

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, обучающихся  
по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело»

Гродно  
ГрГМУ  
2021

УДК 577.1(076.5)  
ББК 52.57я73  
Л43

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

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

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

**Лелевич, В. В.**

Л43 Биологическая химия : практикум для студентов, обучающихся по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело» / В. В. Лелевич, И. О. Леднева, Н. Э. Петушок. – Гродно : ГрГМУ, 2021. – 176 с.  
ISBN 978-985-595-277-1.

Практикум по биологической химии для специальности 1-79 01 01 «Лечебное 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 978-985-595-277-1

© Лелевич В. В., Леднева И. О., Петушок Н. Э., 2021  
© ГрГМУ, 2021

## ПРЕДИСЛОВИЕ

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

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

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

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

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

*Коллектив авторов*

## МЕТОДИЧЕСКИЕ СОВЕТЫ СТУДЕНТАМ

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

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

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

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

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

## ТЕХНИКА ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ И БЕЗОПАСНОСТЬ ТРУДА

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

При работе в лаборатории необходимо соблюдать правила обращения с:

### **1. Биологическим материалом**

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

*После выполнения работы тщательно вымыть руки!*

### **2. Реактивами**

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

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

2.3. Реактивы необходимо предохранять от загрязнения.

2.4. Реактивы следует расходовать экономно.

2.5. Недопустимо набирать реагенты в мерные пипетки ртом.

### **3. Электрическими приборами**

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

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

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

### **4. Центрифугами в лабораторном практикуме**

4.1. В центрифугу помещают парное (четное) количество

уравновешенных пробирок.

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

4.3. Проверяют, чтобы центрифужная камера была закрыта крышкой.

4.4. Устанавливают необходимую скорость вращения ротора центрифуги.

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

4.6. Во время работы центрифуги запрещается открывать крышку камеры.

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

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

## **5. Газовыми и другими нагревательными приборами**

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

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

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

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

## **6. Водопроводом**

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

## **7. Химической посудой и вспомогательными приспособлениями для выполнения методик**

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

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

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 1

### **ТЕМА: ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

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

#### **Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе**

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

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

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

## **РАБОТА № 1. ОТРАБОТКА ПРАКТИЧЕСКИХ НАВЫКОВ ПОЛЬЗОВАНИЯ ПИПЕТКАМИ**

Пипетки служат для точного отмеривания определенного объема жидкости. В биохимии используют мерные стеклянные и автоматические (механические) пипетки. Последние могут быть фиксированного или переменного объема. Пипеткой фиксированного объема можно набирать только тот объем, который предусмотрен моделью данной пипетки. В пипетке переменного объема можно выбирать объем, необходимый для анализа, из заданного в модели диапазона (например, 20-200 или 100-1000 мкл). Выбор объема дозирования происходит с помощью специального регулировочного колёсика на корпусе пипетки.

### ***Правила пользования автоматическими пипетками:***

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

### **ХОД РАБОТЫ:**

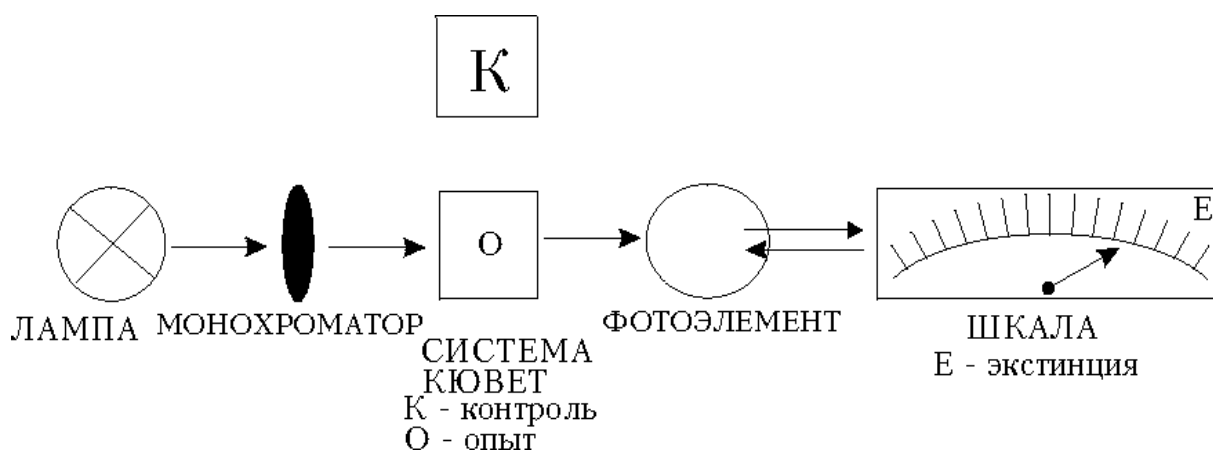
Имеющимися на рабочем месте пипетками произвести взятие разных объемов дистиллированной воды.

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

Колориметрическим методом определяют концентрацию веществ в окрашенных прозрачных растворах по интенсивности их окраски. В основу колориметрического метода анализа положен закон Ламберта-Бугера-Бера: поглощение света раствором



(экстинкция) прямо пропорционально концентрации вещества в этом растворе и зависит от толщины слоя (толщины кювет,  $l$ ). В фотометрии используют монохроматический свет (свет определенной длины волны,  $\lambda$ ). Измерения производят на специальных оптических приборах – фотоэлектрических фотометрах. Принцип действия фотометров основан на сравнении потока светового излучения, прошедшего через «контрольную пробу» (растворитель или контрольный раствор, по отношению к которому проводится измерение), и потока, прошедшего через исследуемый раствор («опыт»). Потoki излучения фотоэлементом преобразуются в электрические сигналы и представляются на шкале (индикаторе) в виде значения экстинкции. Принципиальная схема устройства фотометра представлена на рисунке:



**Правила работы на фотометре:**

- подсоединить фотометр к сети, включить тумблер «СЕТЬ», для установления рабочего режима фотометр необходимо выдержать не менее 10 минут с момента включения;
- ручкой установки длин волн установить необходимую длину волны;
- установить в кюветное отделение кюветы с «контрольной пробой» и исследуемым раствором, кювету с «контрольной пробой» установить в дальнее гнездо кюветодержателя, а кювету с исследуемым раствором – в ближнее;
- ручку перемещения кювет расположить так, чтобы в световой пучок попала «контрольная проба»;
- закрыть крышку кюветного отделения;

- следуя инструкции, размещенной у фотометра, установить нулевое (исходное) значение экстинкции;
- с помощью ручки перемещения кювет ввести в пучок света исследуемый раствор (опыт), на индикаторе отразится значение экстинкции.

### **Правила работы с кюветами:**

- рабочие поверхности кювет перед каждым измерением должны тщательно протираться;
- при установке кювет в кюветодержатели нельзя касаться рабочих участков поверхностей, наличие загрязнений или капель раствора на них приводит к получению неверных результатов;
- жидкость наливается в кюветы до метки на боковой стенке.

### **Расчет концентрации исследуемого вещества**

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

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

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

где  $C_0$  – концентрация опытной пробы;

$E_0$  – экстинкция опытной пробы;

$C_{ст}$  – концентрация стандартной пробы;

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

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

### **ХОД РАБОТЫ:**

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

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

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



Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 2**

### ***ТЕМА: БЕЛКИ: СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ***

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о физико-химических свойствах белка. Обучить методике выполнения цветных реакций на белки и аминокислоты. Освоить биуретовый метод определения концентрации белка.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. История изучения белков.
2. Белки – важнейшие компоненты живых организмов. Классификация белков по функциям, форме белковой молекулы. Содержание белков в тканях.
3. Аминокислотный состав белков; строение пептидов.
4. Физико-химические свойства белков, осаждение их из растворов.
5. Методы фракционирования и очистки белков: ультрацентрифугирование, электрофорез, хроматография, диализ.
6. Цветные реакции на белки и аминокислоты, их практическое применение.
7. Количественное определение белков в растворах и тканях.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

1. Цветные реакции на белки и аминокислоты, химические механизмы.
2. Принципы методов количественного определения белков в растворе:
  - а) колориметрические;
  - б) спектрофотометрический.
3. Клинико-диагностическое значение определения общего белка в сыворотке крови.

## РАБОТА № 1. ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛКИ И АМИНОКИСЛОТЫ

Существует два типа цветных реакций:

- 1) **универсальные** – биуретовая (на белки и пептиды); нингидриновая (на свободные аминогруппы в альфа-положении в составе белков, полипептидов и свободных аминокислот);
- 2) **специфические** – только на определенные аминокислоты как в молекуле белка, так и в растворах свободных аминокислот – ксантопротеиновая реакция (на ароматические аминокислоты), реакция Миллона (на тирозин), реакция Сакагучи (на аргинин) и др.

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

### 1.1. Биуретовая реакция

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Раствор белка в щелочной среде в присутствии сульфата меди ( $\text{NaOH}/\text{CuSO}_4$ ) окрашивается в **синевфиолетовый цвет**. Окраска обусловлена образованием комплексов ионов меди с пептидными связями белка, которых должно быть не менее двух. Интенсивность развивающейся окраски пропорциональна концентрации белка в растворе. Таким образом, эта реакция открывает **пептидную связь** в белках, а также низкомолекулярных пептидах.

**ХОД РАБОТЫ:** взять опытную пробирку.

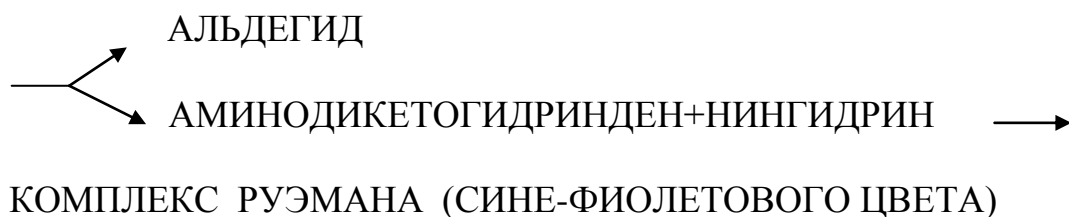
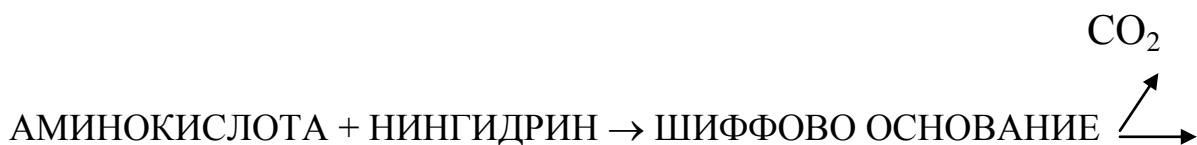
<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>О П Ы Т</b>
Раствор белка	5 капель
NaOH, 10 %	5 капель
$\text{CuSO}_4$ , 1 %	2 капли

**РЕЗУЛЬТАТ:**

В ы в о д:

## 2.2. Нингидриновая реакция

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



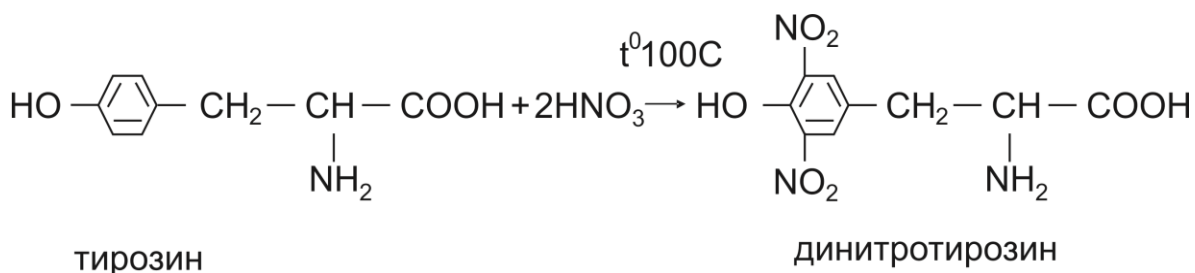
ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

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

РЕЗУЛЬТАТ:

В ы в о д:

### 3.3. Ксантопротеиновая реакция Мульдера (на ароматические аминокислоты)



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

**ХОД РАБОТЫ:** взять опытную пробирку.

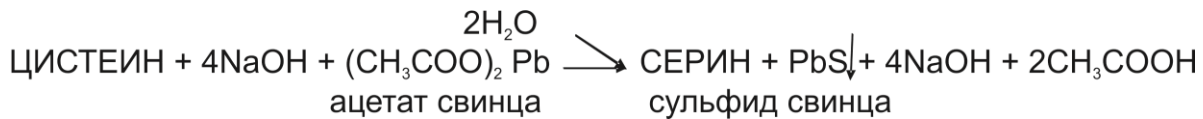
ОТМЕРИТЬ	О П Ы Т
раствор белка	5 капель
HNO <sub>3</sub> концентрированная	5 капель
Кипятить до появления окраски	

**РЕЗУЛЬТАТ:**

**В Ы В О Д:**

### 4.4. Реакция на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Реакция характерна для *слабосвязанной серы* в составе аминокислот *цистеина и цистина*. При нагревании раствора белка с реактивом Фоля (ацетата свинца в избытке NaOH) образуется конечный продукт – сульфид свинца – **черного цвета**.



**ХОД РАБОТЫ:** взять пробирку.

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

**РЕЗУЛЬТАТ:**

**В Ы В О Д:**

### **Количественное определение белков**

Существуют две группы методов количественного определения белков:

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



## РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА СЫВОРОТКИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** При добавлении реактива Горнала (NaOH/CuSO<sub>4</sub>) к раствору белка образуются соединения ионов меди с пептидными связями белка, окрашенные в сине-фиолетовый цвет. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка в сыворотке и определяется фотометрически.

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

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>КОНТРОЛЬ</b>	<b>О П Ы Т</b>
Реактив Горнала, мл	4,0	4,0
NaCl 0,9 %, мл	0,1	-
Сыворотка	-	0,1 мл
Перемешать. Колориметрия через 20 минут, $\lambda = 540$ нм, кювета 10 мм.		

Измерение на фотометре проводят против контрольной пробы и отмечают экстинкцию.

**РЕЗУЛЬТАТ:**

$E_0 =$

Конечный результат: определяют по калибровочному графику:

$C_0 =$  г/л

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

Повышение концентрации общего белка сыворотки крови – *гиперпротеинемия*.

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

*Относительная гиперпротеинемия* наблюдается при обезвоживании причинами которого являются рвота, понос, ожоги, несахарный диабет, хронический нефрит в стадии полиурии.

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

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

**В Ы В О Д :**

## **ЗАДАНИЕ.**

- 1) Подчеркните ароматические аминокислоты: глутамин, цистеин, тирозин, фенилаланин, аргинин, пролин.
- 2) Подчеркните серосодержащие аминокислоты: метионин, лизин, лейцин, триптофан, глутамат, серин, аланин.
- 3) Подчеркните полярные, незаряженные аминокислоты: аспартат, треонин, гистидин, валин, глицин, аспарагин, серин.
- 4) Подчеркните аминокислоты, которые можно определить в растворе с помощью ксантопротеиновой реакции: цистеин, фенилаланин, глицин, лизин, триптофан, аргинин.

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 3

### **ТЕМА: СТРУКТУРА БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Изучить основные физико-химические свойства белков, уметь проводить реакции осаждения белка и объяснять их механизмы. Сформировать знания о структурной организации белков.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Первичная структура белка, методы ее исследования, свойства пептидной связи.
2. Вторичная структура белка, ее типы, методы исследования, роль водородных связей. Надвторичная структура и ее типы.
3. Третичная структура белка, методы ее исследования, виды стабилизирующих связей.
4. Зависимость биологических свойств белков от третичной структуры. Денатурация белка, факторы, ее вызывающие, практическое использование.
4. Четвертичная структура белка, ее биологическое значение.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

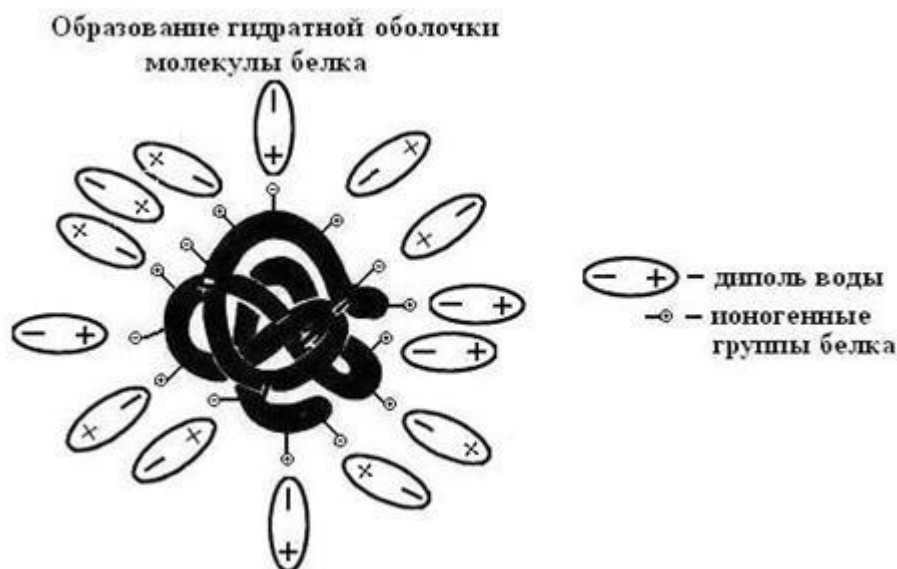
1. Растворимость белков, факторы.
2. Обратимое осаждение белков, факторы, механизмы.
3. Необратимое осаждение белков, (денатурация), факторы, механизмы.
4. Практическое использование обратимого и необратимого осаждения белков.

#### **Растворимость белков**

Белки – это гидрофильные вещества. Сначала сухой белок набухает, а затем переходит в раствор. При набухании молекулы воды проникают внутрь белка и связываются с полярными группами радикалов аминокислот. Плотная упаковка полипептидных цепей разрушается. Затем белки растворяются, т.е. молекулы белка переходят в раствор. Однако, не все молекулы белка, набу-

хая, переходят в раствор. Например, коллаген только набухает (так ведут себя многие фибриллярные белки).

Растворение белков связано с их гидратацией, т.е. образованием *гидратной оболочки*, при этом молекулы воды электростатически связываются с полярными группами радикалов аминокислот.



В целом растворимость белков высока, но различна для разных видов белков. На неё влияют следующие факторы: форма белковой молекулы (глобулярные белки растворимы лучше, чем фибриллярные белки); характер радикалов аминокислот белка, соотношение полярных и неполярных радикалов; свойства растворителя, присутствие солей. Невысокая концентрация солей (KCl, NaCl) иногда повышает растворимость белков. Например, альбумины лучше растворимы в чистой дистиллированной воде, глобулины растворяются только в присутствии 10% солей (KCl, NaCl). Белки соединительной ткани коллаген и эластин не растворимы ни в воде, ни в солевых растворах.

### Осаждение белков

Осаждение белков может быть обратимым и необратимым в зависимости от природы используемых реактивов.

**Необратимое осаждение белков:** при необратимом осаждении происходит глубокая денатурация и агрегация белка. Денатурированный белок не способен к восстановлению своих первоначальных физико-химических и биологических свойств. Необ-

ратимое осаждение вызывается высокой температурой, действием концентрированных минеральных и некоторых органических кислот, ионов тяжелых металлов, алкалоидных реагентов, детергентов, красителей. Процесс денатурации используется *в медицинской практике*: применение дезинфицирующих растворов, стерилизация инструментов, при отравлении солями тяжелых металлов пострадавшему в качестве противоядия дают молоко или раствор яичного белка. Необратимое осаждение дает возможность освободить жидкость от присутствия белка, установить наличие белка в биологических жидкостях (например, в моче – проба Геллера).

**Обратимое осаждение белков:** при обратимом осаждении под воздействием факторов осаждения белки выпадают в осадок, но после прекращения действия этих факторов белки вновь переходят в растворимое состояние и приобретают свои нативные свойства (*ренатурация*). Обратимое осаждение вызывается действием нейтральных солей аммония, щелочных и щелочно-земельных металлов (*высаливание*), при добавлении дегидратирующих средств (спирт, ацетон) и некоторых других органических растворителей. Практическое использование: высаливанием обратимо осаждают белки, фракционируют их. Используют для выделения белков, в том числе ферментов.

## РАБОТА № 1. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКОВ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ АЗОТНОЙ КИСЛОТОЙ

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

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Белок осаждается вследствие химической денатурации и образования нерастворимой комплексной соли белка с азотной кислотой.

**Соблюдать осторожность при работе с концентрированной  $\text{HNO}_3$ . Реактив добавлять под включенной вытяжкой!**

ХОД РАБОТЫ: взять пробирку.

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ
$\text{HNO}_3$ концентрированная	10 капель -
Раствор белка	10 капель

К 10 каплям концентрированной  $\text{HNO}_3$  осторожно по стенке пробирки (наклонив пробирку под углом  $45^\circ$ ) приливают раствор белка так, чтобы обе жидкости не смешивались.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

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

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. *Высаливание* – обратимая реакция осаждения белков из растворов с помощью больших концентраций нейтральных солей:  $\text{NaCl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ . На процесс высаливания влияет ряд факторов: гидрофильность белка, его относительная молекулярная масса, форма и размеры белковой молекулы, заряд, дегидратирующая способность соли. Между величиной гидратной оболочки белковых молекул и концентрацией солей существует прямая зависимость: чем меньше гидратная оболочка, тем меньше требуется солей. Так, глобулины (менее гидрофильные) имеют небольшую гидратную оболочку и более высокую молекулярную массу и выпа-

дают в осадок при неполном насыщении раствора солями, а альбумины (более гидрофильные) как более мелкие молекулы, окруженные большой гидратной оболочкой, – при полном насыщении.

**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).

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

**ВЫВОД:**



### **ЗАДАНИЕ.**

- 1) Перечислите факторы, влияющие на процесс высаливания:
  
- 2) Какая соль обладает большей дегидратирующей способностью NaCl или  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ?
  
- 3) Укажите практическое применение обратимого и необратимого осаждения:

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 4

### ТЕМА: МНОГООБРАЗИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о биологических функциях белков. Получить представление о типах гидролиза. Освоить методику кислотного гидролиза белка.

#### ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Биологически активные пептиды, классификация, представители. Глутатион.
2. Динамическое состояние нативного белка. Понятие комплекментарность. Лиганды и функционирование белков.
3. Многообразие белков и их функции. Количественное определение белков по функциональным свойствам. Белковые препараты (гормоны, ферменты и т.д.).
4. Различие белкового состава органов и тканей. Изменение белкового состава в онтогенезе, при болезнях.
5. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.
6. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.

#### Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Гидролиз белков и его типы, схема.
2. Контроль кислотного гидролиза (биуретовая реакция).
3. Практическое использование гидролиза и белковых гидролизатов.

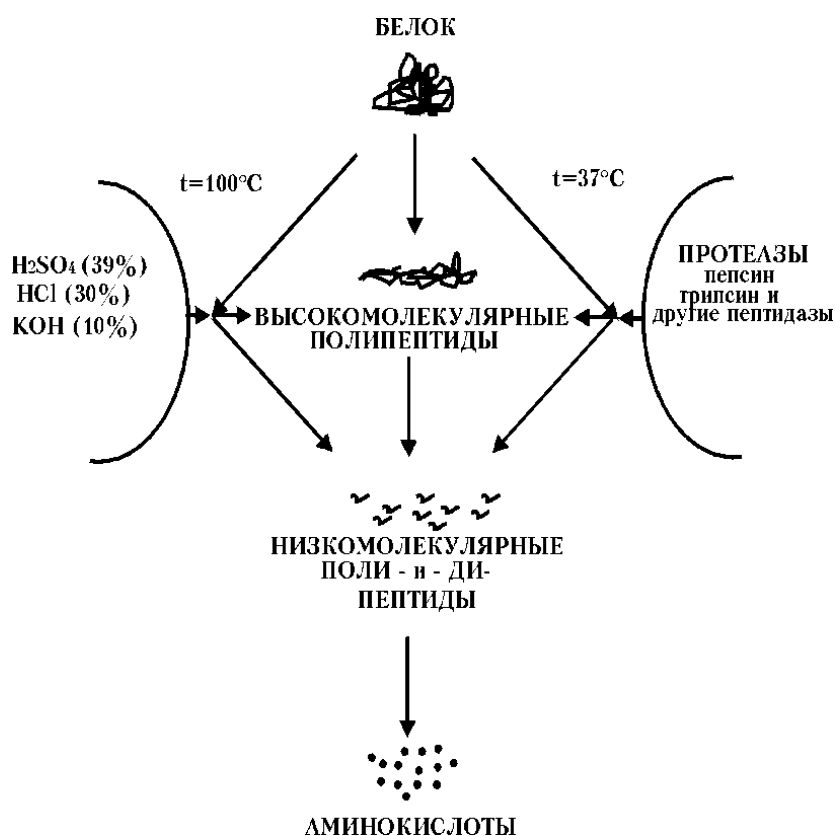
### РАБОТА № 1. КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Гидролиз белка – это расщепление биополимера с присоединением воды по месту разрыва пептидных связей под действием кислот, оснований или протеаз. В зависимости от применяющегося катализатора различают: *кислотный, щелочной и ферментативный гидролиз*. При кислотном гидролизе белка разрушаются некоторые

аминокислоты (триптофан). При щелочном гидролизе белка отмечается более сильное разрушение аминокислот.

В лабораторных условиях гидролиз белков используют для определения первичной структуры, аминокислотного состава белков. Гидролизаты белков (кислотного с добавлением триптофана или ферментативного) применяются в качестве лечебных препаратов при парентеральном питании.

В организме человека и животных постоянно происходит гидролиз белков в пищеварительном тракте под действием пищеварительных ферментов и в клетках органов и тканей под действием протеолитических ферментов. **Ферментативный** гидролиз протекает при температуре 37° и является **специфичным**. Например, пепсин и химотрипсин катализируют гидролиз пептидных связей, образованных остатками ароматических аминокислот, трипсин гидролизует пептидные связи, образованные остатками лизина и аргинина. Последовательность гидролиза белка показана на схеме.



**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Большинство биополимеров в реакциях с водой распадаются на мономеры. Гидролиз катализируют протоны, ионы гидроксила и ферменты по механизму нуклео-

фильного замещения у углерода с карбонильной группой. Полный кислотный гидролиз белков при кипячении происходит в течение 12-96 часов в присутствии серной или соляной кислоты. Полноту гидролиза оценивают с использованием **биуретовой реакции**. Раствор белка в ходе проведения биуретовой реакции дает сине-фиолетовое окрашивание, а продукты неполного его гидролиза – розовое или красное.

#### ХОД РАБОТЫ:

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



2. Добавить 5 мл концентрированной HCl.



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



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

*Получение гидролизата осуществляют лаборанты кафедры:*

**В ходе лабораторной работы студенты работают с готовым гидролизатом:**

1. В пробирку № 1 (**контроль**) добавить 1 мл (10 капель) **раствора белка**.

2. В пробирку № 2 (**опыт**) отлить 1 мл **гидролизата** (10 капель).



3. Нейтрализовать содержимое пробирок № 1 и № 2 20 % NaOH по лакмусу до голубой окраски.



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

5. Оценить полноту гидролиза **в пробе № 2 (гидролизат)**.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

## **РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРИПСИНА (мысленный эксперимент)**

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Протеолитический фермент трипсин осуществляет расщепление пищевых белков в содержимом двенадцатиперстной кишки в верхних отделах тонкого кишечника. Фермент используют также для расщепления белков в лабораторных условиях для определения первичной структуры белка. Этапность ферментативного гидролиза соответствует кислотному.

**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 пробирки (контроль и опыт).

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
Раствор белка, мл	0,5	0,5
Фосфатный буфер рН 8,0, мл	1,0	1,0
ТХУ (10%), мл	2,0	-
Раствор трипсина, мл	0,5	0,5
Инкубация 20 минут при 37 °С		
ТХУ (10%), мл	-	2,0
<b><i>Что происходит с ферментом при добавлении ТХУ?</i></b>		
Центрифугирование 10 минут 1500 об/мин. Центрифугат перелить в сухие пробирки.		
Раствор NaOH 0,5 М, мл	5,0	5,0
Фенольный реактив, мл	0,5	0,5
Размешать. Инкубация 20 минут при 18 °С		

РЕЗУЛЬТАТ (в какой пробирке более интенсивная окраска?):

В Ы В О Д (в какой пробирке фермент активен и может гидролизовать белок?):

**ЗАДАНИЕ 1.** Укажите отличия ферментативного гидролиза белков от кислотного:

1)

2)

3)

4)

**ЗАДАНИЕ 2.** Приведите примеры специфичности действия протеаз.

1)

2)

3)

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 5**

### **ТЕМА: ФЕРМЕНТЫ: СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. История открытия и изучения ферментов.
2. Активный центр фермента, свойства, роль в ферментативном катализе. Аллостерический центр.
3. Структура молекулы фермента – простые и сложные ферменты. Кофакторы ферментов – ионы металлов.
4. Коферменты, классификация. Коферментные функции витаминов.
5. Механизмы действия ферментов.
6. Свойства ферментов. Специфичность действия ферментов.
7. Классификация и номенклатура ферментов.
8. Изоферменты.
9. Единицы измерения активности ферментов.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

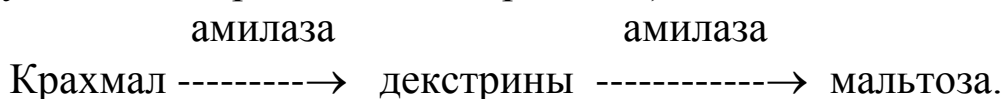


## РАБОТА № 1. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ

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

### ПРИНЦИП МЕТОДА.

Амилаза катализирует гидролиз гликозидной связи *крахмала*, расщепляя его до *декстринов*, затем до *мальтозы* (конечный продукт полного расщепления крахмала).



Эту реакцию можно наблюдать, используя реакцию с *йодом*. Крахмал дает с йодом синий цвет. Декстрины в зависимости от размера дают с йодом разное окрашивание – от фиолетового до красно-бурого. Мальтоза с йодом окрашивания не дает (желтый цвет раствора – цвет йода в воде).

**ХОД РАБОТЫ:** В мерную пробирку собрать **1 мл слюны** (предварительно полость рта споласкивают водой) и доводят водой до метки 10 мл (разведение 1:10). Взять три пробирки, опыт 1-3.

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>ОПЫТ-1</b>	<b>ОПЫТ-2</b>	<b>ОПЫТ-3</b>
Крахмал 1 %, мл Амилаза слюны, мл (разведение 1:10)	0,5 0,5	0,5 0,5	0,5 0,5
Поместить пробирки на 10 минут	Комнатная температура (20°C)	Термостат (40°C)	Кипящая водяная баня (100°C)
Через 10 минут во все пробирки добавить по 1 капле <b>КJ 1%</b>			

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

## 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.

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>КОНТРОЛЬ</b>	<b>ОПЫТ 1</b>	<b>ОПЫТ 2</b>
H <sub>2</sub> O	10 капель	8 капель	8 капель
NaCl 1%	-	2 капли	-
CuSO <sub>4</sub> 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 1 капле **КЖ 1%** во все пробирки.

**РЕЗУЛЬТАТ:**

**ВЫВОД:**

### **РАБОТА № 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ $\alpha$ -АМИЛАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Определение активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови используют для диагностики заболеваний поджелудочной железы.

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

**ХОД РАБОТЫ:** взять опытную пробирку.

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>ОПЫТ</b>
Рабочий реактив, мл	2
прогреть 2 мин в термостате при 37° С	
Сыворотка, мл	0,04
Перемешать и инкубировать 2 минуты при 37°С	

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

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

РЕЗУЛЬТАТ:  $E_1 =$

$E_2 =$

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

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Активность  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови в норме до **90 Ед/л**.

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

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

В Ы В О Д :

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 6

### **ТЕМА: КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Кинетика ферментативных реакций, анализ и графическое изображение уравнений Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.
2. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, pH, концентраций субстрата и фермента.
3. Механизмы регуляции активности ферментов:
  - 3.1. Влияние активаторов и ингибиторов. Типы ингибирования: обратимое (конкурентное и неконкурентное), необратимое.
  - 3.2. Аллостерическая регуляция.
4. Ковалентная модификация структуры ферментов: фосфорилирование-дефосфорилирование, ограниченный протеолиз.
4. Лекарственные препараты – ингибиторы активности ферментов. Использование в медицине.

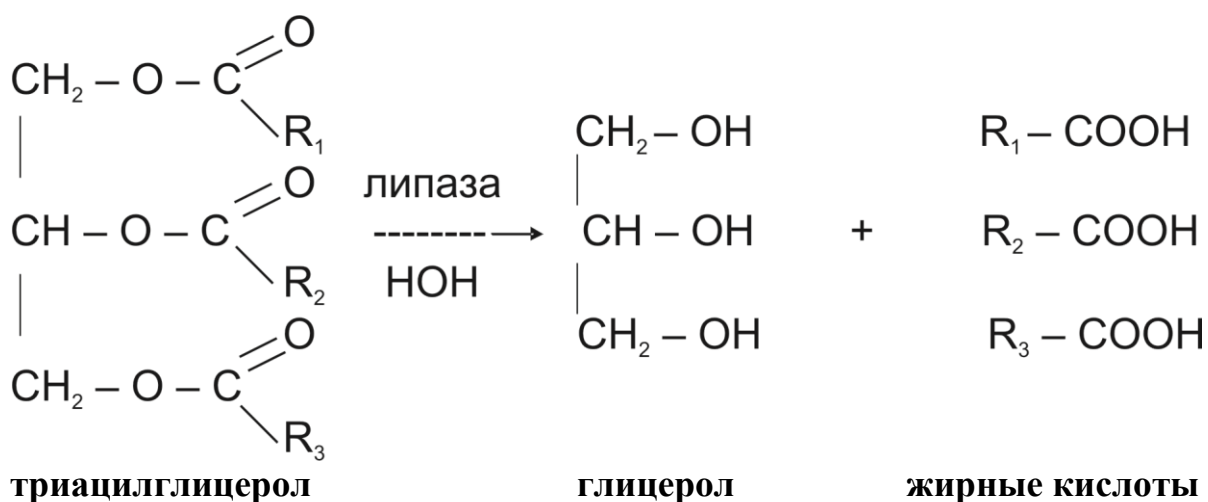
#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

## РАБОТА. КИНЕТИКА ДЕЙСТВИЯ ЛИПАЗЫ. ВЛИЯНИЕ ЖЕЛЧИ НА АКТИВНОСТЬ ЛИПАЗЫ

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

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Липаза катализирует гидролиз эфирных связей триацилглицеролов до глицерола и жирных кислот.



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

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

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>ОПЫТ-1 (без желчи)</b>	<b>ОПЫТ-2 (с желчью)</b>
Молоко (1:10), мл	10,0	10,0
H <sub>2</sub> O, мл	1,0	-
Раствор желчи, мл	-	1,0
Липаза из поджелудочной железы, мл	1,0	1,0
	Перемешать. Взять 2 мл раствора в колбочку №1 из пробирки опыт-1 и 2 мл раствора в колбу №2 из пробирки опыт-2. Добавить в каждую колбу по 2 капли фенолфталеина. Пробирки после взятия смеси поместить в термостат при 37°С. Титровать растворы в колбах №1 и №2 0,01 н NaOH до розовой окраски, фиксируя объем щелочи (в мл), используемый для <b>титрования каждой пробы</b> .	

Через 15, 30 и 45 минут от начала инкубации в чистые колбы №1 и №2 отбирают по 2 мл раствора из пробирок №1 и №2, соответственно. Титруют растворы (после добавления в каждую колбу по 2 капли фенолфталеина) до розовой окраски, записывая объем щелочи (в мл), использованный для **титрования каждой пробы**.

**РЕЗУЛЬТАТ:**

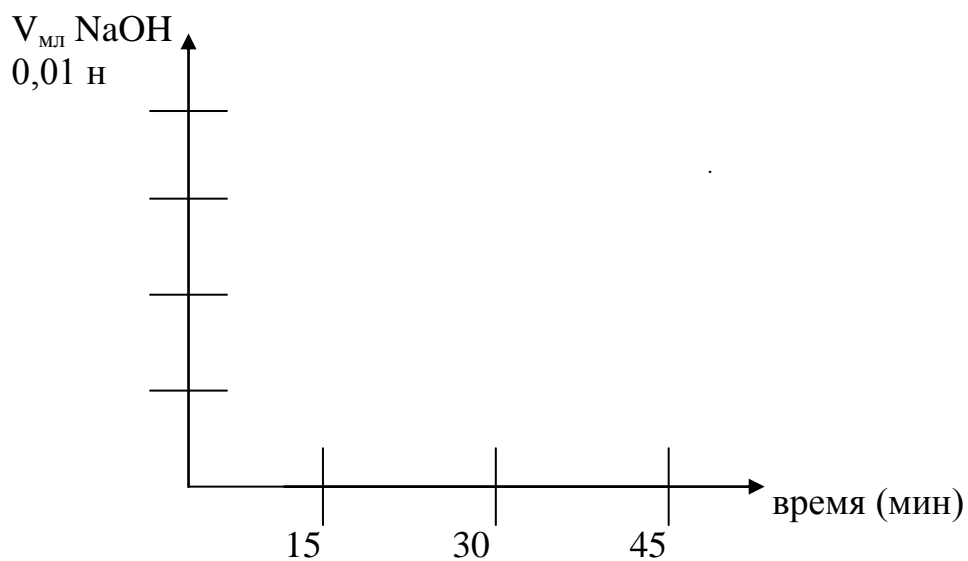
При первом титровании определяют исходное количество жирных кислот (**X** – объем щелочи в мл), присутствующих в молоке до начала действия липазы. Этот объем (**X**) вычитают из результатов последующих титрований (**Y, Z, E**) для каждой опытной пробы: опыт-1 – без желчи, опыт-2 – с желчью.

Данные титрования записать в таблицу:

Время инкубации, мин.	Объем (мл) 0,01 н раствора NaOH, пошедшего на титрование		
Результат определения:		Без желчи	С желчью
0	<b>X</b>		
15	$Y - X = \Delta Y$		
30	$Z - X = \Delta Z$		
45	$E - X = \Delta E$		

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: полученные данные используют для построения графика.

Кинетика действия липазы:



ВЫВОД:

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя



Дата \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 7**

### ***ТЕМА: ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ ЭНЗИМОЛОГИИ***

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о клинических аспектах энзимологии и закрепить знания о структуре и функциях белков и ферментов.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Различия ферментного состава клеток, органов и тканей. Органоспецифические ферменты.
2. Определение ферментов в плазме крови с диагностической целью: происхождение ферментов плазмы крови.
3. Изменение активности ферментов при патологии. Наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные) энзимопатии.
4. Ферменты как лекарственные средства и как аналитические реагенты в лабораторных исследованиях. Имобилизованные ферменты.

**Компьютерное тестирование по разделу «Белки. Ферменты»**

**Просмотр обучающих видеофильмов.**

#### **РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «БЕЛКИ, ФЕРМЕНТЫ»**

##### **Задания для самостоятельной работы:**

1. Записать схему строения молекулы сложного фермента. Какие функциональные группы аминокислотных остатков наиболее часто участвуют в формировании активного центра фермента?
2. Записать схему строения аминокислотного анализатора, указать его применение. Какая цветная реакция используется в автоматическом анализаторе? Какие методы используются в автоматическом анализаторе?

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

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

5. Нарисовать  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -структуру. На рисунке указать виды связей, стабилизирующих вторичную структуру. Указать количественные характеристики  $\alpha$ -спирали (шаг спирали, диаметр спирали и др.).

6. Назовите ферменты, ускоряющие указанные реакции, и определите класс ферментов:

а) Глюкоза + АТФ  $\longrightarrow$  Глюкозо-6-фосфат + АДФ;

б) Глюкозо-1-фосфат  $\longrightarrow$  Глюкозо-6-фосфат;

в) Лактат + НАД<sup>+</sup>  $\longrightarrow$  Пируват + НАДН+Н<sup>+</sup>

г) Крахмал + H<sub>2</sub>O  $\longrightarrow$  Мальтоза

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



Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

## ЗАНЯТИЕ № 8

### **КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «БЕЛКИ. ФЕРМЕНТЫ»**

#### **Вопросы к контрольному занятию**

1. История изучения белков.
2. Белки – важнейшие компоненты живых организмов. Классификация белков по функциям, форме белковой молекулы. Содержание белков в тканях.
3. Аминокислотный состав белков; строение пептидов.
4. Физико-химические свойства белков, осаждение их из растворов.
5. Методы фракционирования и очистки белков: ультрацентрифугирование, электрофорез, хроматография, диализ.
6. Цветные реакции на белки и аминокислоты, их практическое применение.
7. Количественное определение белков в растворах и тканях. Клинико-диагностическое значение определения общего белка в сыворотке крови.
8. Первичная структура белка, методы ее исследования, свойства пептидной связи.
9. Вторичная структура белка, ее типы, методы исследования, роль водородных связей. Надвторичная структура и ее типы.
10. Третичная структура белка, методы ее исследования, виды стабилизирующих связей.
11. Зависимость биологических свойств белков от третичной структуры. Денатурация белка, факторы, ее вызывающие, практическое использование.
12. Четвертичная структура белка, ее биологическое значение.
13. Биологически активные пептиды, классификация, представители. Глутатион.
14. Динамическое состояние нативного белка. Понятие комплементарность. Лиганды и функционирование белков.
15. Многообразие белков и их функции. Количественное определение белков по функциональным свойствам. Белковые препараты (гормоны, ферменты и т.д.).
16. Различие белкового состава органов и тканей. Изменение белкового состава в онтогенезе, при болезнях.

17. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.
18. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.
19. История открытия и изучения ферментов.
20. Активный центр фермента, свойства, роль в ферментативном катализе. Аллостерический центр.
21. Структура молекулы фермента – простые и сложные ферменты. Кофакторы ферментов – ионы металлов.
22. Коферменты, классификация. Коферментные функции витаминов.
23. Механизмы действия ферментов.
24. Свойства ферментов. Специфичность действия ферментов.
25. Классификация и номенклатура ферментов.
26. Изоферменты.
27. Единицы измерения активности ферментов.
28. Кинетика ферментативных реакций, анализ и графическое изображение уравнений Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.
29. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, pH, концентраций субстрата и фермента.
30. Ингибиторы и активаторы ферментов. Типы ингибирования: обратимое (конкурентное и неконкурентное), необратимое.
31. Лекарственные препараты – ингибиторы ферментов. Использование в медицине.
32. Механизм регуляции ферментативной активности.
33. Различия ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты.
34. Определение ферментов в плазме крови с диагностической целью: происхождение ферментов плазмы крови.
35. Изменение активности ферментов при патологии. Наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные) энзимопатии. Клинико-диагностическое значение исследования активности амилазы в сыворотке крови.
36. Ферменты как лекарственные средства и как аналитические реагенты в лабораторных исследованиях. Иммуобилизованные ферменты.

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 9

### **ТЕМА: ОБЩИЕ ПУТИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Динамическое состояние белков организма. Общие представления об азотистом балансе организма человека.
2. Источники и пути расходования аминокислот в тканях.
3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Всасывание аминокислот.
4. Превращение аминокислот микрофлорой кишечника.
5. Общие пути обмена аминокислот в организме: дезаминирование, трансаминирование, декарбоксилирование.
6. Трансаминирование аминокислот, механизм, биологическое значение. Аминотрансферазы, их тканевая специфичность и ее значение. Коферментная функция витамина В<sub>6</sub>.
- 7 Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование и восстановительное аминирование, биологическая роль.
8. Непрямое дезаминирование аминокислот (трансдезаминирование), биологическая роль.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

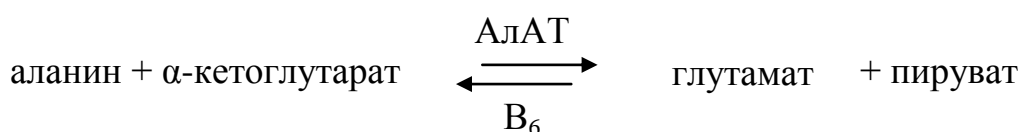
1. Реакции, катализируемые аланинаминотрансферазой и аспаратаминотрансферазой.
2. Принцип метода определения активности аминотрансфераз.
3. Клинико-диагностическое значение исследования аминотрансфераз.

## РАБОТА. АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНО-ТРАНСФЕРАЗЫ (АлАТ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Аминотрансферазы – ферменты, катализирующие перенос аминогруппы с аминокислот на  $\alpha$ -кетокислоты без промежуточного образования аммиака. В качестве кофермента ферменты содержат производное витамина В<sub>6</sub> – пиридоксальфосфат и пиридоксаминфосфат. Трансаминирование выполняет важную роль в промежуточном обмене: 1) обеспечивает синтез и катаболизм аминокислот; 2) обеспечивает орнитиновый цикл мочевинообразования аспаратом; 3) оксалоацетат,  $\alpha$ -кетоглутарат, образующиеся в процессе трансаминирования, являются компонентами цикл Кребса.

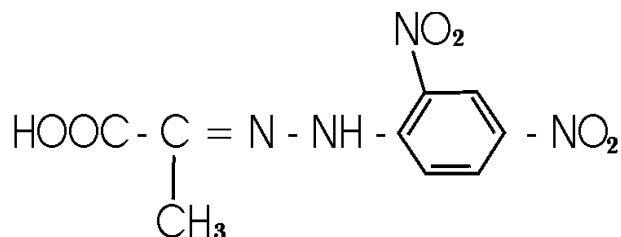
Активность аминотрансфераз отражает состояние аминокислотного обмена в тканях организма. В норме активность этих ферментов в сыворотке крови незначительна. При повреждении клеток соответствующего органа ферменты выходят в кровь, где активность их резко повышается. Поскольку АсАТ и АлАТ наиболее активны в клетках печени, сердца и, в меньшей степени, скелетных мышц, их используют для диагностики болезней этих органов. В клетках сердечной мышцы количество АсАТ значительно превышает количество АлАТ, а в печени - наоборот. Поэтому особенно информативно одновременное измерение активности обоих ферментов в сыворотке крови. Соотношение активностей АсАТ/АлАТ называют "*коэффициент де Ритиса*". В норме этот коэффициент равен  $1,33 \pm 0,42$ . При инфаркте миокарда активность АсАТ в крови увеличивается в 8-10 раз, а АлАТ - в 1,5-2,0 раза и значение коэффициента де Ритиса резко возрастает. При гепатитах активность АлАТ в сыворотке крови увеличивается в 8-10 раз по сравнению с нормой, а АсАТ - в 2-4 раза, поэтому коэффициент де Ритиса снижается до 0,6.

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Аланинаминотрансфераза катализирует реакцию:





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 образовавшегося пирувата. По количеству пирувата судят об активности фермента.

**ХОД РАБОТЫ:** взять две пробирки.

<b>ПРОБА</b>	<b>КОНТРОЛЬ</b>	<b>О П Ы Т</b>
<b>Отмерить</b>		
Субстрат, мл	0,25	0,25
NaCl 1%, мл	0,05	-
Сыворотка крови, мл	-	0,05
Инкубируют в термостате 30 минут при 37°C		
2,4-Динитрофенилгидразин, мл	0,25	0,25

Перемешать, оставить на 20 минут при комнатной температуре

NaOH, мл	2,5	2,5
----------	-----	-----

Перемешать и через 10 минут измерить экстинкцию опыта на колориметре против контрольного раствора. Длина волны 500-530 нм; кювета 0,5 см.

**РЕЗУЛЬТАТ:**  $E_{\text{оп}} =$

По калибровочному графику активность АлАТ составляет \_\_\_\_\_ Ед/л.

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

**В ы в о д :**

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 10

### **ТЕМА: ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА. ОБМЕН ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о метаболизме аминокислот и путях обезвреживания аммиака в тканях. Освоить методику определения мочевины в сыворотке крови. Составить метаболическую карту аминокислотного обмена.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Декарбоксилирование аминокислот, типы, биологическое значение. Биогенные амины, синтез, их функции. Окисление биогенных аминов.
2. Пути образования и обезвреживания аммиака в организме.
3. Тканевое обезвреживание аммиака: восстановительное аминирование, синтез глутамина и аспарагина. Роль глутаминазы в поддержании кислотно-основного равновесия в организме.
4. Биосинтез мочевины. Нарушения синтеза и выведения мочевины.
5. Пути катаболизма аминокислот в организме. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
6. Метаболизм метионина: образование S-аденозилметионина, его участие в реакциях трансметилирования, реакции синтеза креатина. Липотропное действие метионина.
7. Обмен фенилаланина и тирозина. Нарушения обмена этих аминокислот (фенилкетонурия, алкаптонурия, альбинизм).

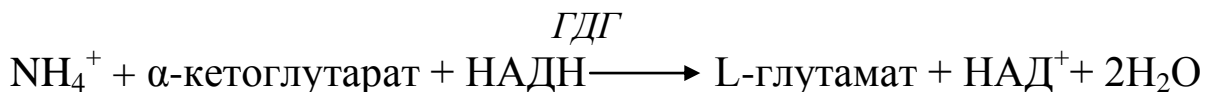
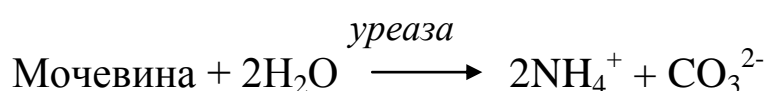
#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

- 2.1. Принцип метода количественного определения мочевины в крови.
- 2.2. Принцип метода определения мочевины в сыворотке крови.
- 2.3. Диагностическое значение определения мочевины в сыворотке крови и моче.

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

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

**ПРИНЦИП МЕТОДА:** мочевины гидролизуется в присутствии уреазы с образованием аммиака и  $\text{CO}_2$ . Далее аммиак в реакции, катализируемой глутаматдегидрогеназой (ГДГ), взаимодействует с  $\alpha$ -кетоглутаратом с образованием глутамата. В ходе реакции происходит окисление восстановленного НАД. Уменьшение концентрации НАДН пропорционально содержанию мочевины.



**ХОД РАБОТЫ:** взять три пробирки (контроль, стандарт, опыт).

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Рабочий реактив, мл	–	2,0	2,0
$\text{H}_2\text{O}$ , мл	2,0	–	–
Прогреть пробирки в термостате при $37^\circ\text{C}$ 1 мин.			
Сыворотка крови, мл	–	–	0,02
Стандарт $\text{C}_{\text{ст}}=13,33$ ммоль/л	–	0,02	–
Тщательно перемешать и измерить поглощение опытной и стандартной пробы относительно контроля (воды) через 1 мин ( $E_{1\text{оп}}$ и $E_{1\text{ст}}$ ), затем через 2 мин ( $E_{2\text{оп}}$ и $E_{2\text{ст}}$ ). Измерения проводят при длине волны 340-365 нм; кювета 0,5 см.			

РЕЗУЛЬТАТ:  $E_{1оп} =$  ,  $E_{1ст} =$  ,  $E_{2оп} =$  ,  $E_{2ст} =$

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

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

Конечный результат рассчитывается по формуле

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

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание мочевины в сыворотке крови у взрослых **2,5-8,3 ммоль/л**, экскреция с мочой **333-583 ммоль/сут**.

Незначительное повышение концентрации мочевины в сыворотке крови наблюдается при избыточном содержании белка в рационе, при старении.

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

Пониженное содержание мочевины в сыворотке крови отмечается при гепатите, циррозе (резкое снижение мочевинообразовательной функции печени), нарушении всасывания в кишечнике, акромегалии, во время беременности.

Повышенное содержание мочевины в моче отмечается у больных со злокачественной анемией, лихорадкой, при диете с высоким содержанием белка.

Пониженное содержание мочевины в моче отмечается при поражении почек (нефрит), при патологии печени (паренхиматозная желтуха, цирроз), ацидозе.

**В ы в о д :**

## РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «АМИНОКИСЛОТНЫЙ ОБМЕН»

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

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

## ЗАНЯТИЕ № 11

### **ТЕМА: СТРУКТУРА НУКЛЕОТИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о строении нуклеиновых кислот, их функциях и метаболизме пуриновых нуклеотидов. Провести гидролиз нуклеопротеинов и освоить качественные реакции определения продуктов гидролиза.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

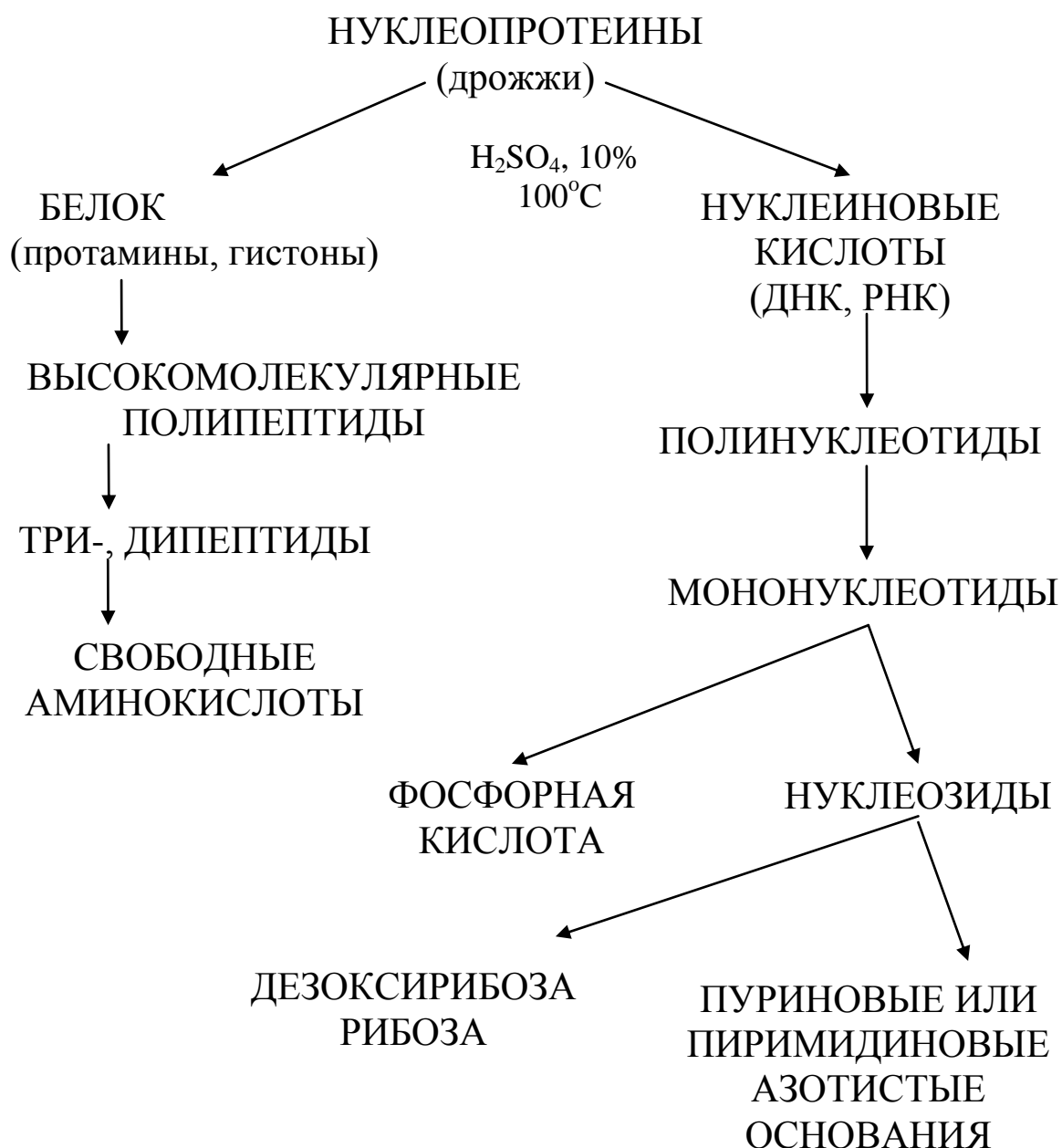
1. История изучения нуклеиновых кислот.
2. Нуклеотидный состав нуклеиновых кислот. Различия между ДНК и РНК.
3. ДНК, виды, локализация в клетке, биологические функции. Первичная и вторичная структура ДНК.
4. РНК, виды, локализация в клетке, биологические функции, особенности структурной организации.
5. Нуклеопротеины. Строение рибосом эукариот и хроматина.
6. Синтез пуриновых нуклеотидов: происхождение атомов пуринового ядра, реакции образования фосфорибозиламина.
7. Синтез пуриновых нуклеотидов: схема синтеза АМФ и ГМФ из инозиновой кислоты. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов.

#### **Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе.**

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

#### **РАБОТА. КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ НУКЛЕОПРОТЕИНОВ ДРОЖЖЕЙ**

Кислотный гидролиз нуклеопротеинов проводят для изучения их химического состава. Гидролиз протекает по следующей схеме:



Продукты гидролиза открывают специфическими реакциями:

- полипептиды – **биуретовой реакцией** (растворы белков и пептидов в щелочной среде в присутствии сульфата меди окрашиваются в сине-фиолетовый цвет);
- пуриновые основания – **серебряной пробой** (серебряные соли пуринов образуют светло-коричневый осадок),
- пентозы – **пробой Троммера** (выпадает красный осадок  $\text{Cu}_2\text{O}$  или желтый осадок  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  вследствие окисления рибозы),
- фосфорную кислоту – **молибденовой пробой** (образуется фосфорномолибденовокислый аммоний – желтый кристаллический осадок).



## ХОД РАБОТЫ:

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

**II. Открытие продуктов гидролиза специфическими реакциями.**

Взять четыре пробирки и в каждой выполнить реакцию:

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

Результат:

ВЫВОД:

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 12

### **ТЕМА: ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания об обмене нуклеотидов и репликации ДНК. Освоить метод количественного определения мочевой кислоты в моче.

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Схема синтеза пиримидиновых нуклеотидов. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
2. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Образование тимидиловой кислоты.
3. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях. Повторное использование нуклеозидов и азотистых оснований для синтеза нуклеотидов.
4. Схема распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
5. Нарушения обмена нуклеотидов: ксантинурия, оротацидурия, подагра.
6. Биосинтез ДНК (репликация) у эукариот, субстраты, ферменты, общая схема синтеза.

### **Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе.**

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

2. Опишите принцип метода количественного определения мочевой кислоты, укажите ферменты, присутствующие в рабочем реагенте, назовите их субстраты.
3. Сравните содержание мочевой кислоты в крови и в моче при подагре.

## РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

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

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

### ХОД РАБОТЫ:

Взять две пробирки.

ОТМЕРИТЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Сыворотка крови, мл	-	0,02
Стандартный раствор, мл (357 мкмоль/л)	0,02	-
Рабочий реагент, мл	1	1

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

## ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА:

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

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

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

### В ы в о д :

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 13

### ТЕМА: БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о биосинтезе РНК и белков.

#### ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Биосинтез РНК (транскрипция) у эукариот: субстраты, ферменты, этапы, схема.
2. Процессинг первичных транскриптов РНК.
3. Обратная транскрипция, схема, биологическая роль.
4. Генетический код и его свойства.
5. Этапы биосинтеза белка. Активация аминокислот.
6. Трансляция у эукариот: инициация, элонгация, терминация.
7. Посттрансляционные изменения белков (процессинг).
8. Регуляция экспрессии генов.

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

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

**Задания для расчетно-графической работы:**

1. Перечислите основные ферменты, участвующие в репликации ДНК у эукариот, назовите их функции. Ответ оформите в виде таблицы:

	Фермент	Его функция
1		
2		
3		
4		
5		

2. Напишите реакции образования и строение валил-тРНК.

3. Составьте схему биосинтеза дипептида метионилглутамата (стадии инициации и элонгации трансляции).

4. Назовите основные механизмы регуляции экспрессии генов

- на уровне генома:
  
- на уровне транскрипции:
  
  
- на уровне трансляции:

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя



Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 14

### **ТЕМА: ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.
2. Ферменты и базовые методы, используемые в молекулярной биологии.
3. Блот-анализ ДНК и РНК. Вестерн-блот как метод идентификации белков.
4. Полимеразная цепная реакция, этапы, применение.
5. Геномная дактилоскопия (ДНК-фингерпринт).
6. Секвенирование нуклеиновых кислот.
7. Генная инженерия, получение рекомбинантных ДНК

**Просмотр обучающих видеофильмов.**

### **РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»**

**Задания для расчетно-графической работы:**

1. Заполните таблицу характеристик разных видов блот-анализа:

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

2. Нарисуйте схему протекания ПЦР, обозначьте на ней этапы реакции и условия их проведения.

3. Запишите схему процесса получения белков человека с помощью генноинженерных технологий. Назовите примеры белков, получаемых таким способом.

## ЗАНЯТИЕ № 15

### **КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ «ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ. ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»**

#### **Вопросы к контрольному занятию**

1. История изучения нуклеиновых кислот.
2. Нуклеотидный состав нуклеиновых кислот. Различия между ДНК и РНК.
3. ДНК, виды, локализация в клетке, биологические функции. Первичная и вторичная структура ДНК.
4. РНК, виды, локализация в клетке, биологические функции, особенности структурной организации.
5. Нуклеопротеины. Строение рибосом эукариот и хроматина.
6. Синтез пуриновых нуклеотидов: происхождение атомов пуринового ядра, реакции образования фосфорибозиламина.
7. Синтез пуриновых нуклеотидов: схема синтеза АМФ и ГМФ из инозиновой кислоты. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов.
8. Схема синтеза пиримидиновых нуклеотидов. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
9. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Образование тимидиловой кислоты.
10. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях. Повторное использование нуклеозидов и азотистых оснований для синтеза нуклеотидов.
11. Схема распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
12. Нарушения обмена нуклеотидов: ксантинурия, оротацидурия, подагра.
13. Биосинтез ДНК (репликация) у эукариот, субстраты, ферменты, общая схема синтеза.
14. Биосинтез РНК (транскрипция) у эукариот: субстраты, ферменты, этапы, схема.
15. Процессинг первичных транскриптов РНК.
16. Обратная транскрипция, схема, биологическая роль.
17. Генетический код и его свойства.
18. Этапы биосинтеза белка. Активация аминокислот.
19. Трансляция у эукариот: инициация, элонгация, терминация.

20. Посттрансляционные изменения белков (процессинг).
21. Регуляция экспрессии генов.
22. Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.
23. Ферменты и базовые методы, используемые в молекулярной биологии..
24. Секвенирование нуклеиновых кислот.
25. Полимеразная цепная реакция, этапы, применение.
26. Блот-анализ ДНК и РНК. Методы идентификации белков. Вестерн-блот.
27. Геномная дактилоскопия (ДНК-фингерпринт).
28. Генная инженерия, получение рекомбинантных ДНК

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 16

### **ТЕМА: ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания об основах биоэнергетики клетки, представление о макроэргах тканей (АТФ, креатинфосфат) и принципах их количественного определения.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Энергетика клетки, общие представления.
2. Макроэрги клетки, строение (АТФ и другие нуклеозидтрифосфаты, 1,3-бисфосфоглицерат, фосфоенолпируват, креатинфосфат, ацетил-КоА, сукцинил-КоА).
3. Структурная организация цепи переноса электронов: полиферментные комплексы митохондрий и их строение.
4. НАД<sup>+</sup>(НАДФ<sup>+</sup>)-зависимые дегидрогеназы, строение кофермента, биологическая роль.
5. ФАД(ФМН)-зависимые дегидрогеназы, строение кофермента, биологическая роль.
6. Кофермент Q, строение, биологическая роль.
7. Цитохромы и цитохромоксидаза, биологическая роль.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

- 1.1. Напишите структурную формулу АТФ:
- 1.2. Креатинфосфат мышц, его биологическая роль.
- 1.3. Принцип метода количественного определения макроэргов мышц.

## РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАКРОЭРГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МЫШЦ

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Главный макроэрг клеток человека и животных – АТФ – образуется в реакциях окислительного и субстратного фосфорилирования АДФ. В мышцах содержится креатинфосфат – макроэрг, образующийся с участием АТФ. Оба вещества обеспечивают энергией мышцы при их сокращении. Уровень АТФ в мышцах используют для оценки энергообеспеченности ткани в тех или иных условиях.

**ПРИНЦИП МЕТОДА.** Остатки фосфорной кислоты АТФ и креатинфосфата быстро отщепляются при гидролизе в кислой среде (это лабильно связанные фосфаты). Сравнение содержания неорганических фосфатов, определяемых по цветной реакции с молибдатом аммония в присутствии аскорбиновой кислоты до и после гидролиза, позволяет определить количество лабильно связанных фосфатов макроэргов. Количество лабильных фосфатов отражает количество макроэргических соединений в мышцах.

### ХОД РАБОТЫ:

#### **А. Получение безбелкового фильтрата из мышечной ткани**

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

#### **Б. Определение лабильно связанных фосфатов**

Взять две пробирки: контроль и опыт.

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>КОНТРОЛЬ</b>	<b>ОПЫТ</b>
Безбелковый фильтрат, мл	0,5	0,5
HCl, 1 M, мл	1	1 кипятить 15 минут, охладить
NaOH, 1 M, мл	1	1

H <sub>2</sub> O, мл	2,5	2,5
Молибдат аммония 1 %,мл	0,5	0,5
Аскорбиновая кислота 1 %,мл	0,5	0,5
	↓ Перемешать, инкубация 10 минут, при 18°C. ↓ Колориметрия против контроля, 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:

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

В Ы В О Д:

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

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 17

### **ТЕМА: ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА. БИОХИМИЯ МЕМБРАН**

#### **БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Систематизировать знания механизма синтеза АТФ, общем пути катаболизма – ЦТК, строения и функциях биологических мембран. Составить метаболическую карту энергетического обмена.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. АТФ: механизмы образования (субстратное и окислительное фосфорилирование), пути использования.
2. Окислительное фосфорилирование АДФ, механизмы, теория Митчелла. Коэффициент P/O.
3. Регуляция цепи переноса электронов: дыхательный контроль, активаторы, ингибиторы, разобщители.
4. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), последовательность реакций, регуляция, биологическая роль.
5. Энергетика ЦТК, связь с цепью переноса электронов.
6. Химический состав и строение мембран. Липиды и белки мембран.
7. Общие свойства и функции биологических мембран.
8. Механизмы мембранного транспорта веществ.

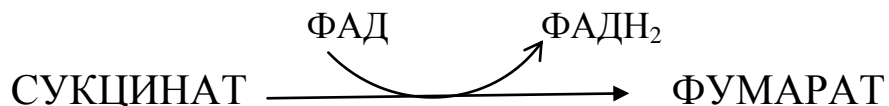
#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

- 1.1. Сукцинатдегидрогеназная реакция, принцип определения активности.
- 1.2. Цитохромоксидаза, биологическая роль.
- 1.3. Принцип метода качественного определения активности цитохромоксидазы.



## РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ (СДГ)

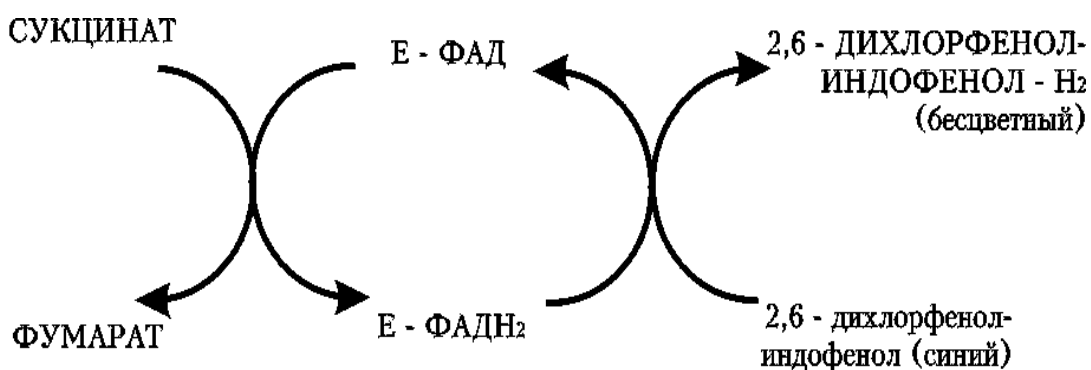
ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. СДГ один из ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот, прочно связанный с внутренней мембраной митохондрий. Роль кофермента выполняет ФАД, соединенный с белком ковалентной связью. Фермент окисляет янтарную кислоту (сукцинат):



Задание: напишите формулы субстрата и продукта реакции.

### ПРИНЦИП МЕТОДА.

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



Малонат является конкурентным ингибитором фермента СДГ, напишите его формулу:

## ХОД РАБОТЫ:

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

**Б. Взять четыре пробирки и приготовить реакционные смеси в соответствии с таблицей:**

	<b>Контроль</b>	<b>t 100°</b>	<b>Опыт</b>	<b>Ингибитор</b>
<b>№ пробирки</b> отмерить	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Ферментный препарат, мл (гомогенат ткани)	1,0	1,0	1,0	1,0
	-	кипячение 5 минут	-	-
H <sub>2</sub> O, мл	1,5	0,5	0,5	-
Малонат, мл	-	-	-	0,5
Сукцинат, мл	-	1,0	1,0	1,0
2,6-дихлорфенол-индофенол	2 капли	2 капли	2 капли	2 капли
Перемешать, инкубация 15 минут при 37°С				

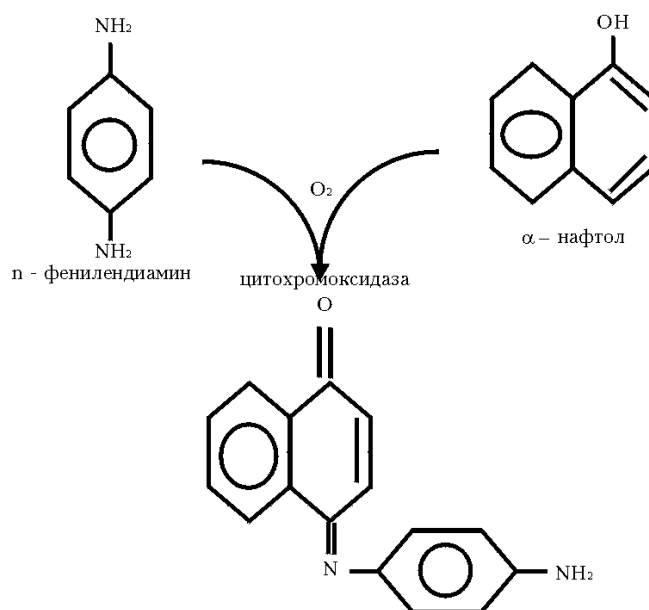
РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

## РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Цитохромоксидаза является хромопротеином, содержит гем и  $\text{Cu}^{2+}$ , активна в растительных и животных тканях, осуществляет перенос электронов на кислород в митохондриальной цепи переноса электронов.

ПРИНЦИП МЕТОДА. реактив «НАДИ» (смесь  $\alpha$ -нафтола и п-фенилен-диамина) окисляется цитохромоксидазой в присутствии кислорода, образуя продукт конденсации индофеноловый синий:



### ХОД РАБОТЫ:

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

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

### РЕЗУЛЬТАТ:

### ВЫВОД:

## РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН»

### Задания для самостоятельной работы:

1. Составить метаболическую карту энергетического обмена, используя предложенный образец.
2. На карте выполнить следующие задания:
  - 2.1. Показать взаимосвязь ЦТК и ЦПЭ.
  - 2.2. Указать витаминзависимые ферменты ЦТК.
  - 2.3. Показать анаболические функции ЦТК.
  - 2.4. Отметить регуляцию ЦТК.

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 18

**ТЕМА: РОЛЬ КИСЛОРОДА В ПРОЦЕССАХ ОКИСЛЕНИЯ В КЛЕТКЕ. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЗАЧЕТНОЕ ЗАНЯТИЕ.**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать представление о роли кислорода в окислительных процессах в клетке. Получить представление о метаболизме и метаболических путях.

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Роль кислорода в процессах окисления в клетке. Оксидазный и пероксидазный типы окисления, схемы, ферменты, биологическая роль.
2. Диоксигеназный и монооксигеназный типы окисления, схемы, ферменты, биологическая роль. Микросомальное окисление, схема, цитохром P<sub>450</sub>, биологическая роль.
3. Активные формы кислорода, образование, роль в процессах жизнедеятельности, повреждающее действие.
4. Характеристика ферментативных и неферментативных звеньев антиоксидантной системы.
5. Представление о метаболизме и метаболических путях. Формы метаболических путей. Связь между анаболизмом и катаболизмом.
6. Методы изучения обмена веществ. Изотопные методы.
7. Специфические и общие пути катаболизма.

Дата: \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 19**

### **ТЕМА: УГЛЕВОДЫ ПИЩИ И ТКАНЕЙ И ИХ БИОРОЛЬ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Углеводы, классификация, распространение, биологические функции, содержание в тканях человека.
2. Основные углеводы пищи, их характеристика.
3. переваривание и всасывание углеводов в пищеварительном тракте, патология.
4. Общая схема путей метаболизма глюкозы в организме и их характеристика.
5. Фосфорилирование глюкозы, дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Регуляция.
6. Обмен галактозы. Галактоземия.
7. Обмен фруктозы. Фруктозурия, непереносимость фруктозы.
8. Обмен лактозы, регуляция ее синтеза, патология.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

### **РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ГЛЮКОЗООКСИДАЗНЫМ МЕТОДОМ**

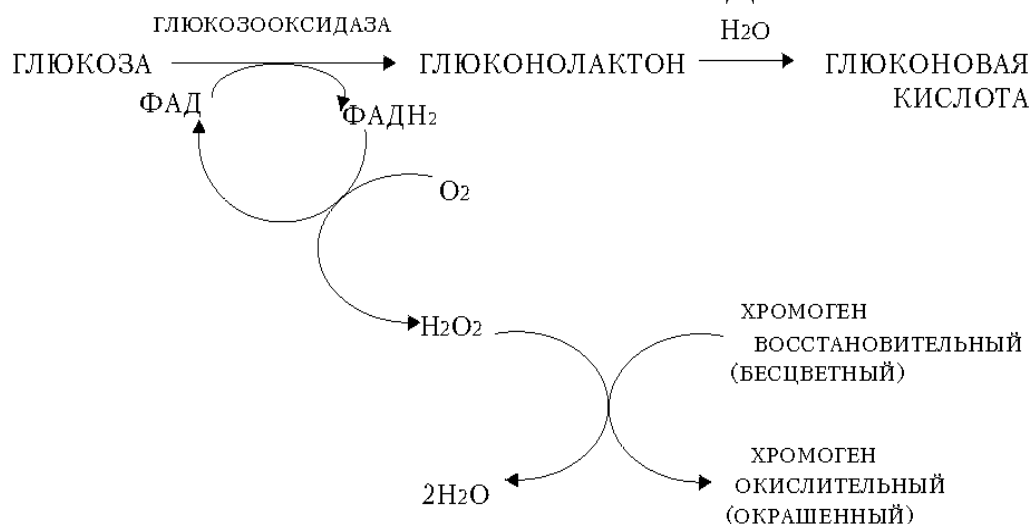
**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** В человеческом организме более 50% энергии, необходимой для нормаль-

ной жизнедеятельности, образуется в результате реакции окисления глюкозы. На уровень глюкозы крови оказывает влияние поступление углеводов с пищей; мобилизация гликогена печени; глюконеогенез; окисление глюкозы в тканях; синтез гетерополисахаридов, пентоз, синтез гликогена и триацилглицеролов в тканях. Уровень глюкозы в крови регулируется деятельностью нейроэндокринной системы, паренхиматозных органов (печени, почек). Основным гормоном ответственным за утилизацию глюкозы в тканях является *инсулин*, оказывающий *гипогликемическое* действие. В регуляции уровня глюкозы в крови принимают участие *контринсулярные гормоны*: глюкагон, кортизол, адреналин, тироксин, соматотропин, адренокортикотропный гормон, оказывающие *гипергликемическое* действие.

Определение глюкозы в цельной крови или плазме производится для оценки состояния метаболизма углеводов и диагностики эндокринных и неэндокринных патологий. 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 восстанавливающих веществ. Этот анализ проводится после 8–14-часового голодания. Нормы концентрации глюкозы в крови различны для капиллярной и венозной крови.

**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<sub>2</sub>. Последний передает атомы водорода на молекулярный кислород с образованием Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>. Далее Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> расщепляется ферментом пероксидазой на воду и атомарный кислород, который окисляет хромоген (краситель), приобретающий окраску.

## ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЕТОДА:



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

<b>ПРОБА</b> <b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>КОНТРОЛЬ</b>	<b>СТАНДАРТ</b>	<b>ОПЫТ</b>
Рабочий реактив	2,0	2,0	2,0
H <sub>2</sub> O, мл	0,02	–	–
Стандартный раствор глюкозы, мл	–	0,02	–
Сыворотка крови	–	–	0,02
	Перемешать, инкубация в термостате 20 минут при 37°C		
	Колориметрия опыта и стандарта против контрольной пробы, $\lambda = 500$ нм, кювета – 0,5 см		

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



КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ рассчитывают по формуле:

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

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание глюкозы в сыворотке крови у взрослых составляет **3,3-6,4 ммоль/л**, содержание в капиллярной (цельной) крови **3,3-5,55 ммоль/л**.

Содержание глюкозы в крови увеличивается (*гипергликемия*):

при некоторых физиологических состояниях: стресс, прием углеводов с пищей;

при эндокринных патологиях: сахарный диабет, глюкагонома, тиреотоксикоз, синдром Иценко-Кушинга, феохромоцитомы;

при неэндокринных патологиях: инфаркт миокарда, острый панкреатит, стенокардия; при приеме ряда лекарственных веществ:  $\beta$ -блокаторы, тиазидные диуретики, кортикостероиды, ингибиторы протеаз, некоторые антидепрессанты.

Содержание глюкозы в крови уменьшается (*гипогликемия*):

при некоторых физиологических состояниях: голодание, недостаток приема с пищей углеводов, тяжелая изнурительная физическая работа;

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

**В Ы В О Д :**

**ЗАДАНИЕ 1.** Какой из путей катаболизма глюкозы более энергетически выгоден? Ответ подтвердите расчетами.

**ЗАДАНИЕ 2.** Укажите по каким свойствам отличаются ферменты гексокиназа и глюкокиназа.

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 20

### **ТЕМА: ПУТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЛЮКОЗЫ - I**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о специфических путях обмена углеводов. Освоить методику проведения теста толерантности к глюкозе.

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Анаэробный гликолиз, последовательность реакций.
  - 1.1. Реакции субстратного фосфорилирования АДФ и оксидоредукции в анаэробном гликолизе.
  - 1.2. Энергетика и биологическая роль анаэробного гликолиза.
2. Аэробный распад глюкозы, последовательность реакций.
  - 2.1. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, механизм реакции, регуляция, биологическая роль.
  - 2.2. Энергетика и биологическое значение аэробного распада глюкозы.
3. Спиртовое брожение, последовательность реакций.
4. Путь глюкуроновой кислоты, схема, биологическая роль.

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

### **РАБОТА. 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. Проведение теста толерантности к глюкозе на-

значают пациентам, у которых уровень глюкозы в крови натощак находится на верхней границе нормы или несколько превышает ее, а также лицам с выявленными факторами риска развития сахарного диабета (наличие этого заболевания у близких родственников, ожирение и т.д.). Пациентам, у которых были выявлены лабораторные признаки сахарного диабета (уровень глюкозы в крови выше 7,0 ммоль/л) тест проводить нецелесообразно.

В течение 2–3 дней перед исследованием необходимо потреблять пищу с нормальным содержанием углеводов. Нельзя соблюдать низкоуглеводную диету, иначе результаты теста будут недостоверными.

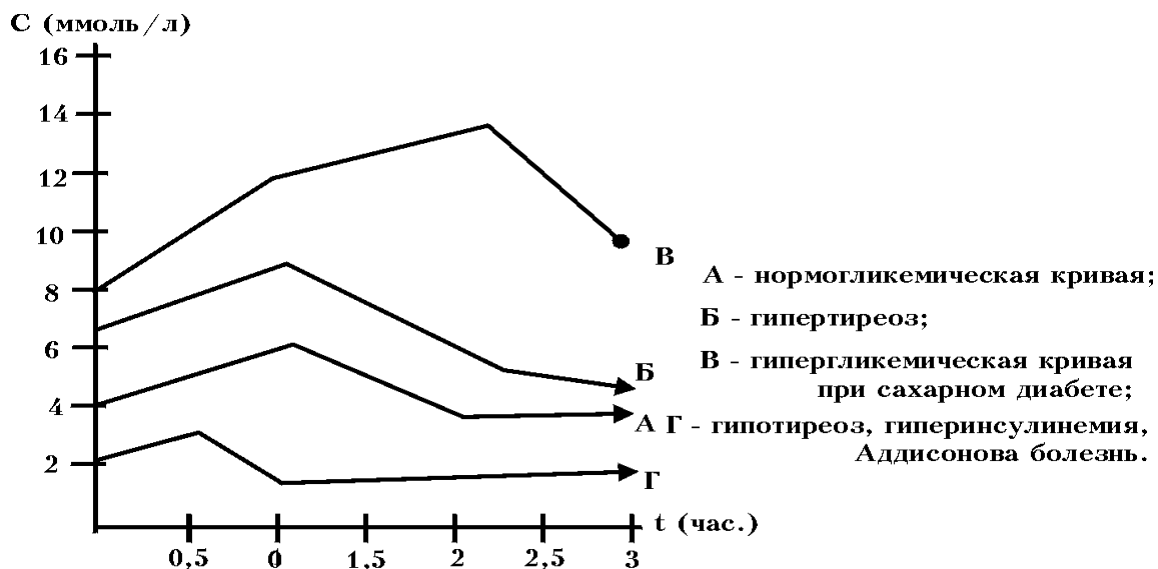
**МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА.** Натощак (утром, через 8-10 часов после приема пищи) забирают кровь из пальца (1-я проба). Пациент после этого (в течение 5 мин.) выпивает раствор глюкозы в 200 мл воды, из расчета 1 г/кг массы тела (сахароза 1,5 г/кг). Через 30 мин. от времени забора первой пробы забирают 2-ю пробу и через каждые 30 мин. забирают пробы в течение 2,5 часов. 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 *гликемическая (сахарная) кривая*.

*У здоровых людей:*

- в пробе, взятой натощак, концентрация глюкозы составляет **3,3-6,4 ммоль/л**;
- максимальное значение содержания глюкозы в крови наблюдается между 30 и 60-й минутами и не превышает **9,9 ммоль/л**;
- концентрация глюкозы через 2 ч после приёма глюкозы не превышает **7,8 ммоль/л**.

*Сахарный диабет* диагностируется, если через 2 часа после нагрузки уровень глюкозы в крови превышает **11,1 ммоль/л**. Если показатель находится в пределах от **7,8 до 11,1 ммоль/л**, говорят о нарушении толерантности к глюкозе (*преддиабете*).

При нарушении утилизации углеводов гликемические кривые отличаются от нормальной:



### ХОД РАБОТЫ:

Определить содержание глюкозы в трех пробах крови.

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 глюкозооксидазным методом».

По результатам определения следует построить гликемическую кривую (используя шкалу, представленную выше) и определить тип полученной гликемической кривой.

### РЕЗУЛЬТАТ:

### ВЫВОД:

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 21**

### **ТЕМА: ПУТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЛЮКОЗЫ - II**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о специфических путях метаболизма углеводов в организме. Освоить метод количественного определения пировиноградной кислоты в моче.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

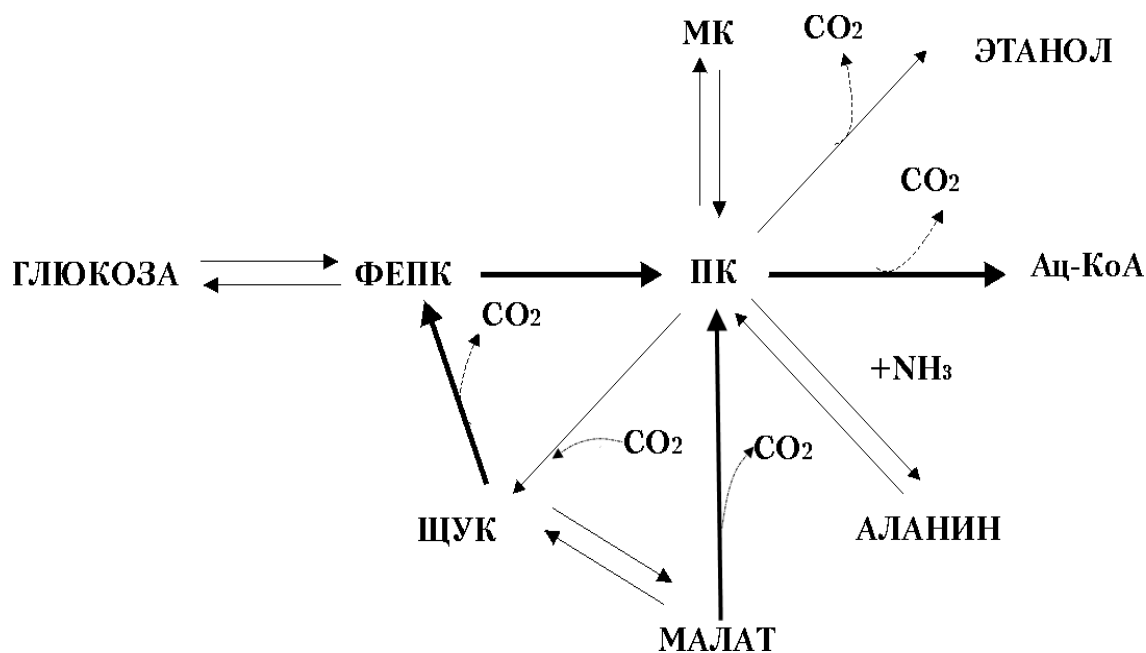
1. Пируват как центральный метаболит. Пути утилизации пирувата.
2. Метаболизм молочной кислоты, цикл Кори.
3. Глюконеогенез, субстраты для синтеза глюкозы, схема глюконеогенеза, биологическая роль, регуляция.
4. Основные реакции глюконеогенеза, ключевые ферменты. Роль биотина.
5. Пентозофосфатный путь (ПФП), окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

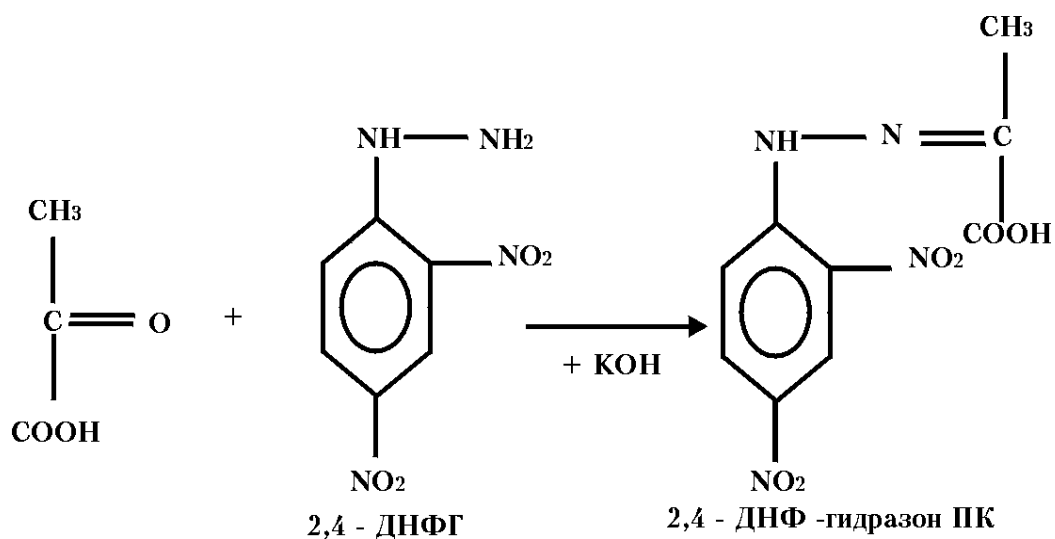
1. Схема метаболизма пировиноградной кислоты (ПК) в организме.
2. Принцип метода определения ПК в моче.
3. Содержание ПК в крови и суточное выделение с мочой. Диагностическое значение определения ПК в крови и моче.

### **РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ**

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Пировиноградная кислота образуется в тканях организма в значительных количествах и является одним из центральных метаболитов углеводного обмена. Она образуется в процессе окисления глюкозы в тканях, при дегидрировании молочной кислоты, в результате превращения ряда аминокислот (взаимосвязь углеводного и аминокислотного обменов). Пути превращения ПК представлены на схеме:



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



ХОД РАБОТЫ: взять две пробирки (контроль и опыт).

ПРОБА \ ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	ОПЫТ
H <sub>2</sub> O, мл	1,0	-
Моча, мл	-	1,0
25 % спиртовой раствор КОН, мл	1,0	1,0
	Перемешать содержимое обеих пробирок одновременно, 1 мин.	
0,1 % раствор 2,4- ДНФГ, мл	0,5	0,5
	Перемешать, инкубация 15 минут при 18°С Измерить экстинкцию опыта против контрольной пробы, $\lambda = 470-480$ нм, кювета 0,5 см	

РЕЗУЛЬТАТ:  $E_{оп} =$

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

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

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

Содержание пировиноградной кислоты увеличивается в крови и моче при больших физических нагрузках, авитаминозе и гиповитаминозе В<sub>1</sub>, при инсулинзависимом сахарном диабете, сердечной недостаточности, заболеваниях печени (в поздних стадиях), злокачественных новообразованиях, гиперфункции гипофизарно-адреналовой системы.



**ВЫВОД:**

**ЗАДАНИЕ 1.** Перечислите метаболические пути и реакции, в которых пируват

а) нарабатывается:

б) утилизируется:

**ЗАДАНИЕ 2.** Перечислите специфические ферменты глюконеогенеза. Какие из них являются регуляторными?

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 22**

### **ТЕМА: ОБМЕН ГЛИКОГЕНА. РЕГУЛЯЦИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Гликоген как резервный полисахарид. Синтез гликогена, роль гормонов в регуляции этого процесса.
2. Распад гликогена (гликогенолиз), роль гормонов в регуляции мобилизации гликогена.
3. Врожденные патологии обмена гликогена: гликогенозы и агликогеноз.
4. Гликемия, гормональная регуляция уровня глюкозы в крови.
5. Гипергликемии и гипогликемии, их причины.
6. Нарушения углеводного обмена при сахарном диабете.

#### **Темы рефератов:**

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

**Компьютерное тестирование по разделу «Обмен и функции углеводов».**

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

### Задания для самостоятельной работы:

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

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

## ЗАНЯТИЕ № 23

### **КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ»**

#### **Вопросы к контрольному занятию**

1. Углеводы, классификация, распространение, биологические функции, содержание в тканях человека.
2. Основные углеводы пищи, их характеристика.
3. Переваривание и всасывание углеводов в пищеварительном тракте, патология.
4. Общая схема путей метаболизма глюкозы в организме и их оценка.
5. Фосфорилирование глюкозы, дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Регуляция.
6. Обмен галактозы. Галактоземия.
7. Обмен фруктозы. Фруктозурия, непереносимость фруктозы.
8. Обмен лактозы, регуляция ее синтеза, патология.
9. Аэробный распад глюкозы (анаэробная дихотомия), последовательность реакций.
10. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, механизм реакции, регуляция, биологическая роль.
11. Энергетика и биологическое значение аэробного распада глюкозы.
12. Анаэробный гликолиз, последовательность реакций.
  - 12.1. Реакции субстратного фосфорилирования АДФ и оксидоредукции в анаэробном гликолизе.
  - 12.2. Энергетика и биологическая роль анаэробного гликолиза.
13. Спиртовое брожение, последовательность реакций.
14. Пируват как центральный метаболит. Пути утилизации пирувата. Диагностическое значение определения ПК в крови и моче.
15. Метаболизм молочной кислоты, цикл Кори.
16. Глюконеогенез, субстраты для синтеза глюкозы, схема глюконеогенеза, биологическая роль, регуляция.
17. Основные реакции глюконеогенеза, ключевые ферменты. Роль биотина.

18. Пентозофосфатный путь (ПФП), окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.
19. Путь глюкуроновой кислоты. Основные реакции, биологическая роль.
20. Гликоген как резервный полисахарид. Синтез гликогена, роль гормонов в регуляции этого процесса.
21. Распад гликогена (гликогенолиз), роль гормонов в регуляции мобилизации гликогена.
22. Врожденные патологии обмена гликогена: гликогенозы и агликогеноз.
23. Гликемия, гормональная регуляция уровня глюкозы в крови.
24. Гипергликемии и гипогликемии, их причины.
25. Нарушения углеводного обмена при сахарном диабете.
26. Диагностическое значение определения глюкозы в крови. Методы определения.
27. Тест толерантности к глюкозе, его диагностическое значение.

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 24

### **ТЕМА: ЛИПИДЫ ПИЩИ И ТКАНЕЙ, ИХ БИОРОЛЬ**

**ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:** Сформировать знания о строении, функциях и метаболизме липидов. Освоить методику определения триацилглицеролов в сыворотке крови.

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Понятие «липиды». Классификация липидов. Важнейшие липиды тканей человека, их структура, содержание в тканях. Функции липидов.
2. Липиды пищи, полиненасыщенные жирные кислоты – незаменимые факторы питания. Переваривание и всасывание в желудочно-кишечном тракте (эмульгирование, ферментативный гидролиз, мицеллообразование). Роль желчных кислот.
3. Ресинтез триацилглицеролов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт.
4. Гормональная регуляция мобилизации триацилглицеролов (липолиза) в жировой ткани.
5. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
6.  $\beta$ -Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.
7. Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов.
8. Перекисное окисление липидов.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

## РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЭНЗИМАТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Триацилглицеролы (нейтральные жиры, ТАГ) представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерола и высших жирных кислот.

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

**ХОД РАБОТЫ:** взять три пробирки (опыт, стандарт и контроль)

Реагенты	Контроль	Стандарт	Опыт
$H_2O$ , мл	0,02	-	-
Стандартный раствор, мл	-	0,02	-
Сыворотка крови, мл	-	-	0,02
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Перемешать, инкубация 10 минут при 37°C			
Колориметрия опыта и стандарта против контрольной пробы, $\lambda = 490-500$ нм, кювета – 0,5 см			

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

Далее расчет производят по формуле:

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

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ:

от рассчитанной концентрации  $C_{\text{оп}}$  необходимо вычесть **0,11 ммоль/л** (концентрация свободного глицерина в сыворотке).

$$C_{\text{ТАГ}} = C_{\text{оп}} - 0,11 = \text{ммоль/л.}$$

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

**Гипертриглицеридемия** может быть обусловлена:

- приемом жирной пищи, голоданием;
- ожирением, хронической ИБС, инфарктом миокарда, гипертонической болезнью, атеросклерозом, сахарным диабетом, панкреатитом, вирусным гепатитом, алкогольным циррозом печени, желчекаменной болезнью, нефротическим синдромом, гиперлипопротеинемией I, IV и V типов; гипотиреозом, гликогенозами I, III и IV типов.

**Гипотриглицеридемия** отмечается при недостаточном питании, абеталипопротеинемиях и гипобеталипопротеинемиях, что чаще всего связано с угнетением синтеза в печени **апопротеина В**, синдроме мальабсорбции, тяжелом поражении паренхимы печени, гипертиреозе.

В Ы В О Д :

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя



Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 25

### **ТЕМА: ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ЖИРНЫХ КИСЛОТ. КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:**

1. Реакции образования и утилизации кетоновых тел, их биологическая роль.
2. Механизм избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.
3. Синтез жирных кислот:
  - 3.1. Роль путей обмена глюкозы в синтезе жирных кислот, источники ацетил-КоА и НАДФН;
  - 3.2. Образование малонил-КоА;
  - 3.3. Синтаза жирных кислот – особенности строения;
  - 3.4. Синтез пальмитиновой кислоты, последовательность реакций.
4. Биосинтез триацилглицеролов.
5. Биосинтез глицерофосфолипидов.
6. Жировое перерождение печени. Роль липотропных факторов.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

1. Гиперхолестеролемии и их причины.
2. Принципы методов определения холестерина в сыворотке крови.
3. Диагностическое значение определения холестерина.

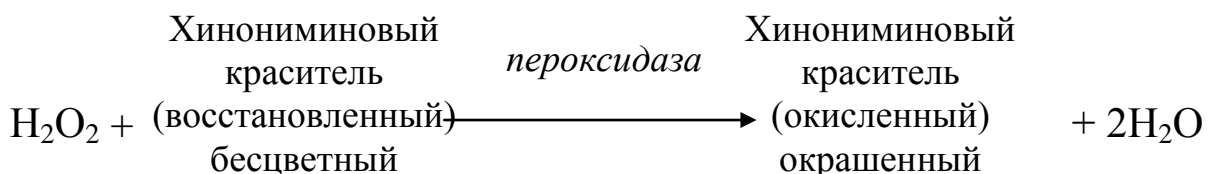
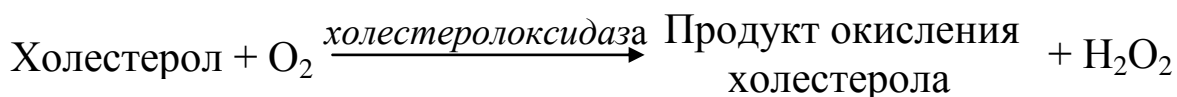
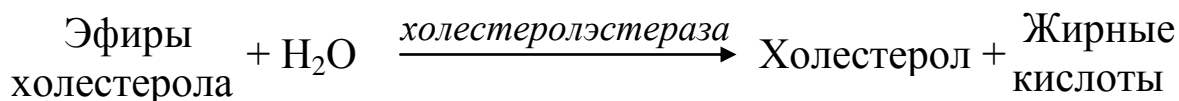
### **РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО ХОЛЕСТЕРОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (энзиматический метод)**

В организм человека холестерол поступает с пищевыми продуктами (0,3-0,5 г) и постоянно синтезируется в печени (более

50%), слизистой оболочке тонкого кишечника (15-20%), коре надпочечников, стенке артерий, коже, половых железах. 90% холестерина от общего его количества в организме содержится в тканях и 8% – в крови. Холестерол используется в организме человека для синтеза желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D<sub>3</sub>, является структурным компонентом биологических мембран.

В сыворотке крови холестерол находится в составе липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Свободный холестерол (30-40 %) и этерифицированный холестерол (60-70 %) составляют фракцию общего холестерина крови. Содержание холестерина в крови увеличивается при нарушениях липидного обмена. Гиперхолестеролемиа является фактором риска ИБС и других патологий.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА.



Интенсивность окраски красителя прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки

Проба Отмерить	Контроль	Стандарт	Опыт
Рабочий реактив, мл	2	2	2
H <sub>2</sub> O, мл	0,02	-	-
Стандартный раствор холестерина, мл	-	0,02	-
Сыворотка крови, мл	-	-	0,02
Перемешать, инкубация 15 минут при 20-25 <sup>0</sup> С или 10 минут при 37 <sup>0</sup> С.			
Колориметрия против контроля, λ = 490-520 нм, кювета 0,5 см			

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

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

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

**В Ы В О Д :**

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 26

### **ТЕМА: ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА И СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Метаболизм холестерина в организме.
2. Схема синтеза холестерина, этапы, регуляция.
3. Начальные реакции синтеза холестерина.
4. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции.
5. Представление о метаболизме сфингофосфолипидов и гликолипидов. Врожденные нарушения обмена этих соединений.
6. Транспорт липидов и жирных кислот в крови, роль альбуминов. Характеристика липопротеинов: классификация, состав, функции.
7. Метаболизм липопротеинов: синтез и утилизация. Роль апопротеинов.

#### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

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

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** ЛПНП ( $\beta$ -липопротеины) содержат в своем составе белки, (основной – апо В100), ТАГ, фосфолипиды, холестерол и его эфиры. ЛПНП – основная транспортная форма холестерина, в которой он доставляется в ткани. Количественное определение липопротеинов сыворотки крови имеет большое диагностическое значение для вы-

явления ряда патологий, в первую очередь, для диагностики атеросклероза.

Липопротеины крови можно разделить на три группы в зависимости от атерогенных свойств: 1) атерогенные липопротеины – остатки хиломикронов, липопротеины промежуточной плотности, ЛПНП; 2) неатерогенные липопротеины – хиломикроны и ЛПОНП; 3) антиатерогенные липопротеины – ЛПВП.

В ЛПНП находится 60-70% холестерина сыворотки крови. Уровень холестерина в ЛПНП оценивают как более надежный показатель риска ишемической болезни сердца, чем содержание общего холестерина в крови. С целью диагностики используют *холестериновый коэффициент атерогенности*, представляющий собой отношение холестерина ЛПНП и ЛПОНП к холестерину ЛПВП. Чем выше этот коэффициент (у здоровых лиц он не превышает 3), тем выше опасность наличия и развития ишемической болезни сердца.

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

**ХОД РАБОТЫ:** взять одну пробирку. Добавить:

Раствор CaCl <sub>2</sub> 0,27%	2 мл
Сыворотка крови	0,2 мл
Перемешать. Определить экстинкцию E <sub>1</sub> против H <sub>2</sub> O, λ = 630 нм, кювета 5 мм,.	
Перелить раствор в пробирку. Добавить:	
Гепарин, 1%	0,04 мл
Перемешать, инкубация 4 минуты. Определить в тех же условиях экстинкцию E <sub>2</sub> против H <sub>2</sub> O	

РЕЗУЛЬТАТ: E<sub>1</sub> =        ;  
   E<sub>2</sub> =        .

РАСЧЕТ: концентрация ЛПНП =  $(E_2 - E_1) \cdot 10 =$  г/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ:

Нормальное содержание ЛПНП в сыворотке крови:

2-4 г/л.

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

В Ы В О Д :

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 27**

### **ТЕМА: НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Нарушение переваривания и всасывания липидов.
2. Дислиппротеинемии: гипер- и гиполipoproteинемии.
3. Биохимия атеросклероза. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
4. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестерина камней.
5. Нарушение резервирования и мобилизации липидов при ожирении.

### **Темы рефератов:**

1. Механизмы развития атеросклероза.
2. Диагностика и принципы лечения атеросклероза.
3. Сфинголипидозы
4. Метаболический синдром.

**Компьютерное тестирование по разделу «Обмен и функции липидов».**

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

#### **Задания для самостоятельной работы:**

1. Составить метаболическую карту липидного обмена, используя предложенный образец.
2. На карте отметить:

2.1. Диагностически значимые субстраты (триацилглицеролы, холестерол, ЛПНП, кетоновые тела).

2.2. Ферменты, исследуемые с целью диагностики (липаза, липопротеинлипаза).

2.3. Регуляторные ферменты синтеза жирных кислот и холестерола, липолиза.

2.4. Витаминзависимые ферменты.

3. Решение ситуационных задач по разделу «Обмен и функции липидов» из учебного пособия «Биологическая химия: сборник задач и заданий».

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя



## ЗАНЯТИЕ № 28

### **КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ»**

#### **Вопросы к контрольному занятию**

1. Понятие «липиды». Классификация липидов. Важнейшие липиды тканей человека, их структура, содержание в тканях. Функции липидов.
2. Липиды пищи, полиненасыщенные жирные кислоты – незаменимые факторы питания. Переваривание и всасывание в желудочно-кишечном тракте (эмульгирование, ферментативный гидролиз, мицеллообразование). Роль желчных кислот
3. Реакции ресинтеза триацилглицеролов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт.
4. Гормональная регуляция мобилизации триацилглицеролов (липолиза) в жировой ткани.
5. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
6.  $\beta$ -Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.
7. Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов.
8. Реакции образования и утилизации кетоновых тел, их биологическая роль.
9. Механизм избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.
10. Роль путей обмена глюкозы в синтезе жирных кислот, источники ацетил-КоА и НАДФН. Образование малонил-КоА.
11. Синтез пальмитиновой кислоты, последовательность реакций. Синтаза жирных кислот – особенности строения;
12. Биосинтез триацилглицеролов.
13. Биосинтез глицерофосфолипидов.
14. Жировое перерождение печени. Роль липотропных факторов.
15. Метаболизм холестерина в организме.
16. Схема синтеза холестерина, этапы, регуляция.
17. Начальные реакции синтеза холестерина.

18. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции.
19. Представление о метаболизме сфингофосфолипидов и гликолипидов. Врожденные нарушения обмена этих соединений.
20. Транспорт липидов и жирных кислот в крови, роль альбуминов. Характеристика липопротеинов: классификация, состав, функции.
21. Метаболизм липопротеинов: синтез и утилизация. Роль апопротеинов.
22. Нарушение переваривания и всасывания липидов.
23. Дислипотеинемии: гипер- и гиполипотеинемии.
24. Биохимия атеросклероза, роль гиперхолестеремии и других факторов риска. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
25. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.
26. Нарушение резервирования и мобилизации липидов при ожирении.
27. Основные липидные компоненты плазмы крови, их клинико-диагностическое значение.

Дата \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 29

### **ТЕМА: МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Общая характеристика гормонов. Классификация гормонов по химической структуре, по месту образования, по механизму действия. Клетки-мишени и клеточные рецепторы гормонов.
2. Особенности действия гормонов, связывающихся с мембранными рецепторами. Посредники в действии гормона на клетку: циклические пуриновые нуклеотиды, ионы кальция, продукты гидролиза фосфатидилинозитолов. Протеинкиназы, их роль в механизмах передачи гормонального сигнала.
3. Механизм действия гормонов, связывающихся с внутриклеточными рецепторами.
4. Тиреоидные гормоны: строение, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция гормонов.
5. Гормональная регуляция обмена кальция и фосфора. Гипер- и гипопродукция паратгормона.
6. Гормоны поджелудочной железы: инсулин и глюкагон, строение, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция гормонов.
7. Адреналин и норадреналин, строение, влияние на обмен веществ и функции. Гиперпродукция адреналина.

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

## РАБОТА. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА АДРЕНАЛИН

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Катехоламины синтезируются в мозговом слое надпочечников из тирозина. Адреналин и норадреналин стимулируют фосфоорилазную активность в печени, мышцах, способствуя распаду гликогена.

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

**ХОД РАБОТЫ:** взять две пробирки (контроль и опыт).

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

**РЕЗУЛЬТАТ:**

### 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 болезни Аддисона, коллагенозах, острых лейкозах, остро протекающих инфекционных заболеваниях.

**В Ы В О Д :**

**ЗАДАНИЕ 1.** Пациент проходил обследование. Ему был проведен тест толерантности к глюкозе. Получены следующие результаты: в пробе крови, взятой натощак уровень глюкозы составил 8,2 ммоль/л; в пробе, взятой через 1 час после сахарной нагрузки – 12,7 ммоль/л; в пробе, взятой через 2 часа после сахарной нагрузки – 13,1 ммоль/л. Определите тип гликемической кривой. Какая эндокринная патология наблюдается у пациента?

**ЗАДАНИЕ 2.** В образце крови содержание кальция 3,29 ммоль/л. С нарушением работы какой эндокринной железы это может быть связано?

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## **ЗАНЯТИЕ № 30**

### **ТЕМА: ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА МЕТАБОЛИЗМ**

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

#### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Глюкокортикоиды, строение кортизола, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.
2. Минералокортикоиды, строение альдостерона, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция гормона.
3. Женские половые гормоны, строение эстрадиола и прогестерона, влияние на обмен веществ и функции. Последствия избытка и недостатка гормонов.
4. Мужские половые гормоны, строение тестостерона, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.
5. Гормоны гипоталамуса и гипофиза, их биологическое действие. Соматотропин, кортикотропин, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция соматотропина.
6. Эйкозаноиды (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены) и их роль в регуляции метаболизма и физиологических функций.
7. Нарушения функции эндокринных желез: гипер- и гипопродукция гормонов.

#### **РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА ПО ТЕМЕ «БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ»**

##### **Задания для самостоятельной работы:**

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

2. Выступления студентов с подготовленными рефератами по предложенным темам.

**Темы рефератов:**

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

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Таблица – Характеристика основных гормонов

<b>Гормон</b>	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани-мишени



Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

Таблица – Характеристика основных гормонов

<b>Гормон</b>	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани- мишени

Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 31

### **ТЕМА: БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Состав пищи человека, значение питания для жизнедеятельности. Незаменимые факторы питания. Причины и биохимические характеристики синдрома недостаточного питания.
2. Нарушения питания. Квашиоркор, истощение, маразм. Причины развития, биохимические нарушения.
3. Витамины, история открытия, классификация, биологические функции. Витаминоподобные вещества.
4. Обеспеченность организма витаминами, гипо-, а- и гипервитаминозы, их причины. Роль микрофлоры толстого кишечника в синтезе некоторых витаминов.
5. Жирорастворимые витамины: А, Д, Е, К, пищевые источники, роль в организме, суточная потребность, проявление недостаточности и избытка в организме.
6. Водорастворимые витамины: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, РР, С, пантотенат, биотин, фолиевая кислота, пищевые источники витамина, роль в метаболизме, суточная норма потребления, проявления недостаточности.
7. Использование витаминов в клинической практике. Поливитаминные препараты.
8. Антивитамины, механизм действия, представители, их использование в медицине и научных исследованиях.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Знать строение витаминов: А, Д, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, РР, С, пантотеновая кислота.

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

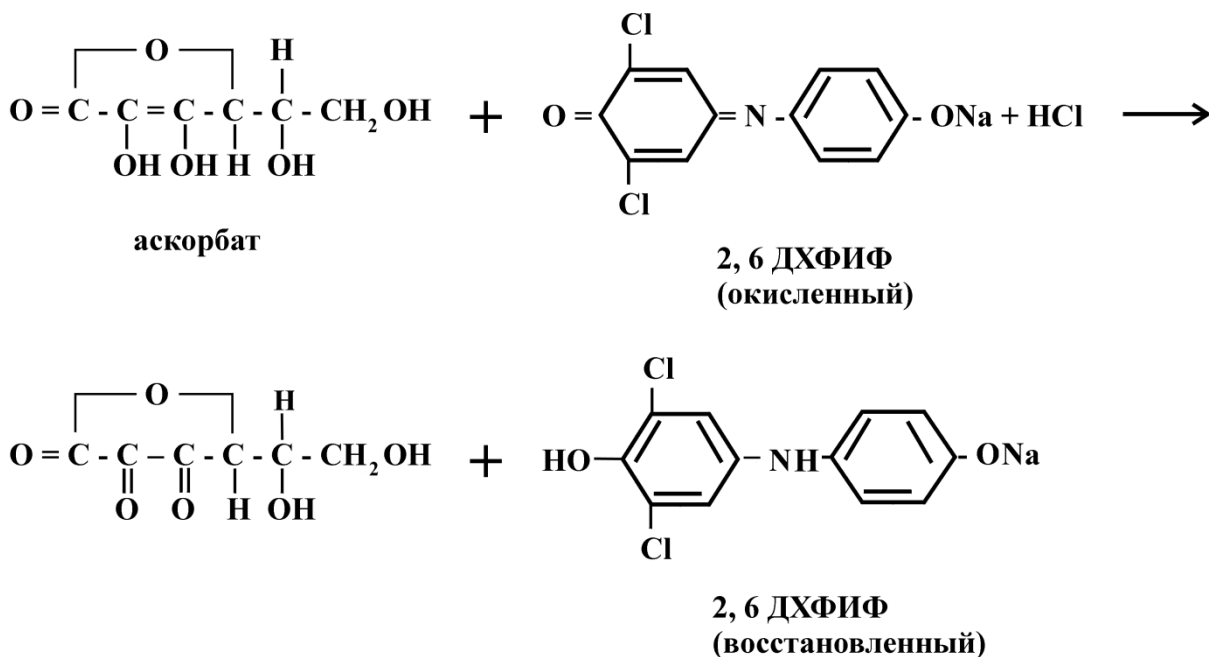
1. Принцип метода количественного определения аскорбиновой кислоты в моче.

## 2. Диагностическое значение определения витамина С в моче.

### РАБОТА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С В МОЧЕ

**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, препятствует окислению гемоглобина, является природным водорастворимым антиоксидантом. Недостаток витамина С в организме приводит к нарушению этих процессов. Витамин С проявляет иммуномодулирующую активность – повышает число лимфоцитов в периферической крови, хемотаксис и активность нейтрофильных лейкоцитов, увеличивает продукцию интерферонов, стимулирует макрофаги.

**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. Исследуемую пробу титруют в кислой среде щелочным раствором 2,6-ДХФИФ до розовой окраски.



ХОД РАБОТЫ: взять колбу.

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

РЕЗУЛЬТАТ: А=           мл.

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ рассчитывают по формуле:

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

0,088 – содержание аскорбиновой кислоты, мг

A – результат титрования

1500 – среднее суточное количество мочи, мл

10 – объем мочи, взятый для титрования, мл

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание витамина С в крови составляет **34-114 мкмоль/л**. Норма экскреции витамина с мочой = **20-30 мг/сут**.

Содержание витамина С в моче дает сведения о запасах витамина в организме. Если в организме есть дефицит витамина С, то его концентрация в моче не повышается даже при приеме 100 мг витамина. Уровень аскорбата в моче снижается при острых и хронических инфекционных заболеваниях, анемии, стеаторее, алкоголизме.

В Ы В О Д :

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 32

### **ТЕМА: БИОХИМИЯ КРОВИ**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Кровь, общая характеристика, функции крови.
2. Особенности метаболизма в форменных элементах крови.
3. Гемоглобин человека, строение, производные гемоглобина, варианты в онтогенезе. Гемоглобинопатии.
4. Участие гемоглобина в транспорте кислорода и углекислого газа кровью. Гипоксии.
5. Обмен железа. Трансферрин и ферритин. Железодефицитные анемии, их диагностика.
6. Белки плазмы крови, их классификация по функциям и характеристика.
7. Свертывание крови. Факторы свертывающей системы крови. Внутренняя и внешняя системы коагуляционного механизма. Роль витамина К в свертывании крови.
8. Противосвертывающие системы крови. Представление о гемофилиях и тромбозах.
9. Биохимический анализ крови, основные показатели, значение в клинико-лабораторной диагностике.

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

1. Биологическая роль гемоглобина в организме человека. Биологическая роль кальция в организме человека.
2. Принципы методов определения гемоглобина и кальция в крови.
3. Диагностическое значение определения гемоглобина и кальция в крови.

## РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА ГЕМОГЛОБИНЦИАНИДНЫМ МЕТОДОМ

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** Гемоглобин – сложный белок класса хромопротеинов, содержится в эритроцитах, транспортирует кислород из легких в ткани. В одном эритроците содержится около ~ 340000000 молекул гемоглобина. В крови человека в среднем содержится ~ 14,5% гемоглобина, его общее количество ~ 750 г. 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.

<b>Отмерить</b>	<b>Проба</b>	<b>Опыт</b>
	Рабочий реактив	5,0 мл
	Кровь	0,02 мл
Перемешать. Через 10 минут измерить экстинкцию опыта против контроля (рабочий реактив) при $\lambda$ 540 нм, кювета 1,0 см.		

**РЕЗУЛЬТАТ:**  $E_{оп} =$

Концентрацию гемоглобина в рассчитывают по формуле:

$$C_{оп} = E_{оп} \cdot 392 = \quad \text{г/л}$$



## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

Повышение концентрации гемоглобина возникает при потере жидкости; чрезмерной физической нагрузке; тканевой гипоксии (заболевания легких, приводящие к снижению легочной перфузии и плохой аэрации легких; сердечно-сосудистая недостаточность; условия высокогорья); при язвенной болезни.

Снижение концентрации гемоглобина наблюдается при анемиях, гемоглобинопатиях, дефиците витамина В<sub>12</sub>, 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 глиоксаль-бис-(2-гидроксианилом) (ГБОА) образует окрашенное соединение. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации кальция в сыворотке крови и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки.

	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Сыворотка крови, мл	-	-	0,02
Стандартный раствор Са, мл	-	0,02	-
H <sub>2</sub> O дист., мл	0,02		
Рабочий реактив, мл	2	2	2
Перемешать, инкубация 5 мин. Измерить экстинкцию опыта и стандарта относительно контроля, $\lambda = 574$ нм, кювета 0,5 см			

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

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ рассчитывают по формуле:

$$C_{оп} = \frac{E_{оп}}{E_{ст}} \cdot 2,5 = \quad \text{ммоль/л}$$

### КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

**Гиперкальциемия** наблюдается при гиперпаратиреозе, гипервитаминозе Д, акромегалии, злокачественных опухолях с поражением костей, миеломной болезни, саркоидозе, тиреотоксикозе, раке легкого, почки, поджелудочной железы, печени.

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

## В ы в о д :

**ЗАДАНИЕ 1.** Как изменяется уровень гемоглобина в сыворотке крови при длительной гипоксии? Объясните механизм этого явления.

**ЗАДАНИЕ 2.** Как изменяется уровень кальция у пожилых людей? Почему?

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 33

### **ТЕМА: БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Роль печени в обмене углеводов, липидов, аминокислот. Синтез белков плазмы в печени.
2. Обезвреживающая функция печени: обезвреживание токсических веществ путем защитных синтезов, микросомальным окислением, ацелированием, конъюгацией с глюкуроновой и серной кислотами.
3. Реакции синтеза гема, субстраты, ферменты.
4. Роль печени в пигментном обмене. Обмен билирубина в норме.
5. Нарушения обмена билирубина. Желтухи, их виды. Биохимическая диагностика желтух. Желчные пигменты крови, кишечника, мочи.
6. Биохимические механизмы развития патогенеза печеночной недостаточности и печеночной комы. Биохимические методы диагностики нарушений функций печени.

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

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

## **РАБОТА. 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 отдельное количественное определение общего, прямого и непрямого билирубина в сыворотке крови имеет значение для дифференциальной диагностики различных типов желтух.

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

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки.

	Объём, мл		
	Контроль	Общий билирубин	Прямой билирубин
Сыворотка	0,5	0,5	0,5
Кофеиновый реактив	1,75	1,75	–
NaCl, 0,9%	0,25	–	1,75
Диазореактив	–	0,25	0,25

Содержимое пробирок перемешать.

Инкубация при комнатной температуре:

**ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН** – 10 минут после внесения диазореактива. Измерить экстинкцию относительно контроля,  $\lambda = 500-600$  нм, кювета 0,5 см.

$$E_{\text{пр}} =$$

**ОБЩИЙ БИЛИРУБИН** – 20 минут после внесения диазореактива. Измерить экстинкцию относительно контроля,  $\lambda = 500-600$  нм, кювета 0,5 см.

$$E_{\text{общ}} =$$

**РЕЗУЛЬТАТ:**

1. Концентрацию прямого билирубина рассчитывают по формуле:

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

2. Концентрацию общего билирубина рассчитывают по формуле:

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

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

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

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

При **паренхиматозной** желтухе:

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

При **обтурационной** (механической) желтухе:

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

При **гемолитической** желтухе:

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

**В ы в о д :**

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата: \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 34

### **ТЕМА: БИОХИМИЯ ПОЧЕК И МОЧИ**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

1. Особенности метаболизма в почечной ткани.
2. Роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия.
3. Образование и роль биологически активных веществ в почках.
4. Электролитный состав биологических жидкостей.
5. Механизмы регуляции объема, электролитного состава, рН жидкостей организма.
6. Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия. Представление об обезвоживании, отеках, ацидозе, алкалозе.
7. Минеральные компоненты тканей, классификация, представители, биологическая роль.
8. Натрий, калий, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.
9. Кальций, фосфор, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.
10. Микроэлементы, биологическая роль (железо, медь, кобальт, йод, магний, цинк, марганец, селен).

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

1. Основные показатели анализа мочи в норме.
2. Патологические компоненты мочи (белок, глюкоза, кровяные пигменты, кетоновые тела, желчные пигменты), причины их появления, диагностическое значение их определения.



3. Принципы методов обнаружения патологических компонентов в моче.
4. Диагностическое значение биохимического анализа мочи (на примере: мочевины, мочевой кислоты, пировиноградной кислоты, витамина С, диастазы).

## РАБОТА: БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЧИ

**ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ.** К компонентам мочи, которые у здорового человека не обнаруживаются обычными качественными реакциями, относятся: белок, глюкоза, 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:** при наличии белка в моче в реакции с азотной (или сульфосалициловой) кислотой образуется белый осадок (денатурированный белок).

**ХОД РАБОТЫ:** взять две пробирки (контроль и опыт).

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>КОНТРОЛЬ</b>	<b>О П Ы Т</b>
М О Ч А, мл	-	1,0
Н <sub>2</sub> О, мл	1,0	-
Сульфосалицилат 20% (или наслоение на концентрированную азотную кислоту – ННО <sub>3</sub> )	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 при наслоении на азотную кислоту. Результат оценивают через 3 минуты.

**ХОД РАБОТЫ:**

- 1) отмерить в 4 пробирки по 1 мл  $\text{HNO}_3$ ;
- 2) в других 4-х пробирках приготовить разведения мочи по схеме:

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>ОПЫТ 1</b>	<b>ОПЫТ 2</b>	<b>ОПЫТ 3</b>	<b>ОПЫТ 4 и т.д.</b>
Разведение	нет	1 : 10	1 : 20	1 : 30
Моча, мл	1,0	0,1	0,1	0,1
$\text{H}_2\text{O}$ , мл	-	0,9	1,9	2,9
Наслоить с помощью пипетки 1 мл разведенной мочи на азотную кислоту				
$\text{HNO}_3$ конц., мл	1,0	1,0	1,0	1,0

**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:

<b>ОТМЕРИТЬ</b>	<b>ОПЫТ</b>
Реактив Гайнеса	9 капель
Моча	2 капли

Перемешать, нагреть до начала кипения.

**РЕЗУЛЬТАТ:**

#### **КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

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

**В Ы В О Д :**

#### **4. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА КРОВЯНЫЕ ПИГМЕНТЫ (Бензидиновая проба)**

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

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

**РЕЗУЛЬТАТ:**

**В ы в о д:**

#### **5. Полуколичественное определение компонентов мочи с помощью тест-полосок (экспресс-методы).**

Самой быстрой и современной диагностикой заболеваний организма человека в настоящее время считается диагностика методами «сухой химии». Внедрение экспресс-диагностических тест-полосок для полуколичественного определения физиологических и патологических компонентов мочи позволяет проводить анализ в присутствии пациента (в приемном отделении, в больничной палате или дома). Такой способ позволяет получить информацию о работе таких органов, как печень и почки, а также оценить состояние кислотно-щелочного баланса и углеводного

обмена в организме человека, наличие урологических патологий и других нарушений.

Тест-полоски состоят из ленты, изготовленной из пластика, примерно 5 мм в ширину. Они имеют сенсорные зоны, пропитанные химическими веществами, которые вступают в реакцию с соединениями, присутствующими в моче, в результате чего появляется характерное окрашивание. Полифункциональные полоски имеют несколько сенсорных зон индикации (от 2 до 13) и могут определять целый спектр веществ в моче. Тест-полоски определяют такие параметры, как: биохимические компоненты (билирубин, уробилиноген, белок, нитриты, кетоны, глюкоза и др.); физико-химические показатели (рН, удельный вес); клетки крови (скрытая кровь, лейкоциты). Чтение результатов осуществляется путем сравнения цвета сенсорных зон с цветовой шкалой, представленной на упаковке. Степень окрашивания сенсорной зоны пропорциональна концентрации вещества в образце мочи.

#### Правила проведения определения тест-полосками

1. Откройте упаковку, извлеките тест-полоску.
2. Сенсорные зоны полоски полностью погрузите в мочу.
3. Через 2-3 секунды извлеките полоску и удалите избыток жидкости на сенсорных зонах осторожным прикосновением ребра полоски к сухой чистой фильтровальной бумаге.
4. Тест-полоску положите на ровную сухую поверхность сенсорными зонами вверх.
5. Оценку результатов биохимического анализа проводить через 60 секунд после погружения сенсорных зон тест-полоски в мочу, сравнивая интенсивность окраски каждой сенсорной зоны с соответствующей цветовой шкалой на этикетке упаковки.

#### **ЗАДАНИЕ:**

С помощью тест-полосок проведите анализ образцов мочи №1, №2, №3 с целью выявления патологических компонентов. Результаты запишите.

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 35

### **ТЕМА: БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, МЫШЦ И СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ.**

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

### **ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА**

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

### **Контрольные вопросы к лабораторной работе:**

1. Содержание общего белка в спинномозговой жидкости в норме.
2. Значение определения общего белка в спинномозговой жидкости для диагностики болезней.

3. Принцип химического механизма метода определения общего белка в спинномозговой жидкости.

### РАБОТА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА В СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

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

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

**ХОД РАБОТЫ:** взять 2 пробирки ( контроль и опыт).

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

**РЕЗУЛЬТАТ:**

$E_{\text{оп}} =$

*Конечный результат:* определяют по калибровочному графику:

$C_{\text{общего белка}} =$



## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

**В ы в о д :**

Работа зачтена \_\_\_\_\_ подпись преподавателя

Дата \_\_\_\_\_

## ЗАНЯТИЕ № 36

**ТЕМА: ВЗАИМОСВЯЗЬ И ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА. ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ. ИТОГОВОЕ КОМПЬЮТЕРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ.**

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

### ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Уровни регуляции метаболизма: ЦНС, эндокринная система, внутриклеточный уровень.
2. Основные механизмы регуляции метаболизма: регуляция с участием мембран, циклических нуклеотидов, изменение количества ферментов, регуляция активности ферментов, гормональная регуляция.
3. Взаимосвязь метаболизма: общие промежуточные продукты различных метаболических путей.
4. Энергетические взаимосвязи между катаболическими и анаболическими путями.
5. Анализ интеграции метаболизма на примере схемы общих и специфических путей катаболизма.
6. Примеры метаболических нарушений: сахарный диабет, ожирение, голодание.
7. Предмет и задачи клинической биохимии.
8. Основные и специальные биохимические исследования.
9. Порядок проведения и трактовка результатов биохимических исследований в клинике.

### ***СОДЕРЖАНИЕ ЗАНЯТИЯ:***

1. Разбор вопросов теоретического раздела.
2. Проведение **компьютерного контроля знаний** по основам биохимии. (Результат учитывается при определении итоговой экзаменационной оценки).
3. Мониторинг знания студентами основных референтных биохимических показателей и итоговый результат освоения студентами основных навыков и умений, которыми овладели при изучении биологической химии.
4. Подведение итогов выполнения учебного плана по биологической химии.

### **ИТОГОВОЕ КОМПЬЮТЕРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ**

## РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ОСНОВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ВЗРОСЛЫХ

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

Мочевина	2,5–8,3 ммоль/л
Натрий	130–155 ммоль/л
С-реактивный белок	0–10 мг/л
Трансферрин	1,74–3,82 г/л
Триглицериды	0,4–1,54 г/л у женщин 0,45–1,82 г/л у мужчин
Фибриноген	2–4 г/л
Фосфор	0,8–1,6 ммоль/л
Хлориды	95–110 ммоль/л
Холестерол	3,6–5,2 ммоль/л
ЛПНП	2-4 г/л
Церулоплазмин	150–600 мг/л
Щелочная фосфатаза	18–306 Ед/л
<b><i>МОЧА</i></b>	
Амилаза	28–160 г/ч•л
Мочевая кислота	1,6–6,4 ммоль/сут
Мочевина	333–583 ммоль/сут
<b><i>СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ</i></b>	
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. Меншикова. – 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  $\text{OH}^-$  уменьшается; обычно алкалоз сопровождается повышением рН крови.

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

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

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

**Аминокислоты** – карбоновые кислоты с аминогруппой в  $\alpha$ -положении.

**Аминотрансферазы** – группа ферментов, катализирующих перенос аминогрупп от  $\alpha$ -аминокислот к  $\alpha$ -кетокислотам; их называют также трансминазами.

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

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

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

**Аполипопротеин** – белковая часть липопротеина.

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

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

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

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

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

**Белки острой фазы** – белки плазмы крови, связанные с воспалением, например С-реактивный белок,  $\alpha_1$ -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, плазида 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 гемопротейнов.

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

**Гемопротейн** – 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-дезоксид-рибозу.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Донор электронов** – донор электронов в окислительно-восстановительной реакции.

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

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

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

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

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

**Изотопы** – стабильные или радиоактивные формы элемента, различающиеся по молекулярной массе, но химически очень близкие к наиболее распространенной в природе форме данного элемента; применяются в качестве меток.

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

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

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

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

**Ингибитор** – агент, подавляющий или замедляющий ферментативные реакции.

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

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

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

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

**Иницирующий комплекс** – комплекс рибосомы с мРНК и иницирующей Met-тРНК<sup>Met</sup> или fMet-тРНК<sup>fMet</sup>, 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<sup>2+</sup>-связывающий белок; связывание с

$\text{Ca}^{2+}$  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  $\alpha$ -спиральной или  $\beta$ -конформации.

**Кетоз (кетоацидоз)** – состояние, при котором концентрация кетоновых тел в крови, тканях и моче аномально высока.

**Кетоновые тела** – продукты неполного окисления жирных кислот - ацетоацетат, D- $\beta$ -гидроксибутират и ацетон.

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

**Ковалентная связь** – химическая связь, образованная общей электронной парой.

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

**Компартментализация** – структурная или функциональная специализация частей клетки.

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

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

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

**Конформация** – трехмерная структура макромолекулы.

**Кортикостероиды** – стероидные гормоны, вырабатываемые корой надпочечников.

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

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

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

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

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

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

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

**Липопротеины** – сложный белок, содержащий липид или группу липидов.

**Матричная РНК (мРНК)** – класс молекул РНК, каждая из которых комплементарна одной цепи клеточной ДНК и служит для переноса генетической информации от хромосомы к рибосомам.

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

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

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

**Метаболит** – любой продукт или субстрат метаболизма, чаще катаболизма.

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

**Микросомы** – окруженные мембраной пузырьки, образованные в результате фрагментации эндоплазматического 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.

**$\beta$ -Окисление** – окислительное расщепление жирных кислот с образованием ацетил-СоА за счет последовательных актов окисления  $\beta$ -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.

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

**Оптическая активность** – способность вещества вращать плоскость плоскополяризованного света.

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

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

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

**Пептидаза** – фермент, катализирующий гидролиз пептидной связи.

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

**Пептидная связь** – замещенная амидная связь между  $\alpha$ -аминогруппой одной аминокислоты и  $\alpha$ -карбоксильной группой другой.

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

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

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

**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.

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

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

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

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

**Протеолитический фермент** – фермент, катализирующий гидролиз белков или пептидов.

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

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

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

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

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

**Ренатурация** – сворачивание денатурированного глобулярного белка с образованием нативной конформации.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Саркомер** – функциональная и структурная единица мышечной сократительной системы.

**Сателлитная ДНК** – высокоповторяющиеся нетранслируемые участки ДНК в эукариотических клетках.

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

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

**Складчатая структура** – организация связанных водородными связями расположенных рядом («бок о бок») полипептидных цепей в вытянутой  $\beta$ -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.

**$\alpha$ -Спираль** – скрученная, спиральная конформация полипептидной цепи, характеризующаяся максимальным числом внутримолекулярных водородных связей.

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

**Стероиды** – класс липидов, содержащих циклопентанфенантроновую кольцевую структуру.

**Структурный ген** – ген, кодирующий белки и РНК.

**Субстрат** – определенное соединение, на которое действует фермент.

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

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

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

**Токоферолы** – группа соединений, представляющих собой формы витамина Е.

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

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

**Трансаминирование** – ферментативный перенос аминокетильной группы от  $\alpha$ -аминокислоты к  $\alpha$ -кетокислоте.

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

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

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

**Транслоказа** – фермент, вызывающий перемещение рибосомы вдоль мРНК.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Факторы терминации** – см. Рилизинг-факторы.

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

**Ферменты** – белки, катализирующие различные метаболические реакции.

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

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

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

**Флавопротеин** – белок, содержащий в качестве 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.

**Фосфоролит** – 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, содержащиеся 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, сопрово-

ждающаяся 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 аминоксил-тРНК.

41. Строение рибосом и их роль в синтезе белка.

42. Биосинтез белка у эукариот – этапы, схема. Посттрансляционные изменения белков.

43. Регуляция синтеза белка. Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.

44. 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 характери-

стика 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 В<sub>1</sub>. Строение, свойства, активная форма, участие в метаболизме, пищевые источники, суточная потребность. Проявления недостаточности.

72. Витамин В<sub>2</sub>. 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 В<sub>6</sub>. Строение, свойства, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.

75. Пантотеновая кислота. Строение, свойства, активная форма (HS-КоА), 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 недоста-

точности, основные признаки.

79. Витамин В<sub>12</sub>. 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<sup>+</sup> (НАДФ<sup>+</sup>)-зависимые 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 P/O.

94. Регуляция цепи тканевого дыхания. Активаторы, ингибиторы, разобщители ЦТД и окислительного фосфорилирования. На-



рушения энергетического обмена (гипоксии, гиповитаминозы РР, В<sub>2</sub>).

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.

## **Х. 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 не-окислительные 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.  $\beta$ -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<sub>2</sub> 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 холестерина в организме. Транспорт холестерина в крови.

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

136. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм, биологические функции. Желчекаменная болезнь. Механизмы образования холестеринových 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 гиперлипидемии, 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, биологиче-

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

159. Механизмы регуляции объема, электролитного состава, рН 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 жел-

тух. 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.

Учебное издание

**Лелевич Владимир Валерьянович**  
**Леднева Ирина Олеговна**  
**Петушок Наталья Эдуардовна**

## **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

Практикум  
для студентов, обучающихся  
по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело»

Ответственный за выпуск В. В. Воробьев

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной

Подписано в печать 05.08.2020.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Times New Roman. Ризография.  
Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 4,72. Тираж 330 экз. Заказ 94.

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