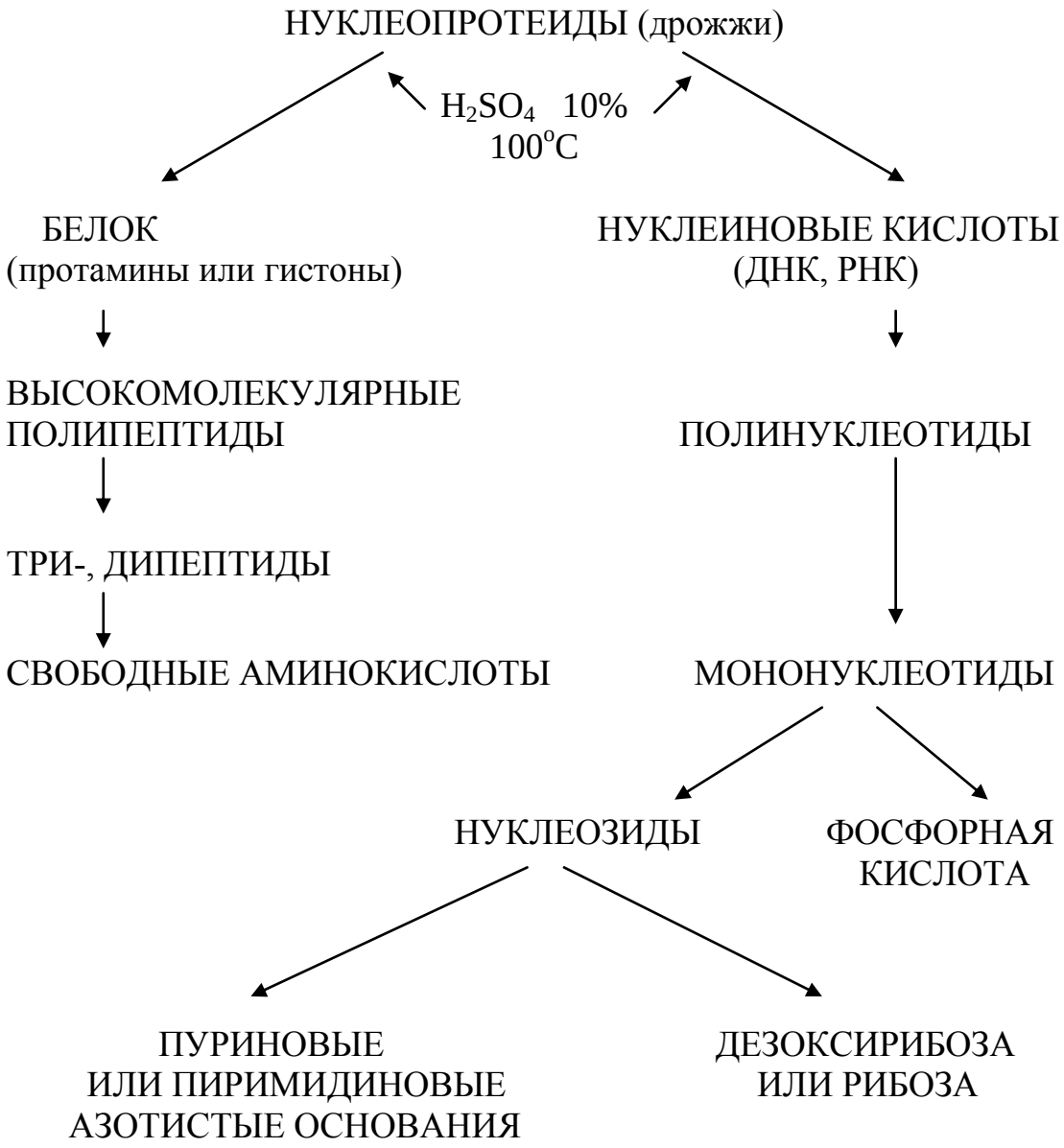
ЗАНЯТИЕ № 9

РАБОТА № 1. ГИДРОЛИЗ НУКЛЕОПРОТЕИДОВ ДРОЖЖЕЙ

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

ПРИНЦИП МЕТОДА:

СХЕМА ГИДРОЛИЗА НУКЛЕОПРОТЕИДОВ



Продукты гидролиза открывают специфическими реакциями: полипептиды – биуретовой реакцией; пуриновые основания – серебряной пробой (серебряные соли пуринов образуют светло-коричневый осадок), пентозы – пробой Троммера (возникает красное окрашивание вследствие окисления рибозы), фосфорную кислоту – молибденовой пробой (образуется фосфорномолибденовокислый аммоний – желтый кристаллический осадок).

ХОД РАБОТЫ: взять колбу, внести 5 г дрожжей + 40 мл 10% раствора H_2SO_4, закрыть пробкой со стеклянной трубкой и поставить для кипения (100^oC) на 60 минут.

Через час охладить и отфильтровать.

В фильтрате открыть продукты гидролиза.

Взять четыре пробирки и в каждой выполнить реакцию:

	ОТМЕРИТЬ	**ОПЫТ**
1. БИУРЕТОВАЯ РЕАКЦИЯ	Гидролизат NaOH 10% $CuSO_4$ 1%	5 капель 10 капель 1-2 капли
Возникает фиолетовое окрашивание		
2. СЕРЕБРЯНАЯ ПРОБА НА ПУРИНЫ	Гидролизат (NH4)OH конц. $AgNO_3$ 1%	10 капель 1 каплю 5 капель
Оставить на 5 мин. Образуется светло-коричневый осадок.		
3. ПРОБА ТРОММЕРА НА РИБОЗУ И ДЕЗОКСИРИБОЗУ	Гидролизат NaOH 30% $CuSO_4$ 7%	5 капель 10 капель 3 капли
Нагреть до начала кипения. Выпадает красный осадок Cu_2O или желтый CuOH		
4. МОЛИБДЕНОВАЯ ПРОБА НА ФОСФОР-НУЮ КИСЛОТУ	Молибденовый реактив Гидролизат	20 капель 5 капель
Кипятить несколько минут, получается окраска лимонно-желтого цвета.		

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 10

РАБОТА № 1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Мочевая кислота образуется из пуриновых оснований (аденин, гуанин). Выделение мочевой кислоты с мочой зависит от содержания пуринов в пище и от состояния обмена нуклеиновых кислот в организме. Мочевая кислота в виде кислого урата натрия входит в состав подагрических отложений в сухожилиях, хрящах, слизистых оболочках суставных сумок. Метаболит существует в виде 2-х таутомерных форм.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Мочевая кислота окисляется кислородом при каталитическом действии фермента уриказы с образованием перекиси водорода и аллантоина. Образующаяся перекись водорода под действием пероксидазы окисляет субстрат с образованием окрашенного продукта, определяемого фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки.

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

Реакционную смесь перемешивают и инкубируют 10 мин при температуре 37°С. Длина волны 500 нм, кювета 0,5 см. Измеряют оптическую плотность опытной пробы против воды. Стабильность окраски 15 минут.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА:

$C_{оп} = C_{ст} \cdot E_{оп}/E_{ст} =$ (мкмоль/л)

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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 :

*Дата*_____

ЗАНЯТИЕ № 11

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Написать реакции образования и строение валил-тРНК.
2. Составить схему биосинтеза дипептида метионилглутамата (стадии инициации и элонгации трансляции).
3. Рассмотреть роль генной инженерии в получении белков человека. Записать схему процесса.
4. Рассмотреть роль полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике. Записать схему ПЦР.
5. Выполнить индивидуальные задания по теме.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 12

РАБОТА № 1. 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. **Выделение макроэргов из мышц**

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

Б. **Определение лабильно связанного фосфора**

Взять две пробирки: контроль и опыт.

ОТМЕРИТЬ	**КОНТРОЛЬ**	**ОПЫТ**
Безбелковый фильтрат	0,5 мл	0,5 мл
HCl, 1 М	1 мл	1 мл Кипятить 10 минут,

		охладить
NaOH, 1 М	1 мл	1 мл
H_2O	2,5 мл	2,5 мл
Молибдат аммония, 1 %	0,5 мл	0,5 мл
Аскорбиновая кислота, 1 %	0,5 мл	0,5 мл
	↓ Перемешать, инкубация 10 минут, при 18°С. ↓ Колориметрия против контроля, λ = 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:

содержание макроэргов в мг АТФ/ г ткани = А · 3,3 · 40.

Найти количество АТФ в 1 г мышечной ткани:

количество АТФ = масса АТФ (в граммах)/молекулярная масса АТФ

В Ы В О Д:

Содержание АТФ в мышцах: ≈ 5 мкмоль АТФ в 1 г

мышечной ткани в состоянии покоя (молекулярная масса АТФ равна 507,2 г/моль).

*Дата*_____

ЗАНЯТИЕ № 13

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. РОЛЬ КИСЛОРОДА В ПРОЦЕССАХ ОКИСЛЕНИЯ В КЛЕТКЕ»

Задания для самостоятельной работы:

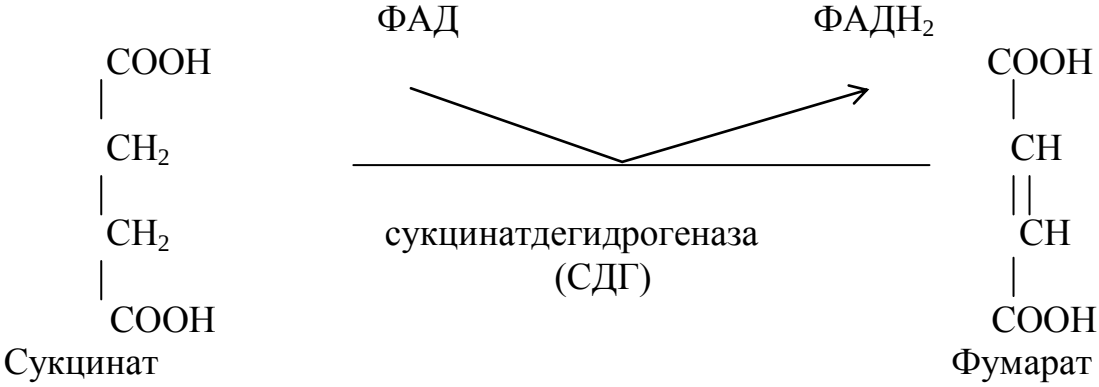
1. Изобразить общую схему энергетического обмена.
2. Показать взаимосвязь ЦТК и ЦТД.
3. Указать витаминзависимые ферменты ЦТК.
4. Показать анаболические функции ЦТК.
5. Отметить регуляцию ЦТК.
6. Решение ситуационных задач.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 15

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):

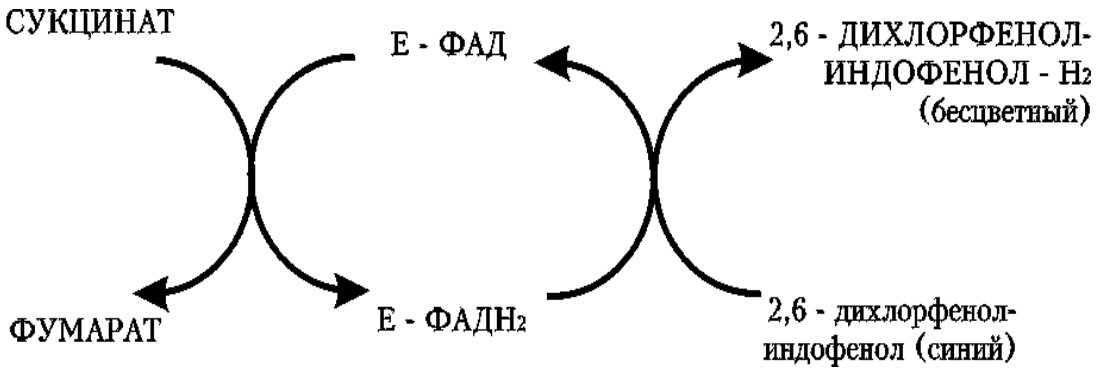


Сукцинат Фумарат

Работа дает представление о дегидрогеназных реакциях в ЦТК.

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:


СУКЦИНАТ
Е - ФАД
2,6 - ДИХЛОРФЕНОЛ-
ИНДОФЕНОЛ - H2
(бесцветный)
ФУМАРАТ
Е - ФАДН2
2,6 - дихлорфенол-
индофенол (синий)

Малонат является конкурентным ингибитором фермента СДГ.

ХОД РАБОТЫ:

А. Получение ферментного препарата

2 г свежих мышц измельчают ножницами, гомогенизируют с небольшим количеством воды. Мышечную кашицу переносят на двойной слой марли (воронка) и промывают 25 мл воды. Отжатую мышечную массу переносят в пробирку, добавляют 4 мл воды, размешивают стеклянной палочкой и суспензию равномерно разливают в 4 пробирки.

Б. Определение активности фермента

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

№ пробирки / отмерить	**1**	**2**	**3**	**4**
Ферментный препарат (гомогенат ткани)	1,0 мл кипячение 2 минуты	1,0 мл -	1,0 мл -	1,0 мл -
H_2O	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			

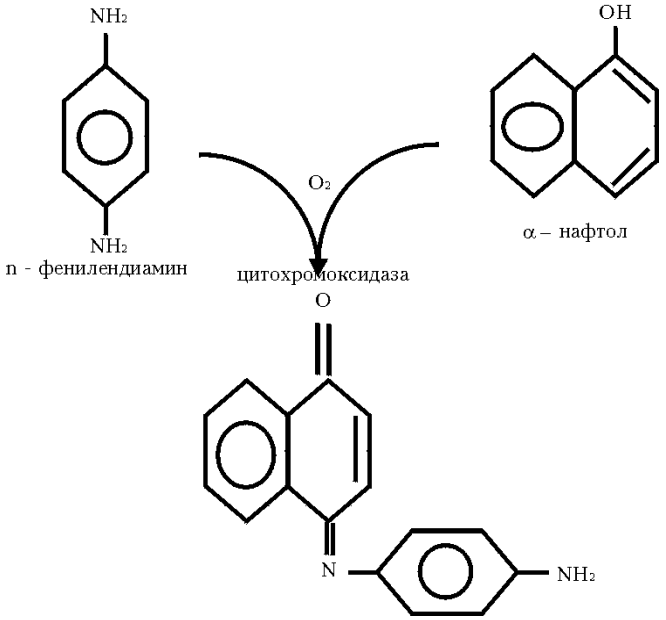
РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Цитохромоксидаза является хромопротеином, содержит геминовую 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:

А. Получение ферментного препарата

0,5 г свежих мышц растирают в ступке с 10 мл H_2O. Воду сливают, мышечную ткань просушивают фильтровальной бумагой.

Б. Определение активности фермента

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 обе порции мышц наносят по 2 капли реактива «Нади» (смесь п-фенилендиамина и α-нафтола). Инкубация 5-10 минут, при температуре 18°C (комнатная).

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 16

РАБОТА № 1. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА АДРЕНАЛИН

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. В мозговом слое надпочечников синтезируются катехоламины из аминокислоты тирозина. Адреналин и норадреналин способствуют распаду гликогена, стимулируют фосфорилазную 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_2O дист. Раствор адреналина $FeCl_3$	10 капель - 1 капля	- 10 капель 1 капля
	Окрашивание слабо-желтое за счет $FeCl_3$	Наблюдается зеленое окрашивание
NaOH, 10%	3 капли	3 капли
	Окраска не изменилась	Наблюдается вишнево-красное окрашивание

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

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.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 17

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ГОРМОНЫ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить рабочую таблицу, в которой суммировать сведения, характеризирующие важнейшие гормоны организма: тироксин, инсулин, глюкагон, глюкокортикоиды, минералокортикоиды, адреналин, паратгормон, кальцитонин, женские и мужские половые гормоны, соматотропный гормон.
2. Выступления студентов с подготовленными рефератами по предложенным темам.

Обсуждение реферативных докладов.

Примерные 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.

Таблица – Характеристика основных гормонов

Гормон	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани-мишени

Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

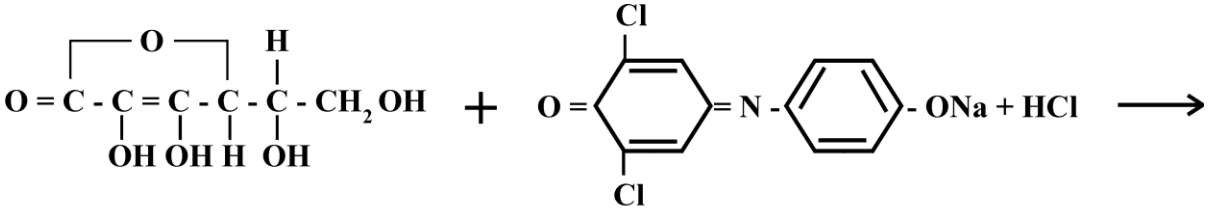
Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 18

РАБОТА № 1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С

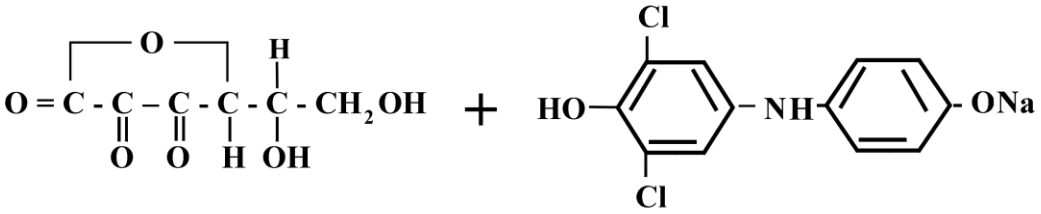
ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Витамин С участвует в окислительно-восстановительных процессах; в синтезе стероидных гормонов и катехоламинов в надпочечниках; как кофактор ферментов гидроксилаз (катализирующих превращение пролина в оксипролин); ускоряет всасывание железа, активирует пепсиноген. Недостаток 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 колбочку.

ОТМЕРИТЬ	**О П Ы Т**
М о ч а	10,0 мл
H_2O 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
А – 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 :

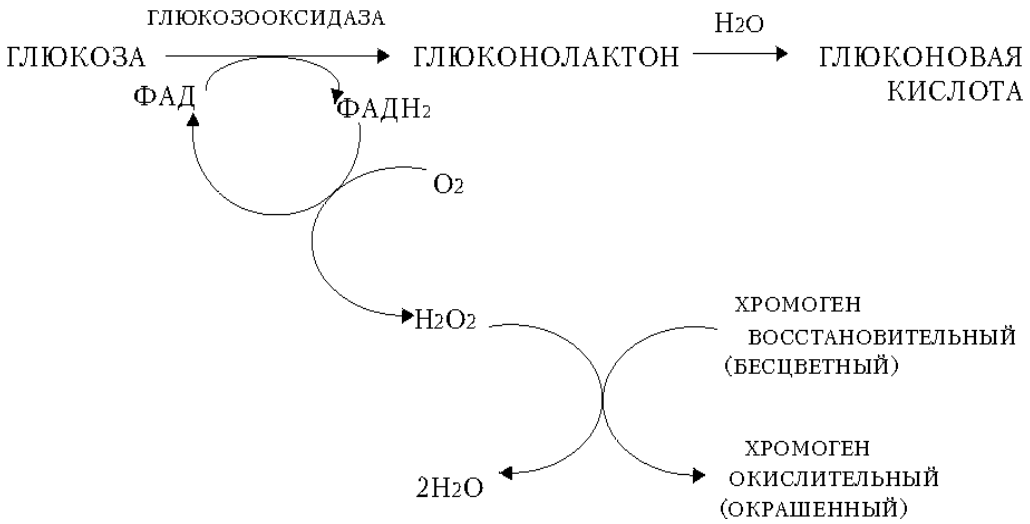
Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 19
РАБОТА № 1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ. ЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ (ГЛЮКОЗООКСИДАЗНЫЙ) МЕТОД

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 определения содержания глюкозы в крови используется энзиматический метод, основанный на окислении глюкозы глюкозооксидазой до глюконовой кислоты в присутствии кислорода воздуха. Метод является высокоспецифическим для определения
D-глюкозы в присутствии других востанавливающих 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 $ФАДН_2$. Последний передает атомы водорода на молекулярный кислород с образованием H_2O_2. Далее H_2O_2 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_2O	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 37º 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:

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

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, острый панкреатит, инфаркт миокарда,

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: инсулинома, передозировка инсулина при лечении сахарного диабета, дефицит глюкагона, болезнь Аддисона, гипотиреоз, отравление мышьяком, четыреххлористым углеродом, фосфором, бензолом, нарушение всасывания углеводов, гликогенозы, у детей от больных диабетом матерей.

В Ы В О Д :

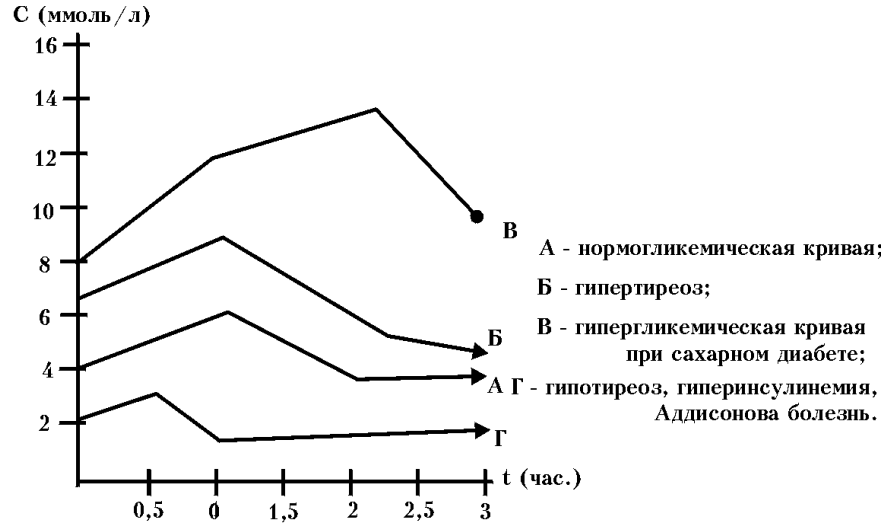
Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 20
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.

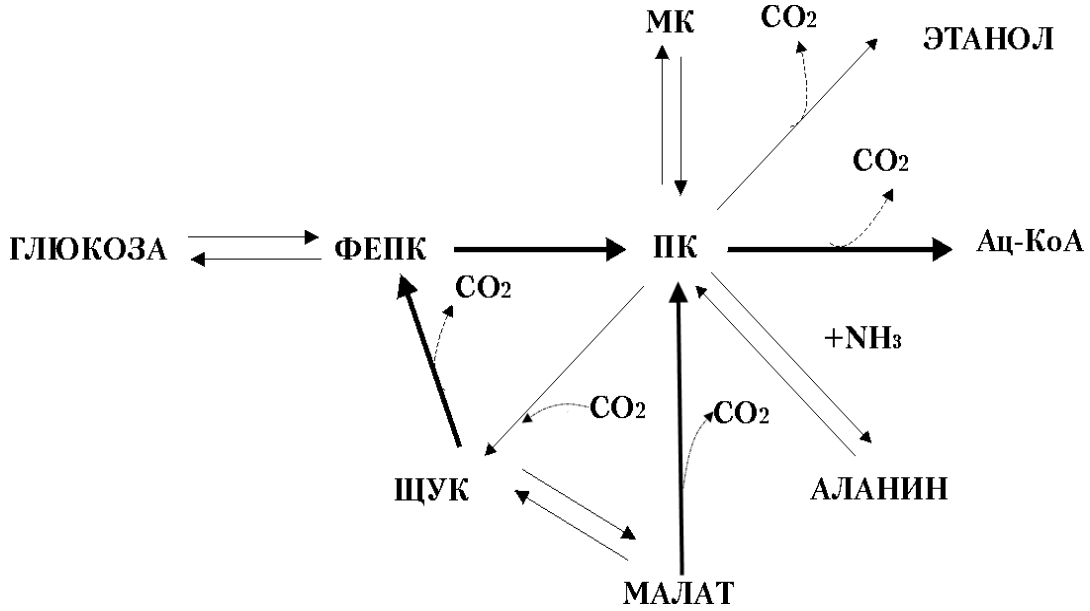
РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

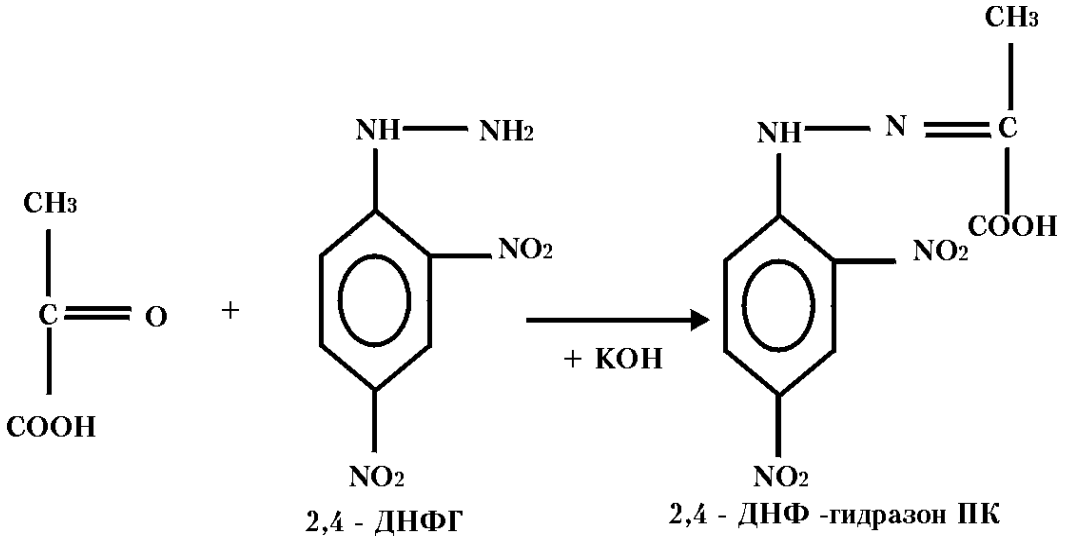
Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 21
РАБОТА № 1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ

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



ПРИНЦИП И ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ 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
H_2O	1,0 мл	-
Моча	-	1,0 мл
КОН (25 % спиртовой раствор)	1,0 мл	1,0 мл
	Перемешать содержимое обеих пробирок одновременно, 1 мин.	
Раствор 2,4-ДНФГ (0,1 %)	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.

С = …. • 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 B_1, при сахарном диабете, сердечной недостаточности, гиперфункции гипофизарно-адреналовой системы.

В Ы В О Д :

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 22

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту углеводного обмена.
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, гликогенфосфорилаза, глюкозо-6-ф-дегидрогеназа).

2.3. Регуляторные ферменты гликолиза, метаболизма гликогена, глюконеогенеза, пентозофосфатного пути.

2.4. Витаминзависимые ферменты.

3. Решение и обсуждение ситуационных задач.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 24

РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИГЛИЦЕРИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ПРИНЦИП МЕТОДА. Освободившийся в процессе расщепления триглицеридов глицерол превращается в глицерол-3-фосфат под действием глицеролкиназы. Глицерол-3-фосфат окисляется глицерофосфатоксидазой до диоксиацетонфосфата с образованием H_2O_2. Далее H_2O_2 расщепляется пероксидазой на воду и атомарный кислород, который и окисляет хининиминовый краситель. Оптическая плотность образующегося 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 37º С			
ФЭК, λ = 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:

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

$$\frac{}{E_{ст}}$$

От рассчитанной концентрации ТГ вычесть 0,11 ммоль/л (это концентрация свободного глицерина в сыворотке).

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание триглицеридов 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 печени апопротеина В.

В Ы В О Д :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 25

РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО ХОЛЕСТЕРИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (энзиматический метод)

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. В организм человека холестерин 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.

ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЕТОДА:

$$\text{Эфиры холестерина} + H_2O \xrightarrow{\text{холестеролэстераза}} \text{Холестерин} + \text{Жирные кислоты}$$

$$\text{Холестерин} + O_2 \xrightarrow{\text{холестеролоксидаза}} \text{Продукт окисления холестерина} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{Хининиминовый краситель (восстановленный) бесцветный} \xrightarrow{\text{пероксидаза}} \text{Хининиминовый краситель (окисленный) окрашенный} + 2H_2O$$

Интенсивность окраски красителя прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки

Проба / **Отмерить**	**Контроль**	**Стандарт**	**Опыт**
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 20-25^{0}С или 10 минут при 37^{0}С.

Фотометрия против контроля при λ = 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 (**гиперхолестеринемия**) наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, механической желтухе, нефрозе, гипотиреозе, гиперлипопротеинемии II-IV типа. Понижение холестерина в крови (**гипохолестеринемия**) наблюдается при гипертиреозе, голодании, анемии, туберкулезе, раковой кахексии, лихорадочных состояниях, паренхиматозной желтухе, циррозе печени.

В Ы В О Д :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 26

РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ (ЛПНП) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. ЛПНП (β-липопротеины) содержат в своем составе 40% холестерина, транспортируют этот стероид в сыворотке крови. Количество ЛПНП изменяется при нарушении метаболизма холестерина в организме.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ 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.

ПРОБА / **ОТМЕРИТЬ**	**ОПЫТ**
Раствор $CaCl_2$ 0,27% Сыворотка крови	2 мл 0,2 мл Перемешать. ФЭК, λ = 630 нм, кювета 5 мм, определить E_1 против H_2O. Перелить раствор в пробирку.
Гепарин, 1%	0,04 мл Перемешать. Инкубация ровно 4 минуты Определить в тех же условиях E_2 против H_2O.

РЕЗУЛЬТАТ: E_1 = ;
E_2 = .

РАСЧЕТ: концентрация ЛПНП = $(E_2 – E_1) \cdot 100 =$ 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 II типа.

В Ы В О Д :

*Дата*_____

ЗАНЯТИЕ № 27

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту липидного обмена.
2. На карте отметить:
   - 2.1. Диагностически значимые субстраты (общие липиды, 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 и обсуждение ситуационных задач.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 29

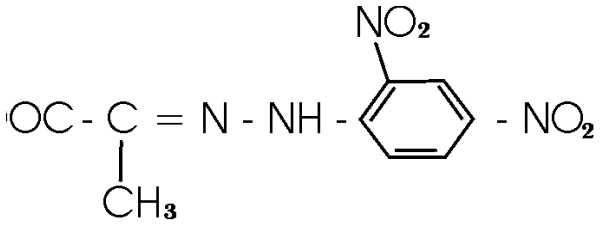
РАБОТА № 26. АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНО-ТРАНСФЕРАЗЫ (АлАТ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Аминотрансферазы – ферменты, катализирующие перенос аминогруппы с аминокислот на кетокислоты. В качестве кофермента ферменты содержат производное витамина B_6 – пиридоксальфосфат и пиридоксаминфосфат. Активность аминотрансфераз отражает состояние аминокислотного обмена в печени, сердечной мышце, почках, скелетной мускулатуре и других органах.

ПРИНЦИП МЕТОДА: аланинаминотрансфераза катализирует реакцию:

$$\text{аланин} + \text{2-кетоглутаровая кислота} \xrightleftharpoons[B_6]{\text{АлАТ}} \text{глутаминовая кислота} + \text{пировиноградная кислота}$$

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 ПК 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: Е =

По калибровачному графику активность АлАТ составляет ммоль/ч•л

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови в норме: 0,1-0,68 ммоль/ч•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 :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 30

РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВИНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (ДИАЦЕТИЛМОНООКСИМНЫЙ 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: мочевина образует с диацетилмонооксимом в сильнокислой среде в присутствии тиосемикарбазида и ионов трехвалентного железа комплексное соединение красного цвета, по интенсивности окраски которого определяют ее концентрацию.

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

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Рабочий раствор	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Дистилл. вода	0,1 мл	-	
Стандартный раствор мочевины(16,65 ммоль/л)	-	0,1 мл	-
Сыворотка крови	-	-	0,1 мл

Все пробирки поместить в водяную баню при температуре 100°С в течение 5 минут.

Охладить и произвести измерение экстинкции против контроля при 500-560 нм; кювета 0,5 см. Измерения проводят в пределах 15 минут.

РЕЗУЛЬТАТ:

$E_{оп}$ = ;
$E_{ст}$ = ;
$C_{ст}$ = 16,65 ммоль/л.

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{E_{оп}}{E_{ст}} \cdot 16{,}65 = \text{ммоль/л}$$

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

В Ы В О Д :

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 31
САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ АУДИТОРНАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ АМИНОКИСЛОТ. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ»

Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту аминокислотного обмена.
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 конечными продуктами распада аминокислот.
   2.7. Конечные продукты распада аминокислот и нуклеотидов и их нормы в крови.
3. Решение и обсуждение ситуационных задач.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 32

РАБОТА № 1. 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: 1. Определение общего билирубина:

РЕАГЕНТЫ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
1. Общий реагент 2. Физ. р-р (NaCl, 0,9%) 3. Общий нитрит-реагент	1,0 мл 0,04 мл –	1,0 мл – 0,04 мл
Перемешать, инкубировать при температуре 18°С 5 мин.		
4. Сыворотка	0,1 мл	0,1 мл
Перемешать, инкубировать при температуре 18°С 20 мин.		

ФЭК (546 нм), кювета 0,5 см. E_1 =

2. Определение прямого билирубина:

РЕАГЕНТЫ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
1. Прямой реагент 2. Физ. р-р (NaCl, 0,9%) 3. Прямой нитрит-реагент	1,0 мл 0,04 мл –	1,0 мл – 0,04 мл
Перемешать, инкубировать при температуре 18°С 2 мин.		
4. Сыворотка	0,1 мл	0,1 мл
Перемешать, инкубировать при температуре 18°С 5 мин.		

ФЭК (546 нм), кювета 0,5 см.

РЕЗУЛЬТАТ:

1. Концентрацию общего билирубина рассчитывают по формуле:

$C_{\text{общ. билирубина}} = E_1 \cdot 222{,}3$ мкмоль/л =

2. Концентрацию прямого билирубина рассчитывают по формуле:

$C_{\text{прям. билирубина}} = E_2 \cdot 222{,}3$ 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; свободного билирубина (непрямого) – 1,7-17,1 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 :

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 33

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.

Проба / **Отмерить**	**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:

$C_0 = E_0 \cdot 392 =$ 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, условия высокогорья), при язвенной болезни, у новорожденных в первые часы жизни.

Снижение концентрации гемоглобина наблюдается при анемии, наследственных и гемолитических гемоглобинопатиях, дефиците витаминов B_{12}, 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.

ВНЕСТИ	**КОНТРОЛЬ**	**СТАНДАРТ**	**ОПЫТ**
Рабочий реактив, мл	1	1	1
H_2O, мл	0,01	-	-
Стандарт Са, мл	-	0,01	-
Сыворотка крови мл	-	-	0,01

Перемешать, инкубация 5-10 мин. Измерить оптическую плотность опыта и стандарта относительно контроля в интервале 5-12 мин. при $\lambda = 574$ нм, кювета 0,5 см.

РЕЗУЛЬТАТ: $E_0 =$

$E_{ст} =$

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

Стандарт кальция = 2,5 ммоль/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

В Ы В О Д :

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 34
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
H_2O	1,0 мл	-
Сульфосалицилат 20% (или наслоение на концентрированную азотную кислоту – HNO_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 Моча H_2O	неразвед. 1,0 мл -	1 : 10 0,1 мл 0,9 мл	1 : 20 0,1 мл 1,9 мл	1 :30 0,1 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 Моча	9 капель 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**

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 35

РАБОТА № 1: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА В СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Содержание белка в спинномозговой жидкости, 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.

ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЕТОДА. Раствор белка в щелочной среде в присутствии сульфата меди ($NaOH/CuSO_4$) 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	-
СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ	-	0,1 мл
Перемешать, фотометрия через 20 минут. Кювета – 1 см, λ=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.

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

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

В Ы В О Д :

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ОСНОВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ВЗРОСЛЫХ

Показатель	Значение
КРОВЬ	
АлАТ	0,1–0,68 ммоль/ч•л
Альбумины	40–50 г/л
Амилаза	16–30 г/ч•л
АсАТ	0,1–0,45 ммоль/ч•л
Белок общий	65–85 г/л
Билирубин общий	5,0–20,5 мкмоль/л
Гемоглобин	115–145 г/л (женщины) 130–160 г/л (мужчины)
Глюкоза	3,3–6,4 ммоль/л
Железо	8,8–31,0 мкмоль/л
Калий	3,2–5,6 ммоль/л
Кальций	2,25–2,75 ммоль/л
Креатинин	53–115 мкмоль/л
Мочевая кислота	140–340 мколь/л у женщин 200–415 мкмоль/л у мужчин
Мочевина	2,5–8,3 ммоль/л
Натрий	130–155 ммоль/л
Триглицериды	0,4–1,54 г/л у женщин 0,45–1,82 у мужчин
Фибриноген	2–4 г/л
Хлориды	95–110 ммоль/л
Холестерин	3,6–5,2 ммоль/л
МОЧА	
Амилаза	28–160 г/ч•л
Мочевая кислота	1,6–6,4 ммоль/сут
Мочевина	333–583 ммоль/сут
СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ	
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 pH 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 pH 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, плазмида 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 гемопротеинов.

Гемоглобин – гемсодержащий белок эритроцитов, принимающий участие в переносе 0_2.

Гемопротеин – 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.

Дезаминирование – 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 нор-

мальных концентрациях глюкозы в крови.

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

Дисульфидный мостик – ковалентная поперечная связь, образующаяся 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 З'-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 углеродной 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 pH, 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.

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

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

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

Инициирующий комплекс – комплекс рибосомы с мРНК и инициирующей 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 хроматографических 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 (кетоацидоз) – 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 коор-

динационными 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.

Липопротеини – 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), секретируемое 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 ретикулума 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-CoA 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 ADP в ATP, 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 pH – значение pH, 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

пиродоксин и участвующий в реакциях переноса аминогрупп.

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.

Разобщающий 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 рибонуклеотид ные 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 структуру 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 циклопентанфенантреновую 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 pH среды, при

которой концентрация положительных и отрицательных ионов одинакова.

Трансаминирование – ферментативный перенос аминогруппы 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°С.

Уравнение Лайнуивера-Берка – уравнение, полученное путем алгебраического преобразования уравнения Михаэлиса-Мен-тен, позволяющее более точно определить величины V_{max} и $К_м$.

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 простетической 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.

Фосфоролиз – 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 злокачественных 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.

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

СПИСОК ЭКЗАМЕНАЦИОННЫХ ВОПРОСОВ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА

I. ВВЕДЕНИЕ:

1. Предмет и задачи биологической химии. Место биохимии в медицинском образовании. Объекты биохимического исследования. Методы биохимии.

2. Важнейшие этапы в истории биохимии. Основные разделы и современные направления науки. Развитие биохимии в Белоруссии.

II. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ:

3. Белки, история изучения. Гидролиз белков. Аминокислоты, строение, представители, классификация.

4. Цветные реакции на аминокислоты и белки. Методы количественного определения белка.

5. Физико-химические свойства белков. Размеры и форма белковых молекул.

6. Осаждение белков (обратимое и необратимое).

7. Методы выделения и очистки белков. Белковые препараты (гормоны, ферменты).

8. Пептиды. Классификация, биологические функции, представители.

9. Первичная структура белка, методы установления, ее связь с биологическими свойствами и специфичностью белков.

10. Вторичная структура белка, виды, методы установления, связи, стабилизирующие вторичную структуру. Надвторичная структура.

11. Третичная структура белковой молекулы, методы установления, виды стабилизирующих связей, ее роль в функционировании белка.

12. Денатурация белков, факторы и механизмы денатурации. Использование денатурации в медицине и промышленности,

13. Четвертичная структура белка, виды связей, биологический смысл. Функциональные особенности белков с

четвертичной структурой.

14. Механизмы функционирования белков: взаимодействие белок-лиганд, белок-белок.

15. Многообразие белков и их функции.

16. Различие белкового состава органов и тканей. Изменение белкового состава в онтогенезе и при болезнях.

17. Простые белки, представители, краткая характеристика, биологические функции.

18. Общие представления о сложных белках, краткая характеристика, представители.

III. ФЕРМЕНТЫ:

19. История открытия и изучения ферментов. Химическая природа ферментов. Особенности ферментативного катализа.

20. Механизм действия ферментов. Активный и аллостерический центры. Специфичность действия ферментов.

21. Классификация и номенклатура ферментов. Представление об изоферментах.

22. Кинетика ферментативных реакций. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.

23. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, pH, концентрации субстрата и фермента.

24. Простые и сложные ферменты. Кофакторы ферментов. Коферментные функции витаминов.

25. Регуляция действия ферментов: аллостерические активаторы и ингибиторы, регуляция путем ковалентной модификации и частичным протеолизом.

26. Ингибирование ферментов: обратимое, (конкурентное, неконкурентное), необратимое. Лекарственные препараты - ингибиторы ферментов.

27. Различие ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты. Изменение ферментного состава в онтогенезе,

28. Изменение активности ферментов при болезнях. Первичные и вторичные энзимопатии.

29. Происхождение ферментов крови. Изменение активности ферментов плазмы крови при патологии, определение

их активности с диагностической целью.

30. Применение ферментов для лечения болезней. Лекарственные ферментативные препараты.

31. Методы определения ферментативной активности. Единицы измерения активности и количества ферментов.

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

32. История открытия и изучения нуклеиновых кислот.

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. Химический состав и 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. Основные свойства генетического кода.

40. Адапторная функция тРНК. Образование и строение аминоацил-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. Методы идентификации белков. Вестерн-блот.

45. Полимеразная цепная реакция – этапы и применение.

46. Блот-анализ ДНК и РНК. Геномная дактилоскопия.

47. Гибридизация ДНК-ДНК, ДНК-РНК. Методы исследования структуры нуклеиновых кислот. Выяснение последовательности нуклеотидов ДНК методом Сэнджера.

48. Клонирование, генная инженерия.

V. ГОРМОНЫ:

49. Общая характеристика гормонов: свойства, типы биологического действия. Клиническое применение гормонов.

50. Классификация гормонов. Клетки – мишени и клеточные рецепторы гормонов,

51. Особенности механизма действия гормонов белковой, пептидной и аминокислотной природы. Посредники в действии гормонов на клетку: циклические нуклеотиды, ионы кальция, продукты гидролиза фосфатидилинозитолов. Протеинкиназы, их роль в механизмах изменения активности ферментов.

52. Механизм действия гормонов, связывающихся с внутриклеточными рецепторами. Влияние на синтез белков.

53. Тиреоидные гормоны: строение, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция гормонов.

54. Гормональная регуляция обмена кальция и фосфора. Гипер- и гипопродукция паратгормона.

55. Инсулин и глюкагон, строение, ткани-мишени, влияние на обмен веществ. Сахарный диабет, гиперинсулинизм: метаболические последствия.

56. Адреналин и норадреналин, синтез, строение, влияние на обмен веществ и функции. Гиперпродукция адреналина.

57. Глюкокортикоиды, строение кортизола, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.

58. Минералокортикоиды, строение альдостерона, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция гормона.

59. Женские половые гормоны, строение эстрадиола и прогестерона, влияние на обмен веществ и функции. Последствия избытка и недостатка гормонов.

60. Мужские половые гормоны, строение тестостерона, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.

61. Гормоны гипоталамуса и гипофиза, их биологическое действие. Соматотропин, кортикотропин, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция соматотропина.

62. Эйкозаноиды (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены) и их роль в регуляции метаболизма и

физиологических функций.

VI. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ. ВИТАМИНЫ:

63. Состав пищи человека, значение питания для жизнедеятельности. Нарушения питания.

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 B_1. Строение, свойства, активная форма, участие в метаболизме, пищевые источники, суточная потребность. Проявления недостаточности.

72. Витамин B_2. 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 B_6. Строение, свойства, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.

75. Пантотеновая кислота. Строение, свойства, активная

форма (HS-KoA), 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 B_{12}. Активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.

80. Антивитамины, механизм действия, представители, их использование в медицине и научных исследованиях.

VII. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН:

81. Строение и функции биологических мембран. Липидный и белковый состав мембран.

82. Общие свойства мембран. Механизмы мембранного транспорта. Особенности строения мембран органоидов клетки.

VIII. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ:

83. Понятие о метаболизме и метаболических путях. Методы исследования обмена веществ.

84. Общие и специфические пути катаболизма. Связь между анаболизмом и катаболизмом.

IX. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. ЦТК:

85. Представление об энергетике клетки, фототрофы, хемотрофы. Макроэргические субстраты, строение.

86. АТФ, строение, пути образования и использования, биологическая роль.

87. Представления о биологическом окислении. Тканевое дыхание.

88. $НАД^+$ ($НАДФ^+$)-завимые дегидрогеназы, строение,

биологическая роль.

89. ФАД (ФМН)-зависимые дегидрогеназы, строение, биологическая роль.

90. Убихинон, строение, биологические функции.

91. Система цитохромов цепи тканевого дыхания, строение, биологические функции.

92. Строение митохондрий и структурная организация ЦТД. Полиферментные комплексы митохондрий и их строение.

93. Окислительное фосфорилирование АДФ, механизмы, теория Митчелла. Коэффициент Р/О.

94. Регуляция цепи тканевого дыхания. Активаторы, ингибиторы, разобщители ЦТД и окислительного фосфорилирования. Нарушения энергетического обмена (гипоксии, гиповитаминозы РР, B_2).

95. Типы окисления: оксидазный, пероксидазный, диоксигеназный, монооксигеназный - ферменты, биологическая роль.

96. Микросомальное окисление, схема, биологическая роль.

97. Активные формы кислорода, образование, повреждающее действие. Перекисное окисление липидов.

98. Характеристика ферментативных и неферментативных звеньев антиоксидантной системы.

99. Цикл трикарбоновых кислот, последовательность реакций.

100. Схема ЦТК, регуляция, биологическая роль.

101. Энергетика ЦТК, связь с ЦТД.

X. ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ:

102. Углеводы, классификация, распространение, биологические функции, содержание в тканях человека.

103. Основные углеводы пищи их характеристика. Переваривание и всасывание углеводов в пищеварительном тракте, патология.

104. Глюкоза, пути метаболизма в организме, общая характеристика, биологические функции. Фосфорилирование глюкозы и дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата.

105. Метаболизм галактозы и лактозы, нарушения обмена.

106. Метаболизм фруктозы, нарушения обмена.

107. Анаэробный гликолиз, последовательность реакций,

биологическое значение.

108. Гликолитическая оксидоредукция в анаэробном гликолизе. Реакции субстратного фосфорилирования АДФ в гликолизе.

109. Энергетика и биологическая роль анаэробного гликолиза, его регуляция.

110. Аэробный гликолиз, последовательность реакций.

111. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, механизм реакции, регуляция, биологическая роль.

112. Энергетика аэробного гликолиза, его биологическая роль. Схема метаболизма пировиноградной кислоты,

113. Метаболизм молочной кислоты. Метаболические предшественники глюкозы. Схема глюконеогенеза.

114. Основные реакции глюконеогенеза, роль биотина. Регуляция и физиологическое значение глюконеогенеза.

115. Пентозофосфатный путь (ПФП), окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.

116. Путь глюкуроновой кислоты. Основные реакции, биологическая роль.

117. Синтез гликогена, регуляция.

118. Расщепление гликогена, регуляция. Биологическая роль гликогена.

119. Врожденная патология обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.

120. Регуляция гликемии (механизмы и факторы). Гипергликемии и гипогликемии, их причины. Методы количественного определения глюкозы в крови.

121. Нарушение углеводного обмена при сахарном диабете.

122. Тест толерантности к глюкозе, методика проведения и его диагностическое значение.

XI. ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ:

123. Понятие «липиды». 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. Ресинтез триглицеридов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт.

126. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.

127. β-Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.

128. Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов.

129. Реакции образования и утилизации кетоновых тел. Механизм избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.

130. Образование малонил-КоА. Синтаза жирных кислот. Источники ацетил-КоА и $НАДФН_2$ для синтеза жирных кислот.

131. Последовательность реакций синтеза жирных кислот (на примере пальмитиновой кислоты).

132. Синтез и мобилизация триацилглицеролов. Роль гормонов в регуляции этих процессов.

133. Биосинтез глицерофосфолипидов. Жировое перерождение печени. Роль липотропных факторов.

134. Метаболизм холестерола в организме. Транспорт холестерола в крови.

135. Схема синтеза холестерола, этапы, регуляция. Начальные реакции синтеза холестерола.

136. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции. Желчекаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.

137. Представление о метаболизме сфингофосфолипидов и гликолипидов. Врожденные нарушения обмена этих соединений (сфинголипидозы).

138. Биохимия атеросклероза, роль гиперхолестеринемии и других факторов риска. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.

139. Транспорт липидов и жирных кислот в крови, роль альбуминов. Характеристика липопротеинов.

140. Метаболизм липопротеинов: их образование и

утилизация. Липопротеинлипаза и её роль в обмене липопротеинов. Роль апопротеинов.

141. Первичные и вторичные гиперлипопротеинемии, их причины.

XII ОБМЕН И ФУНКЦИИ АМИНОКИСЛОТ:

142. Динамическое состояние белков организма. Представление об азотистом балансе организма человека. Источники и пути расходования аминокислот в тканях.

143. Пищевые белки, переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Всасывание аминокислот.

144. Превращение аминокислот микрофлорой кишечника.

145. Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование и восстановительное аминирование.

146. Трансаминирование аминокислот, ферменты. Коферментная функция витамина В6. Механизм трансаминирования аминокислот. Биологическое значение.

147. . Трансдезаминирование. Биологическое значение.

148. Декарбоксилирование аминокислот, типы, биологическое значение. Биогенные амины, синтез, их функции, реакции окисления.

149. Пути образования и обезвреживания аммиака в организме. Тканевое обезвреживание аммиака.

150. Биосинтез мочевины. Нарушения синтеза и выведения мочевины.

151. Пути катаболизма аминокислот в организме. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.

152. Метаболизм метионина: образование S-аденозил-метионина, его участие в реакциях трансметилирования, реакции синтеза креатина. Липотропное действие метионина.

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

XIII. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ:

154. Биосинтез пуриновых нуклеотидов: реакции биосинтеза фосфорибозиламина, происхождение атомов пуринового ядра. Инозиновая кислота как предшественник

адениловой и гуаниловой кислот. Регуляция биосинтеза пуриновых нуклеотидов.

155. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов. Регуляция биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.

156. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях. Распад пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

157. Нарушения обмена нуклеотидов: подагра, ксантинурия, оротацидурия.

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

158. Компартментализация жидкостей в организме, их состав, объем, осмоляльность, pH. Биологические функции воды в организме. Водный баланс.

159. Механизмы регуляции объема, электролитного состава, pH жидкостей организма.

160. Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия.

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

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

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

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

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

166. Моча, общие свойства. Химический состав мочи.

167. Патологические компоненты мочи. Клинико-диагностическое значение биохимического анализа мочи.

XV. ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА:

168. Уровни взаимосвязи метаболизма. Субстратные взаимосвязи. Роль субстратов ЦТК во взаимосвязи обменов.

169. Энергетические взаимосвязи между катаболическими

и анаболическими путями.

170. Субстратные взаимосвязи метаболизма углеводов и аминокислот. Биосинтез липидов из углеводов и аминокислот. Взаимосвязь обменов посредством коферментов.

XVI. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА:

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

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

XVII. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ:

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

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

175. Реакции синтеза гема, субстраты, ферменты.

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

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

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

XVIII. БИОХИМИЯ КРОВИ

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

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

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

182. Белки сыворотки крови, их характеристика. Классификация по функциям.

183. Ферменты крови, диагностическое значение. Белки острой фазы.

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

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

186. Противосвертывающие системы крови (антикоагуляционная и фибринолитическая).

187. Патологии свертывающей и противосвертывающей системы. Представление о тромбозах и гемофилии.

188. Биохимический анализ крови, основные показатели, клинико-диагностическое значение.

XIX. БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ:

189. Химический состав нервной ткани. Транспорт веществ в ткани мозга, роль гематоэнцефалического барьера. Аксональный транспорт.

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

191. Биохимические механизмы возникновения и проведения нервного импульса. Молекулярные механизмы синаптической передачи.

192. Нейромедиаторы: ацетилхолин, катехоламины, серотонин, ГАМК. Синтез, функции.

XX БИОХИМИЯ МЫШЦ:

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

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

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

XXI. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ:

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

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

XXII. ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

198. Роль клинической биохимии в диагностике и лечении заболеваний.

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

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

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ЭКЗАМЕНАЦИОННЫЕ ВОПРОСЫ СТУДЕНТАМ МЕДИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

(специальность медико-диагностическое дело)

XXIII. БИОХИМИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

1. Факторы, вызывающие воспаление. Стадии воспаления, их характеристика.
2. Клетки и медиаторы воспаления.
3. Биохимические изменения при воспалении.
4. Белки острой фазы.
5. Первичные и вторичные диспротеинемии.
6. Дефекты белков свертывания крови. Гемоглобинопатии.
7. Первичные и вторичные энзимопатии.
8. Энзимопатии углеводного обмена: галактоземия, недостаточность дисахаридаз, гликогенозы.
9. Нарушения обмена мукополисахаридов.
10. Энзимопатии липидного обмена. Сфинголипидозы.
11. Нарушения обмена аминокислот, пуринов и пиримидинов.
12. Нарушения обмена порфиринов.
13. Эндокринопатии, основные этиологические механизмы.
14. Несахарный диабет, разновидности, характеричтика.
15. Болезнь Аддисона, синдром Кушинга, синдром Кона.
16. Гипертиреоз, гипотиреоз – разновидности, характеристика.
17. Гликемия, механизмы ее регуляции.
18. Нарушения переваривания и всасывания углеводов.
19. Сахарный диабет: основные формы, нарушения метаболизма, механизмы развития поздних осложнений.
20. Нарушения обмена гликогена – гликогенозы, агликогеноз.
21. Непереносимость лактозы, нарушения метаболизма фруктозы.
22. Нарушения переваривания и всасывания липидов.
23. Дислипопротеинемии – классификация, характеристика отдельных форм.

24. Гиперхолестеролемия. Биохимические аспекты атеросклероза.

25. Нарушения липидного обмена при ожирении и голодании.

26. Фенилкетонурия.

27. Нарушения метаболизма тирозина: тирозинозы, алкаптонурия, альбинизм.

28. Нарушения синтеза и выведения мочевины.

29. Подходы к лабораторной диагностике и лечению патологии метаболизма.

Для заметок

Учебное издание

Лелевич Владимир Валерьянович
Леднева Ирина Олеговна
Петушок Наталья Эдуардовна

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум
для студентов лечебного, медико-диагностического факультетов
и факультета иностранных учащихся
с русским языком обучения

3-е издание

Ответственный за выпуск В. В. Воробьев

Компьютерная верстка М. Я. Милевской
Корректор Л. С. Засельская

Подписано в печать 22.07.2016.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Times New Roman. Ризография.
Усл. печ. л. 7,44. Уч.-изд. л. 3,10. Тираж 455 экз. Заказ 180.

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