Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра биологической химии

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум
для студентов, обучающихся
по специальности 1-79 01 02 «Педиатрия»

Гродно
ГрГМУ
2020

УДК 577.1
ББК 28.902
Б 63

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

Авторы: зав. каф. биохимии, проф. В. В. Лелевич;
проф. каф. биохимии В. М. Шейбак;
доц. каф. биохимии И. О. Леднева;
доц. каф. биохимии Н. Э. Петушок.

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

Биологическая химия : практикум для студентов, обучающихся по специальности 1-79 01 02 «Педиатрия» / В. В. Лелевич, В. М. Шейбак, И. О. Леднева, Н. Э. Петушок. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – 168 с.
ISBN 978-985-595-279-5.

Практикум по биологической химии для студентов педиатрического факультета высших медицинских учебных учреждений содержит весь перечень лабораторных работ в соответствии с действующей учебной программой, а также референтные величины для основных биологических показателей и рекомендуемую учебную литературу. Практикум содержит также экзаменационные вопросы по биологической химии для студентов педиатрического факультета.

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

УДК 577.1
ББК 28.902

ISBN 978-985-595-279-5

© ГрГМУ, 2020

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 клинико-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 на занятии в рабочем протоколе необходимо записать:

- наблюдения или регистрируемые на приборах данные (оптическую плотность);
- 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 другие).

После выполнения работы тщательно вымыть руки.

2. Реактивами

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

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

2.3. Реактивы необходимо предохранять от загрязнения.

2.4. Реактивы следует расходовать экономно.

2.5. Недопустимо набирать реагенты в мерные пипетки ртом.

3. Электрическими приборами

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

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

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

4. Центрифугами в лабораторном практикуме

4.1. В центрифугу помещают парное (четное) количество уравновешенных пробирок.

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

4.3. Проверяют, чтобы центрифужная камера была закрыта крышкой.

4.4. Устанавливают необходимую скорость вращения ротора центрифуги.

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

4.6. Во время работы центрифуги запрещается открывать крышку камеры.

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

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

5. Газовыми и другими нагревательными приборами

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

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

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

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

6. Водопроводом

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

7. Химической посудой и вспомогательными приспособлениями для выполнения методик

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

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

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 1

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 объёма. Пипеткой фиксированного объёма можно набирать только тот объем, который предусмотрен моделью данной пипетки. В пипетке переменного объема можно выбирать объем, необходимый для анализа, из заданного в модели диапазона (например, 20-200 или 100-1000 мкл). Выбор объёма дозирования происходит с помощью специального регулировочного колёсика на корпусе пипетки.

Правила пользования автоматическими пипетками:

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

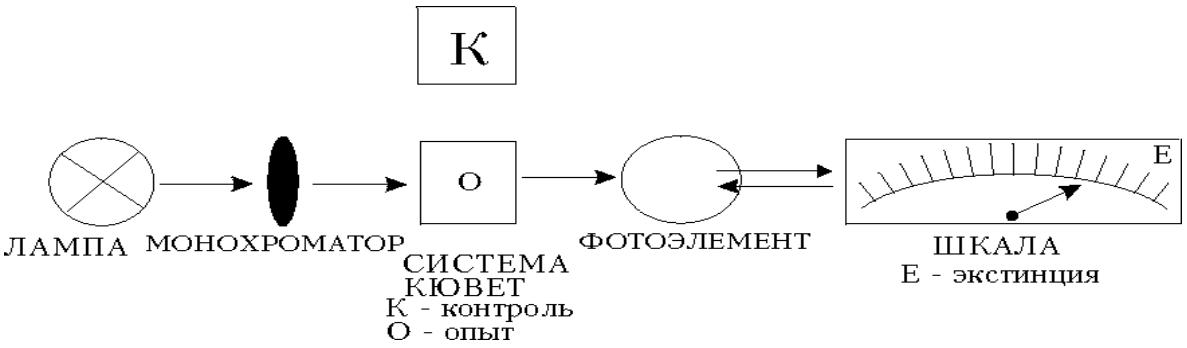
ХОД РАБОТЫ:

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

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

Колориметрическим методом определяют концентрацию веществ в окрашенных прозрачных растворах по интенсивности 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, λ). 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»). Потоки 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):

1.

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

где C_o – концентрация опытной пробы;
E_o – экстинкция опытной пробы;
$C_{ст}$ – концентрация стандартной пробы;
$E_{ст}$ – экстинкция пробы со стандартным раствором.

2) 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 $CuSO_4$:
   $E_{2\%}$= , $E_{5\%}$=

2. Используя полученные значения постройте калибровочный график (график зависимости экстинкции Е от концентрации с):

Работа зачтена_____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 2

ТЕМА: БЕЛКИ: СОСТАВ И СВОЙСТВА

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

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. История изучения белков.
2. Аминокислоты, строение, представители, классификация.
3. Классификация белков по функциям, форме белковой молекулы. Содержание белков в тканях.
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.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

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

РАБОТА № 1. ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НА БЕЛКИ И АМИНОКИСЛОТЫ

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

1. Биуретовая реакция на белки

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

ХОД РАБОТЫ:

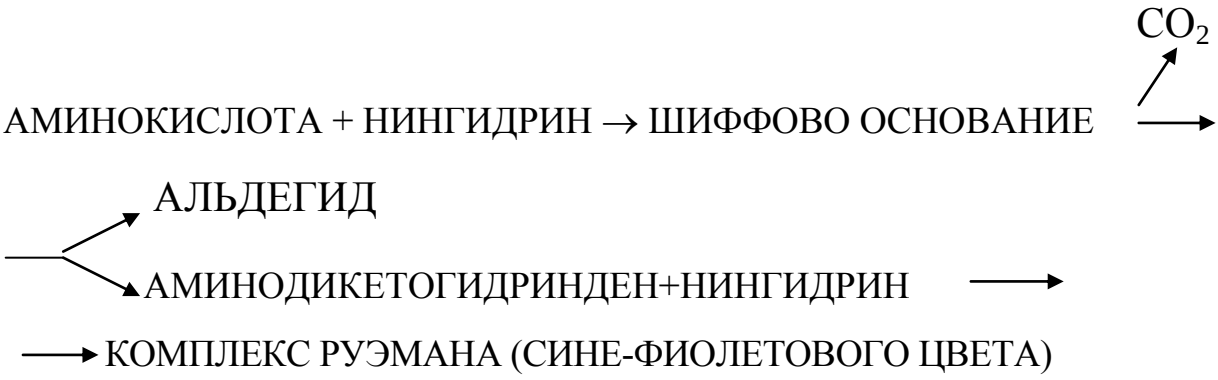
Растворы	Количество
Раствор белка	5 капель
NaOH, 10 %	5 капель
$CuSO_4$, 1 %	2 капли

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

2. Нингидриновая реакция

ПРИНЦИП МЕТОДА: аминокислоты, пептиды и белки при кипячении с раствором нингидрина дают синее окрашивание (комплекс Руэмана). Реакция характерна для аминогрупп, находящихся в α-положении.



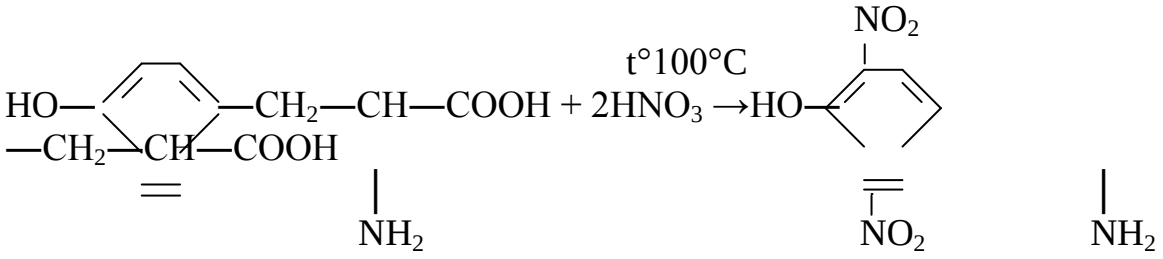
ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество
Раствор белка Нингидрин 0,5 %	5 капель 5 капель
Кипятить до появления окраски	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

3. Ксантопротеиновая реакция (реакция Мульдера) (на ароматические аминокислоты)



тирозин динитротирозин

ПРИНЦИП МЕТОДА. При нагревании с азотной кислотой происходит нитрование ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан). Это проявляется появлением желтого окрашивания.

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество
раствор белка	5 капель
HNO_3 концентрированная	5 капель
Кипятить до появления окраски	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

4. Реакция Фоля на цистеин

ПРИНЦИП МЕТОДА. Реакция на слабосвязанную серу в составе аминокислоты цистеин. Конечный продукт (сульфид свинца) черного цвета.

$$\text{ЦИСТЕИН} + 4NaOH + (CH_3COO)_2Pb \xrightarrow{+2H_2O} \text{Серин} + PbS\downarrow + 2CH_3COOH$$

ацетат свинца — сульфид свинца

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество
Раствор белка	5 капель
NaOH, 30%	5 капель
Раствор $(CH_3COO)_2$ Pb 5%	1 капля
Кипятить до появления окраски.	

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

РАБОТА № 2. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА СЫВОРОТКИ КРОВИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ**

ПРИНЦИП МЕТОДА. Раствор белка при взаимодействии с сульфатом меди в щелочной среде дает сине-фиолетовое окрашивание. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка в растворе и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Контроль	Опыт
Реактив Горнала ($CuSO_4$/NaOH)	4,0 мл	4,0 мл
Сыворотка	-	0,1 мл
NaCl 0,9 %	0,1 мл	-
Перемешать, фотометрировать через 20 минут. Кювета 10мм, λ = 540 нм (зеленый светофильтр)		

РЕЗУЛЬТАТ: измерение на колориметре проводят против контрольной пробы и отмечают экстинкцию.

$E_{оп}$ =

Конечный результат: определяют по калибровочному графику.

$C_{оп}$ = г/л

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание общего белка (общий белок крови = альбумины + глобулины) в сыворотке крови у взрослых – 65-85 г/л, у новорожденных 46-70 г/л, у детей до 14 лет 58-76 г/л.

Повышение концентрации общего белка сыворотки крови **(гиперпротеинемия)** может быть **абсолютным**, когда количество белков плазмы увеличивается без изменения объема циркулирующей крови, и **относительным**, что связано со сгущением крови.

Наиболее часто к абсолютной гиперпротеинемии приводят следующие состояния: злокачественные опухоли усиленно продуцирующие протеины; тяжелые острые инфекционные заболевания, сопровождающиеся образованием обширных гнойных очагов и сепсисом; аутоиммунные заболевания (ревматоидный артрит и красная волчанка).

Относительную гиперпротеинемию вызывает снижение концентрации жидкости в кровеносном русле вследствие обезвоживания организма при: острых кишечных инфекциях; отравлениях, которые сопровождаются многократной рвотой и диареей; острых кровотечениях; длительное назначение кортикостероидов, передозировка некоторых лекарственных препаратов, чаще всего витамина А.

Снижение концентрации белка в сыворотке крови **(гипопротеинемия)** отмечается при: низком потреблении белка с пищей; синдроме мальабсорбции – недостаточное всасывание белков в тонком кишечнике в результате воспалительных заболеваний (колита, инфекций, панкреатита) либо пищевой непереносимости (целиакии); заболеваниях печени, приводящих к нарушению формирования фракции альбуминов, – гепатиты, цирроз, печеночная недостаточность; патологии почек, провоцирующей активное выведение белков с мочой, – нефротический синдром, пиелонефрит, гломерулонефрит.

ВЫВОД:

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 установления. Зависимость биологических свойств и видовой специфичности белков от первичной структуры.
2. Вторичная структура белка, ее виды, методы установления, связи, стабилизирующие вторичную структуру.
3. Третичная структура белка, методы ее установления, виды стабилизирующих связей.
4. Зависимость биологических свойств белков от третичной структуры. Денатурация белка, факторы, ее вызывающие, практическое использование.
5. 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.

РАБОТА № 1. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКОВ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ АЗОТНОЙ КИСЛОТОЙ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: показать влияние изменения pH на устойчивость белков в растворах.

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

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество
HNO_3 концентрированная	10 капель

Набрать в пипетку 1 мл раствора белка. Приставить кончик пипетки к стенке пробирки изнутри, наклонив пипетку под углом 45^o, и осторожно по стенке пробирки наслоить раствор белка на азотную кислоту так, чтобы обе жидкости не смешивались.

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

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

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Методом высаливания обратимо осаждают белки, фракционируют их. Используют для выделения и очистки белков, в том числе ферментов.

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

ХОД РАБОТЫ:

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

В Ы В О Д:

Работа зачтена_____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 4

ТЕМА: МНОГООБРАЗИЕ БЕЛКОВ И ИХ ФУНКЦИИ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о биологических функциях белков. Получить представление о типах гидролиза. Освоить методику кислотного гидролиза белка и биуретовый метод определения концентрации белка.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Многообразие белков и их функции. Лиганды и функционирование белков.
2. Биологически активные пептиды, классификация, представители. Глутатион.
3. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции.
4. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.
5. Изменение белкового состава в онтогенезе, при болезнях. Иммуноглобулины у детей.
6. Количественное определение белков в растворах и тканях. Содержание белков в тканях детского организма.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Гидролиз белков и его типы, схема.
2. Контроль полноты кислотного гидролиза (биуретовая реакция).
3. Практическое использование гидролиза и белковых гидролизатов.
3. Принципы методов количественного определения белков в растворе:
   а) колориметрические;
   б) спектрофотометрический.

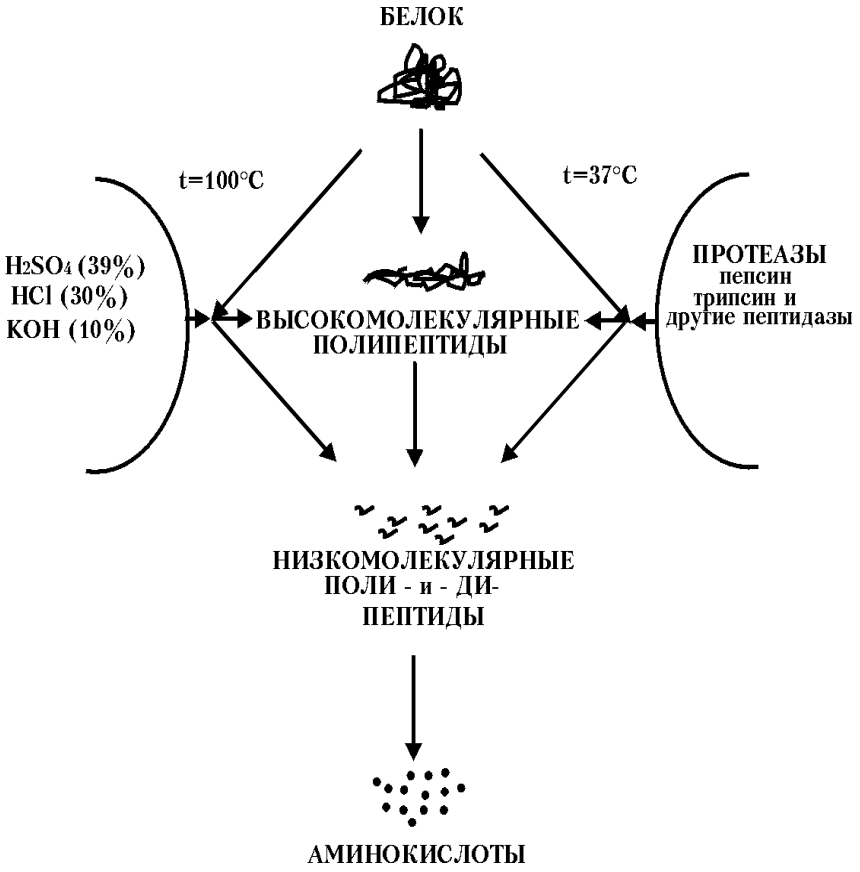
3. Клинико-диагностическое значение определения общего белка в сыворотке крови.

РАБОТА. **КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ**

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

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

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



ХОД РАБОТЫ:

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

↓

2. Добавить 5 мл концентрированной HCl.

↓

↓

3. 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

↓

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

↓

6. Нейтрализовать содержимое пробирки 20% NaOH, используя лакмусовую бумагу для контроля pH.

↓

7. В пробирку № 1 отобрать 0,5–1 мл раствора яичного белка (5 капель).

↓

8. Провести биуретовую реакцию в пробирках № 1 и № 2. Сравнить получившуюся окраску.

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д:

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. Химическая природа ферментов. Активный и аллостерический центры.
3. Свойства ферментов. Специфичность действия ферментов.
4. Кофакторы ферментов: ионы металлов, коферменты. Коферментные функции водорастворимых витаминов.
5. Механизмы действия ферментов.
6. Классификация и номенклатура ферментов.
7. Изоферменты.
8. Единицы измерения активности ферментов.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Реакция, катализируемая амилазой. Принцип метода определения активности фермента.
2. Факторы, влияющие на активность амилазы (температура, активаторы, ингибиторы).
3. Принцип метода определения активности амилазы в сыворотке крови 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 проте-

кания ферментативных реакций от температуры (термолабильность).

ПРИНЦИП МЕТОДА:

амилаза амилаза

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

Крахмал дает с иодом синий цвет.

Декстрины дают с иодом фиолетовое, красно-бурое окрашивание.

Мальтоза – желтый (цвет иода в воде).

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

Растворы и ход работы	Количество (опыт-1)	Количество (опыт-2)	Количество (опыт-3)
Крахмал 1 % Амилаза слюны (разведение 1:10)	0,5 мл 0,5 мл	0,5 мл 0,5 мл	0,5 мл 0,5 мл
Поместить пробирки на 10 минут	Комнатная температура (20^oC)	Термостат (40^oC)	Кипящая водяная баня (100^oC)
Через 10 минут во все пробирки добавить по 1-2 капли KI 1%			

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.

Растворы	Количество (контроль)	Количество (опыт-1)	Количество (опыт-2)
H_2O	10 капель	8 капель	8 капель
NaCl 1 %	-	2 капли	-
$CuSO_4$ 1 %	-	-	2 капли
Амилаза слюны (1:10)	20 капель	20 капель	20 капель
Крахмал 1%	5 капель	5 капель	5 капель

↓

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

↓

Добавить по 2-3 капли KI 1% йода во все пробирки.

РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

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

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

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

ХОД РАБОТЫ: взять опытную пробирку.

ОТМЕРИТЬ	ОПЫТ
Рабочий реактив, мл	2
прогреть 2 мин в термостате при 37° С	
Сыворотка, мл	0,04
Перемешать и инкубировать 2 минуты при 37 ^{0}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 α-амилазы = ($E_2 – E_1$) х 843,3 = Е/л.

Внимание: Активность α-амилазы сильно зависит от температуры проведения анализа, поэтому необходимо следить, чтобы температура была именно 37 ^{0}С.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

Повышение активности фермента наблюдается при паротите, остром и хроническом панкреатите, раке поджелудочной железы, перитоните, циррозе печени, остром инфекционном гепатите, почечной недостаточности, внематочной беременности, диабетическом кетоацидозе, язве желудка, гастрите. Для острого панкреатита (заболевание поджелудочной железы) характерно резкое повышение амилазной активности, превышающее нормальные цифры в 10—30 раз.

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

ВЫВОД:

Работа зачтена_____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 6

ТЕМА: КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания о кинетике ферментативных реакций и 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.
   - 3.3. Ковалентная модификация структуры ферментов: фосфорилирование-дефосфорилирование, ограниченный протеолиз.
4. Применение ингибиторов ферментов в медицине.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

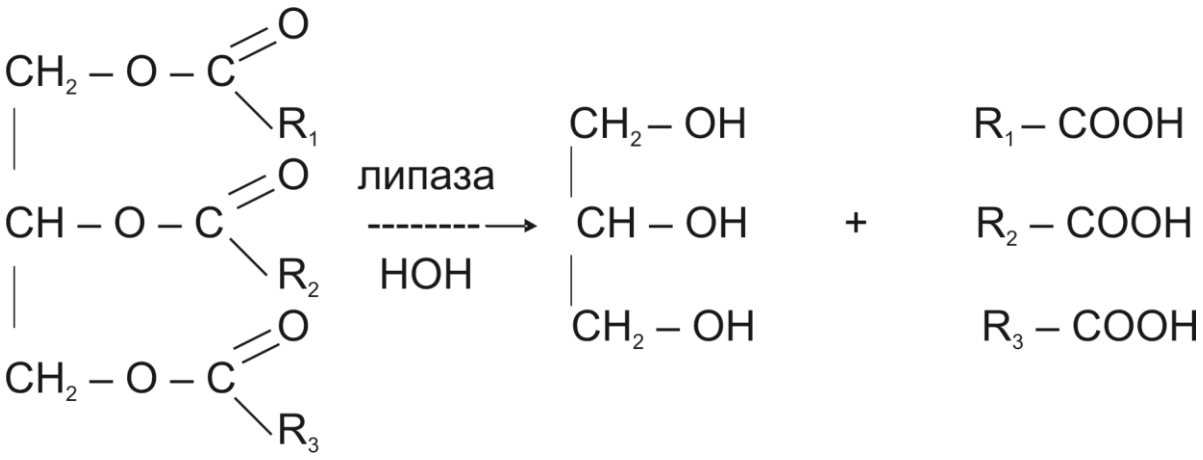
1. Реакция, катализируемая липазой, ее роль в процессе пищеварения.
2. Факторы, активирующие липазу в кишечнике.
3. Принцип метода количественного определения активности липазы.

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, ак-

тивируют липазу и участвуют во всасывании продуктов переваривания липидов. Изучая кинетику действия липазы, можно проследить в динамике активность фермента и обозначить факторы, влияющие на этот процесс (температура, концентрация субстрата и продуктов реакции, жёлчь).

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



триацилглицерол **глицерол** **жирные кислоты**

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.

ОТМЕРИТЬ	**ОПЫТ-1 (без желчи)**	**ОПЫТ-2 (с желчью)**
Молоко (**1:10**), мл	10,0	10,0
H_2O, мл	1,0	-
Раствор желчи, мл	-	1,0
Липаза из поджелудочной железы, мл	1,0	1,0

	Перемешать, отобрать из пробирок по 2 мл смеси в соответствующие колбы, после этого пробирки поместить в термостат при 37°С. В колбы добавить 1-2 капли фенолфталеина и титровать 0,01 н NaOH до розовой окраски.

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:

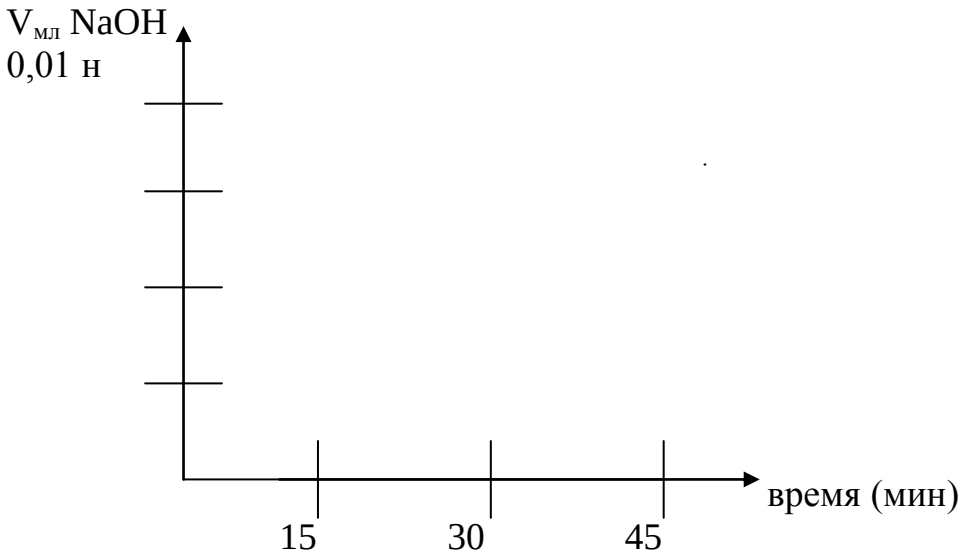
При первом титровании определяют исходное количество жирных кислот (**X** – объем щелочи в **мл**), присутствующих в молоке до начала действия липазы. Этот объем (**X)** вычитают из результатов последующих титрований (Y, Z, E) для каждой опытной пробы: опыт-1 – без желчи, опыт-2 – с желчью.

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	**X**		
15	Y – X = Δ Y		
30	Z – X = Δ Z		
45	E – X = Δ E		

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ: полученные данные используют для построения графика.

Кинетика действия липазы:



В Ы В О Д :

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. Изменение ферментативного состава в онтогенезе.
3. Определение активности ферментов в крови с диагностической целью. Причины ферментемии, происхождение ферментов плазмы крови.
4. Изменение активности ферментов при патологии. Наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные) энзимопатии.
5. Применение ферментов для лечения болезней. Иммобилизованные 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 используется 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 α-спираль и β-структуру. На рисунке указать виды связей, стабилизирующих вторичную структуру. Указать количественные характеристики α-спирали (шаг спирали, диаметр спирали и др.).

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

а) Глюкоза + АТФ ⟶ Глюкозо-6-фосфат;

б) Глюкозо-1-фосфат ⟶ Глюкозо-6-фосфат;

в) Лактат + НАД+ ⟶ Пируват + НАДН+Н+

г) Крахмал + HO_2 ⟶ 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. Аминокислоты, строение, представители, классификация.
3. Классификация белков по функциям, форме белковой молекулы. Содержание белков в тканях.
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. Первичная структура белка, методы ее установления. Зависимость биологических свойств и видовой специфичности белков от первичной структуры.
8. Вторичная структура белка, ее виды, методы установления, связи, стабилизирующие вторичную структуру.
9. Третичная структура белка, методы ее установления, виды стабилизирующих связей.
10. Зависимость биологических свойств белков от третичной структуры. Денатурация белка, факторы, ее вызывающие, практическое использование.
11. Четвертичная структура белка, ее биологическое значение.
12. Многообразие белков и их функции. Лиганды и функционирование белков.
13. Биологически активные пептиды, классификация, представители. Глутатион.
14. Простые белки, представители, характеристика, биологические функции. Иммуноглобулины у детей.
15. Сложные белки, представители, характеристика, биологические функции.
16. Количественное определение белков в растворах и тканях. Клинико-диагностическое значение определения общего белка в сыворотке крови.
17. Содержание белков в тканях детского организма. Изменение белкового состава в онтогенезе, при болезнях.

18. История открытия и изучения ферментов.
19. Химическая природа ферментов. Активный и аллостерический центры. Механизмы действия ферментов.
20. Кофакторы ферментов: ионы металлов, коферменты. Коферментные функции витаминов.
21. Свойства ферментов. Специфичность действия ферментов.
22. Классификация и номенклатура ферментов.
23. Изоферменты.
24. Единицы измерения активности ферментов.
25. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, pH, концентраций субстрата и фермента.
26. Ингибиторы и активаторы ферментов. Типы ингибирования: обратимое (конкурентное и неконкурентное), необратимое.
27. Применение ингибиторов ферментов в медицине.
28. Механизмы регуляции ферментативной активности: аллостерическая регуляция, ковалентная модификация структуры ферментов.
29. Различия ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты.
30. Изменение ферментного состава в онтогенезе.
31. Определение ферментов в плазме крови с диагностической целью. Причины ферментемии, происхождение ферментов плазмы крови.
32. Изменение активности ферментов при патологии. Наследственные (первичные) и приобретенные (вторичные) энзимопатии. Клинико-диагностическое значение исследования активности амилазы (диастазы) мочи.
33. Применение ферментов для лечения болезней. Иммобилизованные 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 человека. Представление об азотистом балансе.
2. Источники и пути использования аминокислот в тканях.
3. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте.
4. Всасывание аминокислот, наследственные нарушения транспорта аминокислот.
5. Требования к белковому питанию детей. Особенности переваривания и всасывания белков у детей.
6. Превращение аминокислот микрофлорой кишечника.
7. Трансаминирование аминокислот, ферменты. Коферментная функция витамина B_6. Механизм трансаминирования аминокислот. Биологическое значение.
8. Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование и восстановительное аминирование.
9. Непрямое дезаминирование аминокислот (трансдезаминирование), биологическое значение.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

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

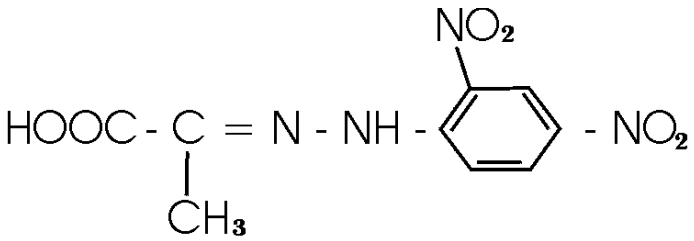
РАБОТА. **АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНО-ТРАНСФЕРАЗЫ (АлАТ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

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

ПРИНЦИП МЕТОДА: аланинаминотрансфераза катализирует реакцию:

$$\text{аланин} + \alpha\text{-кетоглутарат} \xrightleftharpoons[B_6]{\text{АлАТ}} \text{глутаминовая кислота} + \text{пируват}$$

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



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

ХОД РАБОТЫ:

ПРОБА / Растворы	1 ОПЫТ	2 КОНТРОЛЬ
СУБСТРАТ NaCl 1% СЫВОРОТКА КРОВИ	0,25 мл -- 0,05 мл	0,25 мл 0,05 мл --
Инкубируют в термостате 30 минут при 37°С		
2,4-Динитрофенилгидразин	0,25 мл	0,25 мл
Перемешать, оставить на 20 минут при комнатной температуре.		
NaOH	2,5 мл	2,5 мл

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

РЕЗУЛЬТАТ: Δ Е =

По калибровочному графику активность аланинаминотрансферазы составляет …….. ммоль/ч·л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови у взрослых в норме: 0,1-0,68 ммоль/ч·л, у новорожденных 0,06-0,27 ммоль/ч·л, у детей 2-14 лет 0,09-0,64 ммоль/ч·л.

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

ВЫВОД:

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, реакции окисления.
2. Пути образования и обезвреживания аммиака в организме.
3. Тканевое обезвреживание аммиака (синтез глутамина и аспарагина). Глутаминаза почек и печени. Образование и выведение солей аммония.
4. Биосинтез мочевины. Нарушения синтеза и выведения мочевины.
5. Особенности обмена аминокислот в детском возрасте. Конечные продукты азотистого обмена и их экскреция в онтогенезе.
6. Метаболизм метионина: образование S-аденозилметионина, его участие в реакциях трансметилирования.
7. Синтез креатина, его биологическая роль. Образование цистеина. Наследственные нарушения обмена серусодержащих аминокислот.
8. Пути обмена фенилаланина и тирозина в норме и патологии. Наследственные нарушения обмена фенилаланина и тирозина (фенилкетонурия, тирозиноз, алкаптонурия, альбинизм).

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Принцип метода количественного определения мочевины в крови.
2. Принцип метода определения мочевины в сыворотке крови.
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: мочевина гидролизуется в присутствии уреазы с образованием аммиака и CO_2. Далее аммиак в реакции, катализируемой глутаматдегидрогеназой (ГДГ), взаимодействует с α-кетоглутаратом с образованием глутамата. В ходе реакции происходит окисление восстановленного НАД. Уменьшение концентрации НАДН пропорционально содержанию мочевины.

$$\text{Мочевина} + 2H_2O \xrightarrow{\textit{уреаза}} 2NH_4^+ + CO_3^{2-}$$

$$NH_4^+ + \alpha\text{-кетоглутарат} + \text{НАДН} \xrightarrow{\textit{ГДГ}} \text{L-глутамат} + \text{НАД}^+ + 2H_2O$$

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

ОТМЕРИТЬ	КОНТРОЛЬ	СТАНДАРТ	ОПЫТ
Рабочий реактив, мл	–	2,0	2,0
H_2O, мл	2,0	–	–
Прогреть пробирки в термостате при 37^0С 1 мин.			
Сыворотка крови, мл	–	–	0,02
Стандарт, мл $C_{ст}$=13,33	–	0,02	

Тщательно перемешать и измерить поглощение опытной и стандартной пробы относительно контроля (воды) через 1мин ($E_{1оп}$ и $E_{1ст}$), затем через 2 мин ($E_{2оп}$ и $E_{2ст}$). 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

$$C_{моч} = \frac{\Delta Eоп \times Cст}{\Delta Eст} =$$ 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

Дата: _____

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, собенности 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.

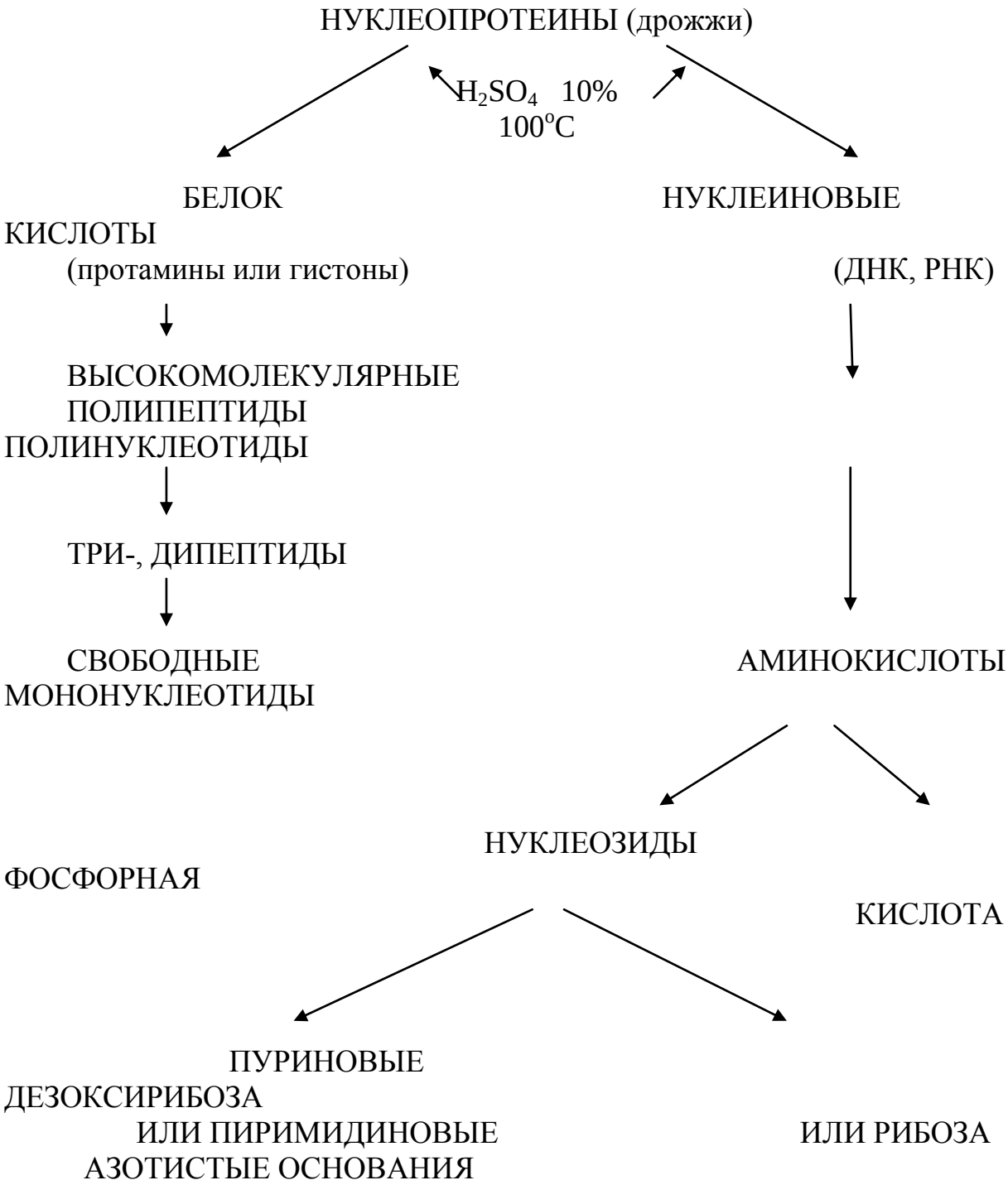
Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе.

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. **ГИДРОЛИЗ НУКЛЕОПРОТЕИНОВ ДРОЖЖЕЙ**

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Кислотный гидролиз используется для изучения химического состава нуклеопротеинов. Гидролиз протекает по следующей схеме:

СХЕМА ГИДРОЛИЗА НУКЛЕОПРОТЕИНОВ



Продукты гидролиза открывают специфическими реакциями:

- полипептиды – **биуретовой реакцией** (растворы белков и пептидов в щелочной среде в присутствии сульфата меди окрашиваются в сине-фиолетовый цвет);
- пуриновые основания – **серебряной пробой** (серебряные соли пуринов образуют светло-коричневый осадок),

- пентозы – **пробой Троммера** (выпадает красный осадок Cu_2O или желтый осадок $Cu(OH)_2$ 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^oC) 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% CuSO4 1%	5 капель 10 капель 1-2 капель
Результат:	
2. Серебряная проба на пурины	
Гидролизат $(NH_4)OH$ (конц.) $AgNO_3$ 1%	10 капель 1 капля 5 капель Оставить на 5 минут
Результат:	
3. Проба Троммера на рибозу и дезоксирибозу	
Гидролизат NaOH 30 % CuSO4 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. Подагра. Врожденные нарушения обмена нуклеотидов.
6. Биосинтез ДНК (репликация) у эукариот, субстраты, ферменты, общая схема синтеза.

Контрольные вопросы и задания к лабораторной работе.

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

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

1.3. Сравните содержание мочевой кислоты в крови и в моче при подагре.

РАБОТА. **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

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

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

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество (стандарт)	Количество (опыт)
Сыворотка крови	-	0,02 мл
Стандартный раствор мочевой кислоты 375 мкмоль/л	0,02 мл	-
Рабочий реагент	1 мл	1 мл

Реакционную смесь перемешивают и инкубируют 10 мин при температуре 37^{o}С. Длина волны 500-520 нм (490 нм, ФЭК), кювета 0,5 см. Измеряют оптическую плотность опытной пробы и стандарта против воды. Стабильность окраски 15 минут.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТА:

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

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

У взрослых здоровых людей с мочой за сутки выделяется 1,6-6,44 ммоль/сут ммоль мочевой кислоты. Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови у женщин составляет 0,16-0,44 ммоль/л, у мужчин – 0,24-0,50 ммоль/л, у новорожденных – 0,14-0,29 ммоль/л, у детей 2-14 лет – 0,12-0,32 ммоль/л.

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 гюкокортикоидов.

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 РНК 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). Особенности синтеза белков в детском организме.
8. Регуляция экспрессии генов.

Компьютерное тестирование по разделу «Биосинтез нуклеиновых кислот и белков».

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-ГРАФИЧЕСКА 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.

Работа зачтена_____подпись преподавателя

ЗАНЯТИЕ № 15

КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ «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, собенности 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. Подагра. Врожденные нарушения обмена нуклеотидов.
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). Особенности синтеза белков в детском организме.
21. Регуляция экспрессии генов.
22. Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.
23. Ферменты и базовые методы, используемые в молекулярной биологии.
24. Блот-анализ ДНК и РНК. Вестерн-блот как метод идентификации белков.
25. Полимеразная цепная реакция, этапы, применение.
26. Геномная дактилоскопия (ДНК-фингерпринт).
27. Секвенирование нуклеиновых кислот.
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. Особенности энергетического обмена в детском организме.
3. Макроэрги клетки, строение (АТФ и другие нуклеозидтрифосфаты, 1,3-бисфосфоглицерат, фосфоенолпируват, креатинфосфат, ацетил-КоА, сукцинил-КоА).
4. Структурная организация цепи переноса электронов: полиферментные комплексы митохондрий и их строение.
5. $НАД^+$($НАДФ^+$)-зависимые дегидрогеназы, строение кофермента, биологическая роль.
6. ФАД(ФМН)-зависимые дегидрогеназы, строение кофермента, биологическая роль.
7. Кофермент Q, строение, биологическая роль.
8. Цитохромы и цитохромоксидаза, биологическая роль.
9. Нарушения энергетического обмена (гипоксии, гиповитаминозы РР, $В_2$). Гипоэнергетические состояния у детей.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Напишите структурную формулу АТФ:

2. Креатинфосфат мышц, его биологическая роль.

3. Принцип метода количественного определения макроэргов мышц.

РАБОТА. **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАКРОЭРГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МЫШЦ**

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

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

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

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.

Растворы	1-ая пробирка (контроль)	2-ая пробирка (опыт)
Безбелковый фильтрат	0,5 мл	0,5 мл
HCl, 1 М	1 мл	1 мл Кипятить 15 минут, охладить
NaOH, 1 М	1 мл	1 мл
H_2O	2,5 мл	2,5 мл
Молибдат аммония, 1 % Аскорбиновая кислота, 1 %	0,5 мл 0,5 мл	0,5 мл 0,5 мл
	Перемешать, инкубация 10 минут, при 18°С. ↓ Колориметрия, λ = 640 нм, d = 1 см, против контроля	

РЕЗУЛЬТАТ: $E_{оп}$ =

Расчеты:

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

количество АТФ = А ˙ 260 = мкмоль/г ткани

В Ы В О Д:

Работа зачтена_____подпись преподавателя

*Дата*_____

ЗАНЯТИЕ № 17

ТЕМА: ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА. БИОХИМИЯ МЕМБРАН

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Систематизировать знания о механизмах синтеза АТФ, общем пути катаболизма – ЦТК**,** строении 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 Р/О.
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

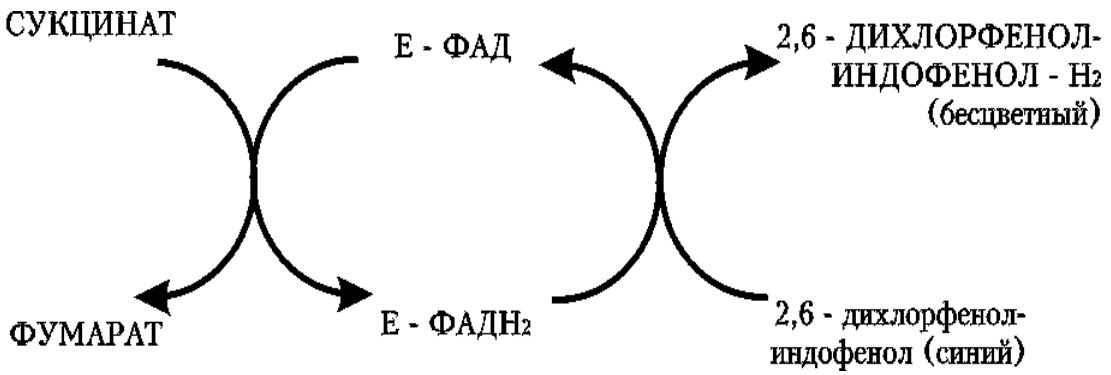
ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. СДГ – один из ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот, прочно свя-

занный с внутренней мембраной митохондрий. Роль кофермента выполняет ФАД, соединенный с белком ковалентной связью. Фермент *in vivo* 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 (выполяется 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:

	Контроль	**t 100°**	**Опыт**	**Ингибитор**
№ пробирки / отмерить	1	2	3	4
Ферментный препарат (гомогенат ткани)	1,0 мл -	1,0 мл кипячение 5 минут	1,0 мл -	1,0 мл -
H_2O	1,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	-
Малонат	-	-	-	0,5 мл
Сукцинат	-	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
2,6-дихлорфенолиндофенол	2 капли	2 капли	2 капли	2 капли
Перемешать.	Инкубация 15 минут при 37°С			

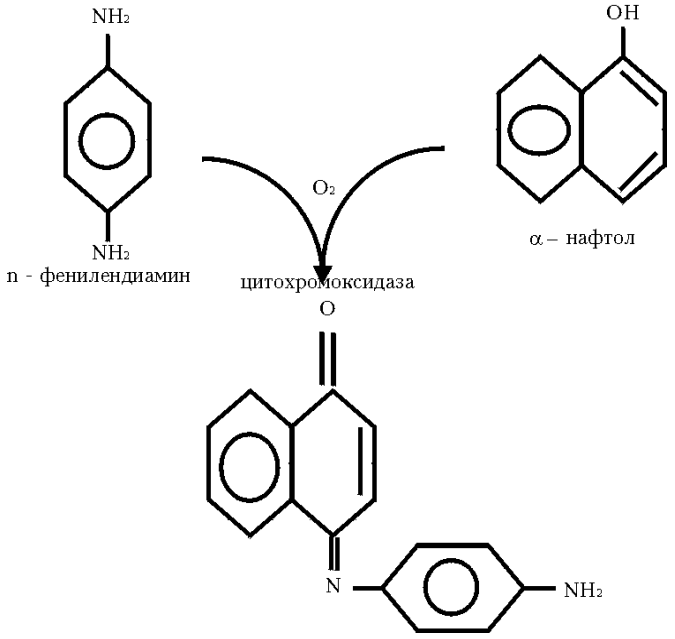
РЕЗУЛЬТАТ:

ВЫВОД:

РАБОТА № 2. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ**

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

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



ХОД РАБОТЫ:

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

На оба образца мышц нанести по 2 капли реактива «НАДИ». Инкубировать 5-10 минут, при температуре 18°С (комнатная). Сравнить окраску образцов.

РЕЗУЛЬТАТ:

В Ы В О Д :

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_{450}, 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.
8. Особенности обмена веществ в детском организме.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 19

ТЕМА: УГЛЕВОДЫ ПИЩИ И ТКАНЕЙ

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, биологические функции, содержание в тканях человека.
2. Основные углеводы пищи, их характеристика.
3. Переваривание и всасывание углеводов в пищеварительном тракте. Нарушение переваривания и всасывания.
4. Углеводы пищи ребенка, особенности их переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте.
5. Общая схема путей метаболизма глюкозы в организме и их оценка.
6. Фосфорилирование глюкозы, дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Регуляция.
7. Метаболизм галактозы. Галактоземия.
8. Метаболизм фруктозы, 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.

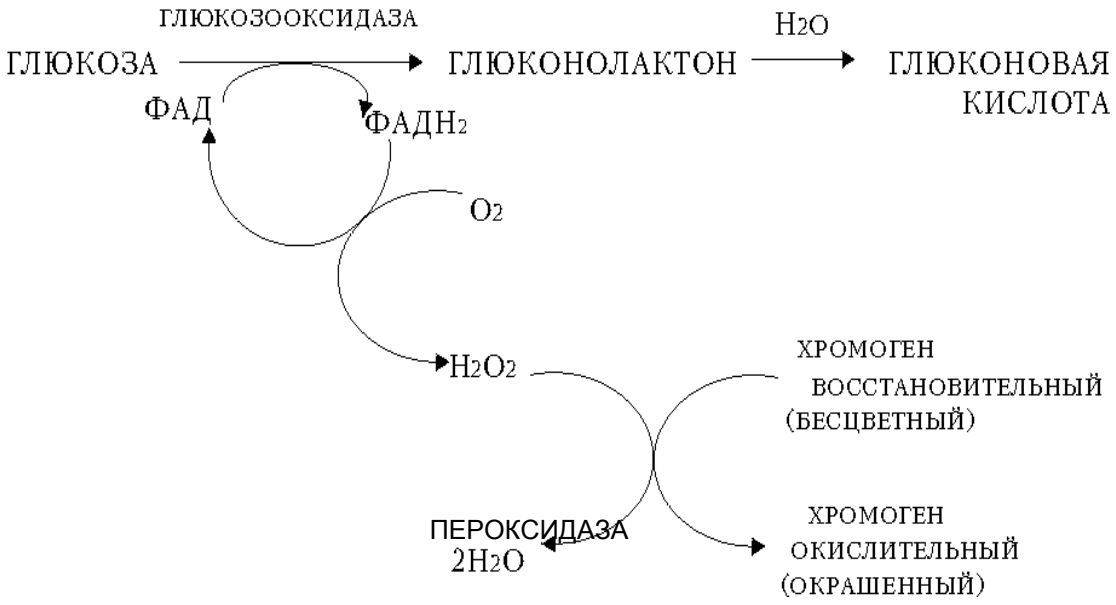
РАБОТА № 1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ. ЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ (ГЛЮКОЗООКСИДАЗНЫЙ) МЕТОД

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Определение глюкозы в цельной крови или плазме производится у каждого па-

циента для оценки состояния метаболизма углеводов и диагностики патологии (гипергликемий, гипогликемий). Для определения содержания глюкозы в крови используется энзиматический метод, основанный на окислении глюкозы глюкозооксидазой до глюконовой кислоты в присутствии кислорода воздуха. Метод является высокоспецифическим для определения D-глюкозы в присутствии других восстанавливающих веществ, содержащихся в экстрактах тканей и биологических жидкостях.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Глюкозооксидаза – сложный фермент, содержащий в качестве простетической группы молекулу ФАД. При окислении глюкозы глюкозооксидазой происходит отщепление двух атомов водорода у первого атома углерода в молекуле глюкозы. Далее эти два атома водорода передаются на ФАД, образуется $ФАДН_2$. Последний передает атомы водорода на молекулярный кислород с образованием H_2O_2. Затем H_2O_2 расщепляется ферментом пероксидазой на воду и атомарный кислород, который окисляет хромоген (краситель), приобретающий при окислении окраску.

ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЕТОДА:



ХОД РАБОТЫ:

ПРОБА / Растворы	1 ОПЫТ	2 СТАНДАРТ	3 КОНТРОЛЬ
Сыворотка крови	0,02 мл	-	-
Стандартный раствор глюкозы (5,55 ммоль/л)	-	0,02 мл	-
	-	-	0,02 мл
H_2O	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Рабочий реактив	Перемешать, инкубация в термостате 20 минут при 37ºС.		
	ФЭК, λ = 500 нм, колориметрия опыта и стандарта против контрольной пробы, кювета - 5 мм.		

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

Конечный результат получают по формуле:

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

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание глюкозы в крови у взрослых составляет 3,3-6,4 ммоль/л, у новорожденных 2,8-4,4 ммоль/л, у детей 2-14 лет 3,9-6,4 ммоль/л.

Содержание глюкозы в крови увеличивается (**гипергликемия**) при некоторых физиологических состояниях (стресс, прием углеводов с пищей), а также при патологиях: сахарный диабет, острый панкреатит, инфаркт миокарда, стенокардия, гиперфунк-

ции ряда эндокринных желез (тиреотоксикоз, глюкагонома, синдром Иценко-Кушинга, феохромоцитома).

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

ВЫВОД:

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. Аэробный гликолиз, последовательность реакций.
   1.1. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, схема реакции, регуляция, биологическая роль.
   1.2. Реакции субстратного фосфорилирования АДФ в гликолизе.
   1.3. Энергетика и биологическое значение аэробного гликолиза.
2. Анаэробный гликолиз, последовательность реакций.
   2.1. Реакции оксидоредукции в анаэробном гликолизе.
   2.2. Энергетика и биологическая роль и регуляция анаэробного гликолиза.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

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

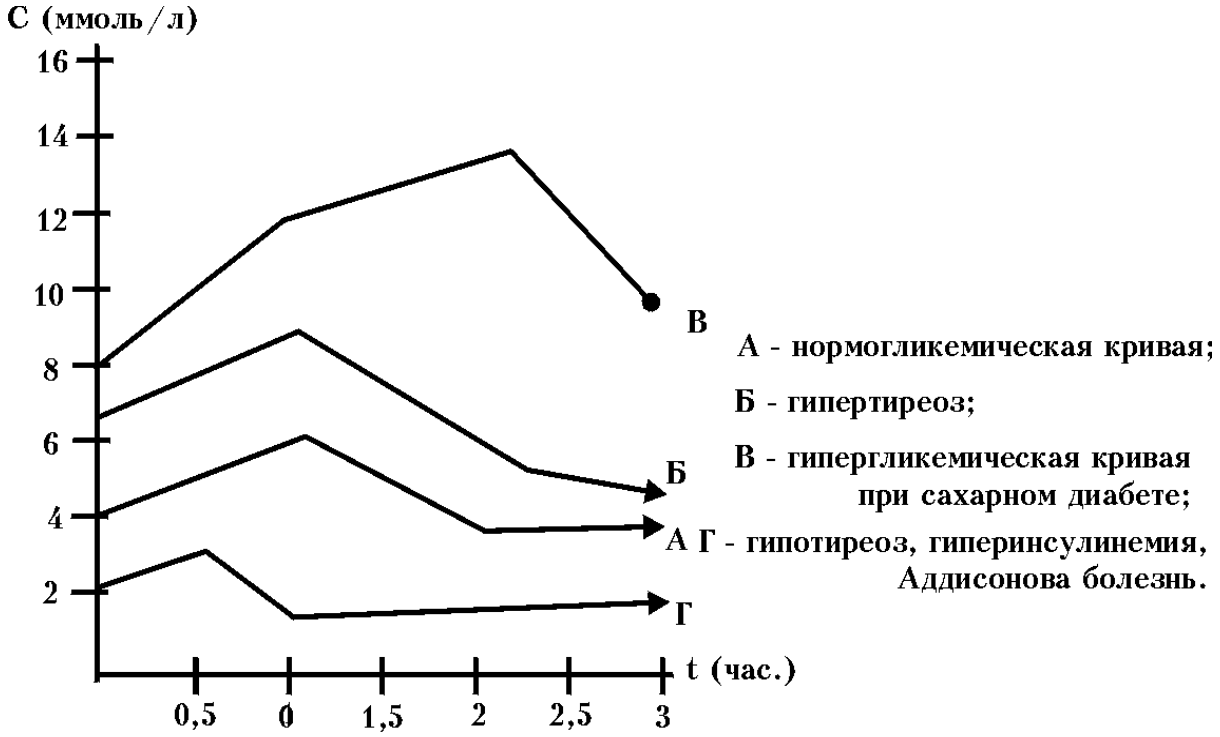
РАБОТА. **ТЕСТ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ**

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 гликогенобразующей функции печени.

ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ. Натощак (утром, через 8-10 часов после приема пищи) забирают кровь из пальца (1-я проба). Паци-

ент после этого (в течение 5 мин) выпивает раствор 50% раствор глюкозы из расчета 1 г/кг массы тела (сахароза 1,5 г/кг). Через 30 минут от времени забора первой пробы забирают 2-ю пробу и через каждые 30 минут забирают пробы в течение 2,5 часа. На практике достаточно осуществлять следующий забор проб: натощак, затем через 30 минут, 1 час и 2 часа после нагрузки. В каждой из проб определяют концентрацию глюкозы и строят график, откладывая на оси ординат содержание глюкозы, а на оси абсцисс – время забора проб. Полученный график называется сахарная кривая.

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



ХОД РАБОТЫ

На лабораторных занятиях необходимо провести определение содержания глюкозы в трех пробах крови, полученных от пациентов. Первая проба – кровь, взятая натощак; вторая – через 1 час после углеводной нагрузки; третья – через 2 часа после

нагрузки. Методика количественного определения глюкозы изложена в работе «Количественное определение глюкозы в крови. Энзиматический (глюкозооксидазный) метод».

РЕЗУЛЬТАТ:

$E_{ст}$ = ; $E_{оп1}$ = ; $E_{оп2}$ = ; $E_{оп3}$ = .

$C_{ст}$ = 5,55 ммоль/л

$C_{оп}$ 1=

$C_{оп}$ 2=

$C_{оп}$ 3=

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

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:

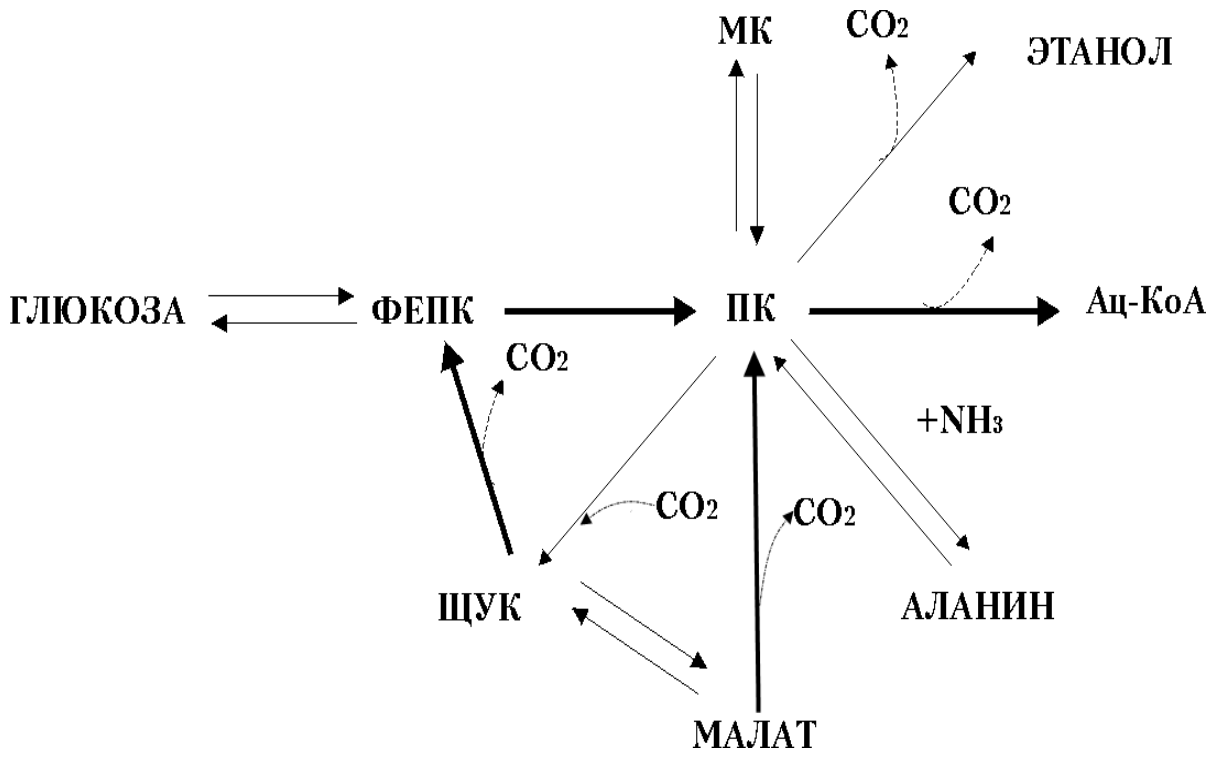
1. Метаболизм молочной кислоты, цикл Кори.
2. Глюконеогенез, метаболические предшественники глюкозы, схема глюконеогенеза, биологическая роль, регуляция.
3. Основные реакции глюконеогенеза. Роль биотина.
4. Пентозофосфатный путь (ПФП), окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.
5. Путь глюкуроновой кислоты. Основные реакции, биологическая роль. Эссенциальная пентозурия.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

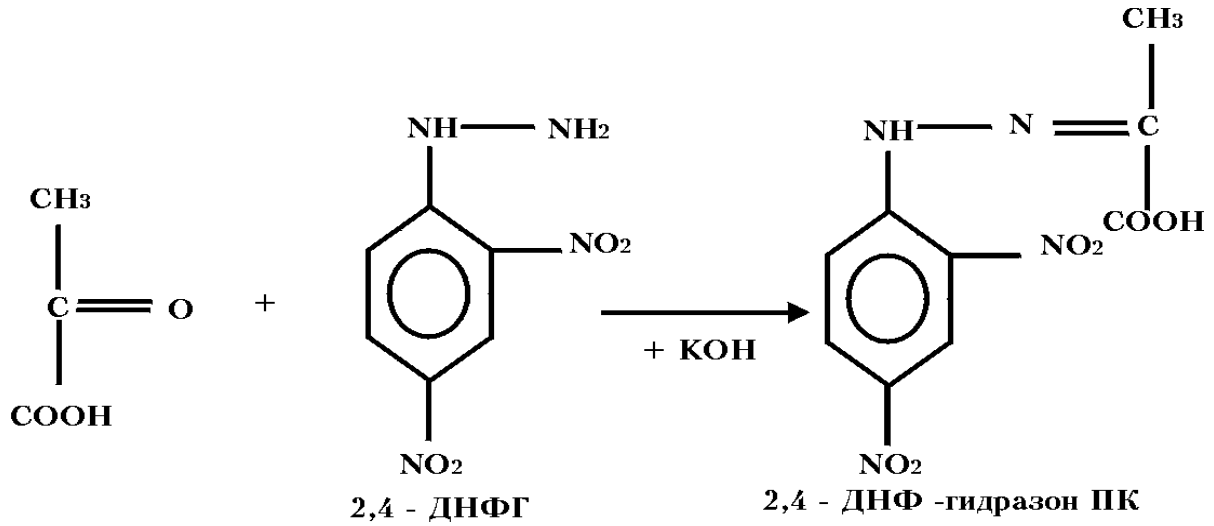
1. Схема метаболизма пировиноградной кислоты (ПК) в организме.
2. Принцип метода определения ПК в моче.
3. Содержание ПК в крови и суточное выделение с мочой. Диагностическое значение определения ПК в крови и моче.

РАБОТА. **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ**

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



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



ХОД РАБОТЫ:

ПРОБА / Растворы	1 ОПЫТ	2 КОНТРОЛЬ
Моча	1,0 мл	-
H_2O	-	1,0 мл
КОН (25 % спиртовой раствор)	1,0 мл	1,0 мл
	Перемешать содержимое обеих пробирок одновременно, 1 минуту.	
Раствор 2,4-ДНФГ (0,1 %)	0,5 мл	0,5 мл
	Перемешать, инкубация 15 минут при 18°С	
	Измерить экстинкцию опыта против контрольной пробы, λ = 470-480 нм, кювета 0,5 см	

РЕЗУЛЬТАТ: ΔЕ =

Содержание пирувата определяют по калибровочному графику. Полученный результат (…… мкг) умножают на переводной коэффициент.

С = …. · 11,366 = мкмоль/сут.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

Содержание пировиноградной кислоты увеличивается в крови и моче при авитаминозе и гиповитаминозе B_1, при сахарном диабете, сердечной недостаточности, гиперфункции гипофизарно-адреналовой системы.

ВЫВОД:

Работа зачтена_____подпись преподавателя

Дата _____

ЗАНЯТИЕ № 22

ТЕМА: ОБМЕН ГЛИКОГЕНА. РЕГУЛЯЦИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: Сформировать знания метаболизме гликогена, регуляции углеводного обмена, об основных патологиях метаболизма углеводов. Составить метаболическую карту обмена углеводов.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА:

1. Синтез гликогена, регуляция.
2. Расщепление гликогена, регуляция. Биологическая роль гликогена.
3. Врожденные патологии обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.
4. Регуляция гликемии (механизмы и факторы).
5. Нарушения углеводного обмена при сахарном диабете.
6. Метаболизм углеводов в детском организме.
7. Характеристика гликемии у детей.

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-фосфатальдолаза, 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

З А Н Я Т И Е № 23

КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ: «ОБМЕН 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. Нарушение переваривания и всасывания.
4. Углеводы пищи ребенка, особенности их переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте.
5. Общая схема путей метаболизма глюкозы в организме и их оценка.
6. Фосфорилирование глюкозы, дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Регуляция.
7. Метаболизм галактозы. Галактоземия.
8. Метаболизм фруктозы, патология.
9. Аэробный гликолиз, последовательность реакций.
10. Пируватдегидрогеназный комплекс. Компоненты, схема реакции, регуляция, биологическая роль.
11. Реакции субстратного фосфорилирования АДФ в гликолизе.
12. Энергетика и биологическое значение аэробного гликолиза.
13. Анаэробный гликолиз, последовательность реакций
14. Реакции оксидоредукции в анаэробном гликолизе.
15. Энергетика и биологическая роль анаэробного гликолиза, регуляция.
16. Метаболизм молочной кислоты, цикл Кори.
17. Глюконеогенез, метаболические предшественники глюкозы, схема глюконеогенеза, биологическая роль, регуляция.
18. Основные реакции глюконеогенеза. Роль биотина.
19. Пентозофосфатный путь (ПФП), окислительные и неокислительные реакции, биологическая роль.
20. Путь глюкуроновой кислоты. Основные реакции, биологическая роль. Эссенциальная пентозурия.
21. Синтез гликогена, регуляция.
22. Расщепление гликогена, регуляция. Биологическая роль гликогена.
23. Врожденная патология обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.

24. Регуляция гликемии (механизмы и факторы).
25. Нарушение углеводного обмена при сахарном диабете.
26. Особенности метаболизма углеводов в детском организме.
27. Характеристика гликемии у детей.

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 24

ТЕМА: ЛИПИДЫ ПИЩИ И ТКАНЕЙ

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, структура, содержание в тканях. Функции липидов.
2. Липиды пищи. Высоконепредельные жирные кислоты – незаменимые факторы питания. Роль липидов в питании детей.
3. Переваривание и всасывание липидов в желудочно-кишечном тракте. Особенности переваривания и всасывания липидов в детском организме.
4. Ресинтез триглицеридов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт.
5. Внутриклеточный липолиз, гормональная регуляция этого процесса. Использование резервного жира.
6. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
7. β-Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль.
8. Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов.

РАБОТА № 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ПРИНЦИП МЕТОДА. Освободившийся в процессе расщепления триацилглицеролов глицерол превращается в глицерол-3-фосфат под действием глицеролкиназы. Глицерол-3-фосфат окисляется глицерофосфатоксидазой до диоксиацетонфосфата с

образованием H_2O_2. Далее H_2O_2 расщепляется пероксидазой на воду и атомарный кислород, который и окисляет хинониминовый краситель. Оптическая плотность образующегося окрашенного соединения определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	1 Опыт	2 Стандарт	3 Контроль
Сыворотка крови	0,02 мл	-	-
Стандарт (2,5 ммоль/л)	-	0,02 мл	-
H_2O	-	-	0,02 мл
Рабочий реагент	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Перемешать, инкубация в термостате 10 минут при 37º С			
Колориметрия опыта и стандарта против контрольной пробы, λ = 490-500 нм, кювета - 0,5 см.			

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

Конечный результат рассчитывают по формуле:

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

Из рассчитанной концентрации триацилглицеролов вычесть 0,11 ммоль/л (это концентрация свободного глицерола в сыворотке).

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Нормальное содержание триацилглицеролов в сыворотке крови у взрослых составляет: 0,40–1,54 г/л у женщин и 0,45–1,82 г/л у мужчин. У новорожденных содержание триацилглицеролов в крови составляет 0,1–0,98 г/л, у детей 2-14 лет – 0,31–1,38 г/л.

Гипертриглицеридемия может быть обусловлена:

- алиментарными причинами (развивается после приема жирной пищи),

- патологическими состояниями – ожирение, голодание, кровопотери, тяжелая анемия, сахарный диабет, панкреатит, вирусный гепатит, алкогольный цирроз печени, острая перемежающаяся порфирия, гликогеноз I, III, IV типов.

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

ВЫВОД:

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 холестерола 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. Синтетаза жирных кислот – особенности строения;
   - 3.4. Синтез пальмитиновой кислоты, последовательность реакций.
4. Биосинтез триацилглицеролов.
5. Биосинтез глицерофосфолипидов.
6. Особенности липидного обмена у детей.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

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

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

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. В организм человека холестерол поступает с пищевыми продуктами (0,3 - 0,5 г)

и постоянно синтезируется в печени, почках, надпочечниках, слизистой оболочке тонкого кишечника, стенке артерий, коже. Содержание холестерола в крови увеличивается при нарушении липидного обмена.

ХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ МЕТОДА:

Интенсивность окраски красителя прямо пропорциональна концентрации холестерола в пробе.

ХОД РАБОТЫ:

Проба / Растворы	1 Опыт	2 Стандарт	3 Контроль
Сыворотка крови	0,02 мл	-	-
Стандарт	-	0.02 мл	-
H_2O	-	-	0,02 мл
Рабочий реактив	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл

Пробы перемешать и инкубировать 15 минут при температуре 20–25°С или 10 минут при 37°С.

Фотометрия против контроля при λ = 490-520 нм, кювета 0,5 см.

РЕЗУЛЬТАТ: $E_о$ =

$E_{ст}$ =

$C_{ст}$ = 5,17 ммоль/л

<u>РАСЧЁТ:</u> $C_{оп} = \frac{E_{оп} \cdot 5{,}17}{E_{ст}} =$ ммоль/л.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Содержание общего холестерола в крови у взрослых составляет 3,6-5,2 ммоль/л, у новорожденных 1,3-2,6 ммоль/л, у детей 2-14 лет 3,11-5,18 ммоль/л.

Повышение концентрации холестерола в крови (**гиперхолестеролемия**) наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, механической желтухе, нефрозе, гипотиреозе, гиперлипопротеинемии II-IV типов. Понижение холестерина в крови (**гипохолестеролемия**) наблюдается при гипертиреозе, голодании, анемии, туберкулезе, раковой кахексии, лихорадочных состояниях, паренхиматозной желтухе, циррозе печени.

ВЫВОД:

Работа зачтена_____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 26

ТЕМА: ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА, СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ

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

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Метаболизм холестерола в организме.
2. Схема синтеза холестерола, этапы, регуляция.
3. Начальные реакции синтеза, холестерола.
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.
7. Метаболизм липопротеинов: их образование и утилизация. Липопротеинлипаза и её роль в обмене липопротеинов. Роль апопротеинов.

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

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

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:

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

РЕЗУЛЬТАТ: E_1 =

E_2 =

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 II типа.

ВЫВОД:

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. Первичные и вторичные гиперлипопротеинемии, их причины.
3. Биохимия атеросклероза, роль гиперхолестеролемии и других факторов риска. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
4. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.
5. Нарушение метаболизма 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 ЛИПИДОВ»

Вопросы к контрольному занятию

1. Понятие «липиды». Классификация липидов. Важнейшие липиды тканей человека, структура, содержание в тканях. Функции липидов.
2. Липиды пищи, их переваривание и всасывание в желудочно-кишечном тракте.
3. Ресинтез триглицеридов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт.
4. Внутриклеточный липолиз, гормональная регуляция этого процесса. Использование резервного жира.
5. Жирные кислоты, характерные для липидов человека. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот.
6. β-Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическая роль. Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов.
7. Реакции образования и утилизации кетоновых тел, их биологическая роль.
8. Механизм избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.
9. Образование малонил-КоА. Синтетаза жирных кислот.
10. Источники ацетил-КоА и НАДФН для синтеза жирных кислот.
11. Последовательность реакций синтеза жирных кислот (на примере пальмитиновой кислоты).
12. Биосинтез триглицеридов.
13. Биосинтез глицерофосфолипидов.
14. Особенности липидного обмена у детей.
15. Метаболизм холестерола в организме.
16. Схема синтеза холестерола, этапы, регуляция.
17. Начальные реакции синтеза холестерола.
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.
21. Метаболизм липопротеинов: их образование и утилизация. Липопротеинлипаза и её роль в обмене липопротеинов. Роль апопротеинов.
22. Нарушение переваривания и всасывания липидов.
23. Первичные и вторичные гиперлипопротеинемии, их причины.
24. Биохимия атеросклероза, роль гиперхолестеринемии и других факторов риска. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.
25. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.
26. Нарушение метаболизма 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, свойства, типы биологического действия. 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 адреналина и норадреналина в тканях.
2. Биологическая роль адреналина.
3. Сущность метода качественного обнаружения адреналина.
4. Использование определения адреналина для диагностики.

РАБОТА. **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА АДРЕНАЛИН**

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. В мозговом слое надпочечников синтезируются катехоламины из аминокислоты тирозина. В печени и мышцах адреналин и норадреналин стимулируют фосфорилазу, которая расщепляет гликоген; в жировой ткани – активируют расщепление триацилглицеролов.

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

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество	Количество
H_2O дист. Раствор адреналина $FeCl_3$	10 капель - 1 капля	- 10 капель 1 капля
	Окрашивание слабо-желтое за счет $FeCl_3$	Наблюдается зеленое окрашивание
NaOH , 10 %	3 капли	3 капли
	Окраска не изменилась	Наблюдается 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, гепатитах и циррозах печени, обострении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а также под влиянием курения, физической нагрузки и эмоционального стресса.

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

ВЫВОД:

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. Применение гормонов и анаболических стероидов в медицине.
8. Особенности развития эндокринной системы у детей.
9. Возрастное становление гормональной регуляции.

РАСЧЕТНО-ГРАФИЧЕСКАЯ РАБОТА
ПО ТЕМЕ «БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ»

Задания для самостоятельной работы:

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

Таблица. Характеристика основных гормонов

Гормон	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани-мишени

Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

Таблица. Характеристика основных гормонов

Гормон	Химическая природа	Место синтеза	Механизм действия	Ткани-мишени

Биологическое действие	Недостаток гормона		Избыток гормона	
	Название	Признаки	Название	Признаки

Работа зачтена_____подпись преподавателя

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. Общая характеристика органических и минеральных компонентов пищи. Незаменимые факторы питания. Нарушение питания.
2. Потребность в пищевых веществах в процессе роста ребенка.
3. Роль молока в питании детей.
4. Витамины, история открытия, классификация. Витаминоподобные вещества.
5. Обеспеченность организма витаминами, гипо-, а- и гипервитаминозы, их причины. Антивитамины.
6. Жирорастворимые витамины: A, D, E, K, пищевые источники, роль в организме, суточная потребность, проявление недостаточности и избытка в организме.
7. Водорастворимые витамины: B_1, B_2, B_6, B_{12}, PP, C, пантотенат, биотин, фолиевая кислота, рутин, пищевые источники витамина, активные формы и роль в метаболизме, суточная норма потребления, проявления недостаточности.
8. Роль витаминов в метаболизме и функционировании детского организма. Особенности витаминной недостаточности у детей.

   ПРИМЕЧАНИЕ: Знать строение витаминов: A, D, B_1, B_2, B_6, PP, C, пантотеновой кислоты.

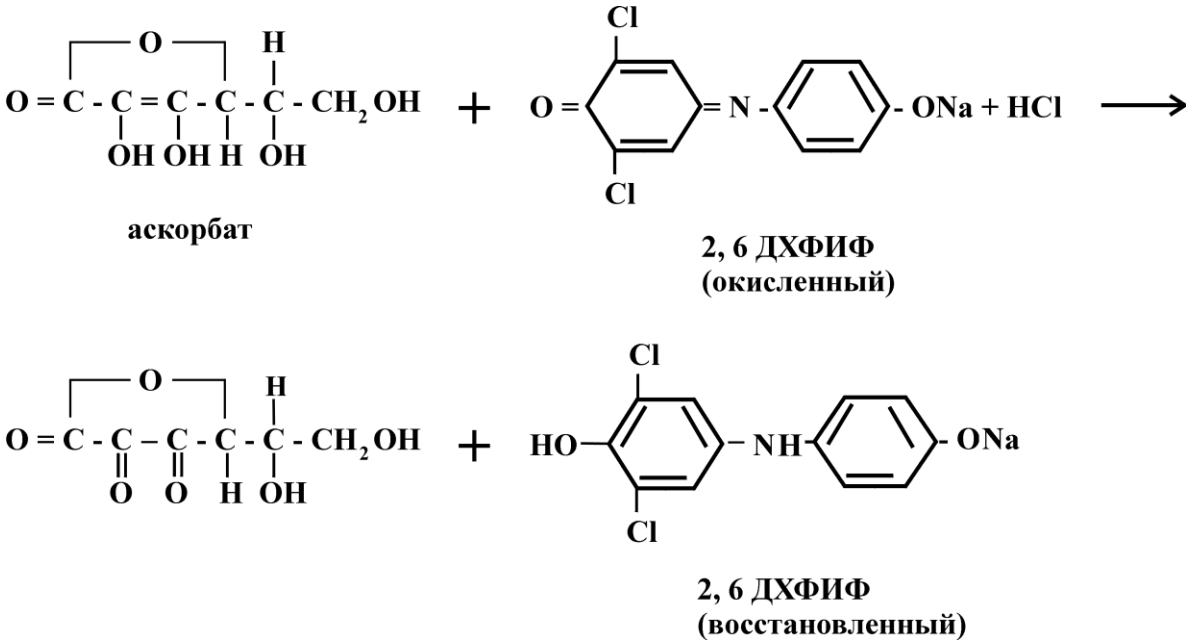
Контрольные вопросы к лабораторной работе:

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

РАБОТА. **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С**

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

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



ХОД РАБОТЫ:

Растворы	Количество
М о ч а	10,0 мл
H_2O дист.	10,0 мл
HCl 10%	20 капель
2,6-ДХФИФ 0,001н	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 – количество мг аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001н 2,6-дихлорфенолиндофенола;

А - результат титрования, мл;

1500 - среднее суточное количество мочи, мл;

10 - объем мочи, взятый для титрования, мл.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

ВЫВОД:

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. Особенности крови в детском возрасте.
2. Особенности метаболизма в форменных элементах крови. Эритроцитарные энзимопатии.
3. Гемоглобин человека, строение, производные гемоглобина, варианты в онтогенезе. Гемоглобинопатии.
4. Участие гемоглобина в транспорте кислорода и углекислого газа кровью. Гипоксии.
5. Обмен железа. Нарушения обмена железа: железодефицитные анемии.
6. Плазма крови и сыворотка. Белки плазмы крови, их характеристика.
7. Свертывание крови. Сосудисто-тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз. Факторы свертывающей системы крови. Внутренняя и внешняя системы коагуляционного гемостаза.
8. Противосвертывающая и фибринолитическая системы крови. Геморрагические состояния у детей.
9. Представление о гемофилиях и тромбозах, ДВС-синдроме. Роль витамина К в свертывании крови.
10. Значение биохимического анализа крови в характеристике состояния здоровья детей.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

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

РАБОТА № 1. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА ГЕМОГЛОБИНЦИАНИДНЫМ МЕТОДОМ**

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. Содержание гемоглобина и эритроцитов крови изменяется под влиянием различных физиологических, патологических факторов и при назначении лекарств. В этой связи определение гемоглобина в крови имеет большое 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:

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

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

РЕЗУЛЬТАТ:

$E_{оп}$ =

Концентрацию гемоглобина в г/л рассчитывают по формуле:

$C_{оп} = E_{оп} \cdot 392 =$ г/л

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Концентрация гемоглобина в крови взрослого человека составляет 130-160 г/л у мужчин и 115-145 г/л у женщин. У новорожденных концентрация гемоглобина в крови составляет 150-240 г/л, у детей 2-14 лет 115-145 г/л.

Повышение концентрации гемоглобина возникает при потере жидкости (происходит сгущение крови), тканевой гипоксии (заболевания легких, сердечно-сосудистая недостаточность, условия высокогорья), при язвенной болезни, у новорожденных в первые часы жизни.

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

В Ы В О Д:

РАБОТА № 2. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

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

ПРИНЦИП МЕТОДА. Кальций в щелочной среде с 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_2O дист., мл	0,02		
Рабочий реактив, мл	2	2	2
Перемешать, инкубация 5 мин. Измерить экстинкцию опыта и стандарта относительно контроля, λ = 574 нм, кювета 0,5 см			

РЕЗУЛЬТАТ: $E_{оп}$ =

$E_{ст}$ =

$C_{ст}$ = 2,5 ммоль/л

КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ рассчитывают по формуле:

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

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Содержание кальция в сыворотке крови у взрослых составляет в норме 2,25-2,75 ммоль/л, у новорожденных и детей 2-14 лет 2,25-2,50 ммоль/л.

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

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

Гипокальциемия отмечается при дефиците витамина D, гипопаратиреозе, хронической почечной недостаточности, нефротическом синдроме, циррозе печени, остром панкреатит

ВЫВОД:

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 и белков.
2. Особенности функций и метаболизма в печени у детей.
3. Обезвреживающая функция печени: обезвреживание токсических веществ путем защитных синтезов, микросомальным окислением, конъюгацией. Обезвреживание продуктов гниения, поступающих из кишечника.
4. Реакции синтеза гема, субстраты, ферменты.
5. Роль печени в пигментном обмене. Обмен билирубина в норме и патологии.
6. Желтухи, их виды. Биохимическая диагностика желтух. Желчные пигменты крови, кишечника, мочи.
7. Биохимические механизмы патогенеза печеночной недостаточности и печеночной комы. Биохимические методы диагностики нарушений функций печени.
8. Обмен билирубина в детском возрасте. Физиологическая желтуха новорождённых. Наследственные желтухи у детей.

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

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. При разрушении эритроцитов (у человека через 100-120 дней) в клетках ретикулоэндотелиальной системы костного мозга, селезенки, печени происходит распад гемоглобина. Конечным продуктом распада гема является непрямой билирубин, который поступает в кровь и транспортируется альбуминами в печень, где происходит его обезвреживание с образованием прямого билирубина.

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

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

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

ХОД РАБОТЫ: взять три пробирки.

	Объём, мл		
	Контроль	Общий билирубин	Прямой билирубин
Сыворотка	0,5	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, λ = 500-600 нм, кювета 0,5 см.

$E_{пр}$ =

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

$E_{общ}$ =

РЕЗУЛЬТАТ:

1. Концентрацию прямого билирубина рассчитывают по формуле:

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

2. Концентрацию общего билирубина рассчитывают по формуле:

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

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

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

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. Биохимические функции почек. Особенности метаболизма в почечной ткани.
2. Компартментализация жидкости в организме. Электролитный состав биологических жидкостей.
3. Вода, биологические функции в организме. Водный баланс. Изменение содержания воды в тканях у детей.
4. Механизмы регуляции объема и электролитного состава жидкостей организма.
5. Роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия.
6. Особенности водно-солевого обмена и обмена электролитов в детском возрасте.
7. Минеральные компоненты тканей, классификация, представители. Микроэлементы, биологическая роль.
8. Натрий, калий, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.

   Кальций, фосфор, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.
9. Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия. Представление об обезвоживании, отеках, ацидозе, алкалозе.

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, сахар, кетоновые тела, желчные пигменты, кровь. Они появляются в моче при нарушениях обмена веществ или нарушении функции органов. Поэтому их определение в моче используют для диагностики заболеваний и контроля за ходом лечения.

1. **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА БЕЛОК**

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

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	**1** **Контроль**	**2** **Опыт**
М О Ч А H_2O Сульфосалициловая кислота 20% ---------- (или наслоение на концентрированную азотную кислоту - HNO_3)	- 1,0 мл 3 капли	1,0 мл - 3 капли

РЕЗУЛЬТАТ:

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

В Ы В О Д**:**

2. ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА

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

ХОД РАБОТЫ:

1.отмерить в 4 пробирки по 1 мл HNO_3;

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

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

РЕЗУЛЬТАТ:

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

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

В Ы В О Д:

3. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В МОЧЕ (проба Гайнеса).

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

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	ОПЫТ
Реактив Гайнеса Моча	9 капель 2 капли

Перемешать, нагреть до начала кипения.

РЕЗУЛЬТАТ:

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

Алиментарные физиологические глюкозурия и фруктозурия встречаются только у грудных детей, что связано с физиологической незрелостью транспортных систем, участвующих в реабсорбции этих углеводов. Галактоза, пентозы и дисахариды никогда не подвергаются реабсорбции, вследствие чего у детей грудного возраста (особенно у недоношенных новорожденных) возможны алиментарные галактозурия, пентозурия, дисахаридурия в физиологических условиях. Обычно галактозурия и лактозурия исчезают у детей к 10-му дню жизни, но иногда могут сохраняться дольше.

В Ы В О Д:

4. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА КРОВЯНЫЕ ПИГМЕНТЫ

ОБОСНОВАНИЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ. К патологическим компонентам мочи относятся также кровь (форменные элементы) и кровяные пигменты (гемоглобин или миоглобин). Наличие крови в моче называется гематурией, при наличии кровяных пигментов в моче говорят о гемоглобинурии. Отличить гематурию от гемоглобинурии в порции мочи можно путем микроскопии осадка мочи: при гематурии под микроскопом наблюдаются эритроциты и лейкоциты.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Наличие гемоглобина в моче как при гематурии, так и при гемоглобинурии можно обнаружить с помощью бензидиновой пробы. Гемоглобин обладает пероксидазной активностью, т.е. способен расщеплять перекись водорода с образованием атомарного кислорода. Бензидиновая проба основана на окислении бензидина атомарным кислородом, который образуется при разложении перекиси водорода гемоглобином.

ХОД РАБОТЫ:

ПРОБА / Растворы	ОПЫТ
Моча (свежевыпущенная, нефильтрованная)	20 капель
Раствор бензидина в уксусной кислоте	10 капель
H_2O_2	2-3 капли

При наличии кровяных пигментов моча окрашивается в синий или зеленый цвет.

РЕЗУЛЬТАТ:

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ: Гематурия наблюдается при повреждении мочевых путей (мочевые камни), раке мочевого пузыря, цистите (воспалении мочевого пузыря), остром нефрите. Гемоглобинурия наблюдается при отравлении гемолитическими ядами, а также при заболеваниях, сопровождающихся гемолизом (разрушением эритроцитов).

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 со-

единениями, 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 (pH, 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. Особенности метаболизма ткани мозга в детском возрасте. Молекулярные механизмы синаптической передачи. Медиаторы, активные пептиды мозга.
4. Особенности строения и состава мышечной ткани. Миофибриллярные и саркоплазматические белки мышц, характеристика, функции.
5. Биохимические механизмы сокращения и расслабления мышц. Роль ионов в регуляции мышечного сокращения.
6. Особенности энергетического обмена в мышцах. Креатинфосфокиназа, её изоферменты.
7. Химический состав межклеточного вещества соединительной ткани. Коллаген, эластин.
8. Особенности химического состава и метаболизма в соединительной ткани у детей.
9. Протеогликаны, глюкозаминогликаны, гликопротеины, особенности синтеза и распада, биологическая 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 большое значение для диагностики опухолей мозга и воспалительных заболеваний центральной нервной системы.

ПРИНЦИП МЕТОДА. Раствор белка в щелочной среде в присутствии сульфата меди ($NaOH/CuSO_4$) окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации белка в сыворотке крови и определяется фотометрически.

ХОД РАБОТЫ:

Растворы	1 Опыт	2 Контроль
Реактив Горнала Спинномозговая жидкость NaCl 0,9%	4,0 мл 0,1 мл -	4,0 мл - 0,1 мл
Перемешать, фотометрия через 20 минут. Кювета 1 см, λ=540 нм		

РЕЗУЛЬТАТ:

$E_{оп}$ =

С общего белка =

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

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

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

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

ВЫВОД:

Работа зачтена_____подпись преподавателя

Дата: _____

ЗАНЯТИЕ № 36

ТЕМА: БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТСКОГО ОРГАНИЗМА. ИТОГОВОЕ КОМПЬЮТЕРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ: сформировать знания об особенностях метаболизма углеводов, липидов и аминокислот на различных этапах развития детского организма.

ВОПРОСЫ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛА

1. Основные биохимические показатели, характеризующие состояние детского организма и его систем.
2. Биохимические основы развития врожденных заболеваний.
3. Основные лабораторные показатели и их динамика в различные возрастные периоды.

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
КРОВЬ	
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
Гаммаглутамилтранспепти-даза (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 мколь/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 у мужчин
Фибриноген	2–4 г/л
Фосфор	0,8–1,6 ммоль/л
Хлориды	95–110 ммоль/л
Холестерол	3,6–5,2 ммоль/л
ЛПНП	2-4 г/л
Церулоплазмин	150–600мг/л
Щелочная фосфатаза	18–306 Ед/л
МОЧА	
Амилаза	28–160 г/ч•л
Мочевая кислота	1,6–6,4 ммоль/сут
Мочевина	333–583 ммоль/сут
СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ	
Белок	0,22–0,33 г/л
Глюкоза	2,5–3,89 ммоль/л
Хлориды	120–130 ммоль/л

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ОСНОВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В КРОВИ У ДЕТЕЙ

Показатель	В о з р а с т	
	Новорождённые	Дети до 14 лет
Общий белок (г/л)	46 - 70	58 - 76
Альбумины (г/л)	23 - 46	38 - 54
Глобулины (г/л)	12 - 35	19 - 42
альфа$_1$ (г/л)	0,9 - 3,2	1,0 - 4,0
альфа$_2$ (г/л)	2,4 - 7,2	5,0 - 10,0
бета (г/л)	2,4 - 8,5	6,0 - 12,0
гамма (г/л)	6,0 - 16,2	6,0 - 16,0
Креатинин (мкмоль/л)	-	53 - 115
Мочевина (ммоль/л)	3,5 - 11,0	2,2 - 7,3
Билирубин (мкмоль/л)	12,0 - 20,0	3,4 - 17,1
Глюкоза (ммоль/л)	2,8 - 4,4	3,9 - 6,4
Пируват (мкмоль/л)	171 - 319	46 - 125
Лактат (ммоль/л)	2,0 - 2,44	1,0 - 1,67
Общие липиды (г/л)	1,7 - 4,5	4,5 - 7,0
Триглицериды (ммоль/л)	0,2 - 0,86	0,36 - 1,41
Фосфолипиды (ммоль/л)	0,65 - 1,04	1,30 - 3,25
Холестерин (ммоль/л)	2,90 - 5,25	3,13 - 5,3
Жирные кислоты (г/л)	0,7 - 1,0	2,25 - 2,50
Натрий (ммоль/л)	135 - 155	136 - 145
Калий (ммоль/л)	4,66 - 6,66	3,5 - 5,0
Кальций (ммоль/л)	2,25 - 2,50	2,25 - 2,50
Железо (мкмоль/л)	5,0 - 19,3	9,0 - 22,6
Хлор (ммоль/л)	96 - 107	98 - 107
Магний (ммоль/л)	0,66 - 0,95	0,75 - 1,25
Фосфор (ммоль/л)	1,45 - 2,15	1,45 - 1,78

ЛИТЕРАТУРА

1. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.

2. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – М.: Высшая школа, 1988. – 239 с.

3. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

4. Справочник врача общей практики: в 2 т. / под ред. В.С. Казакова. – Мн.: Высшая школа, 1995. – 624 с.

5. Камышников В.С. О чем говорят медицинские анализы: Справочное пособие. – Мн.: Беларуская навука, 1997. – 189 с.

6. Чиркин А.А. Практикум по биохимии. – Мн.: Новое знание, 2002. – 512 с.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Аминокислоты – карбоновые кислоты с аминогруппой в α-положении.

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

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

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

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

Аполипопротеин – белковая часть липопротеина.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- непрямой (неконъюгированный, несвязанный) б. –

фракция сывороточного билирубина, не соединяющаяся в клетках печени с глюкуроновой кислотой (реагирует с диазореактивом Эрлиха только после добавления этилового спирта).

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

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

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

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

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

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

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

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

Восстановление – приобретение соединением электронов.

Вторичная структура белка – пространственная конформация полипептидной цепи.

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

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

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

Гем – железопорфириновая простетическая группа гемопротеинов.

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

Гемопротеин – белок, содержащий в качестве простетической группы гем.

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

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

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

Геном – совокупность всех генов организма.

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

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

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

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

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

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

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

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

Глюконеогенез – биосинтез новых углеводов из неуглеводных предшественников.

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

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

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

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

Дезаминирование – ферментативное удаление аминогрупп из аминокислот.

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

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

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

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

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

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

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

ДНК-лигаза – фермент, катализирующий образование фосфодиэфирной связи между 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 углеродной цепью, остатки которой содержатся в природных жирах и маслах.

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

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

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

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

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

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

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

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

Ингибитор – агент, подавляющий или замедляющий ферментативные реакции.

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

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

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

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

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

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

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

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

графических колонках для разделения ионогенных соединений.

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

Канцероген. Химический агент, вызывающий рак.

Каротиноиды – жирорастворимые фотосинтетические пигменты, образуемые из изопреновых элементов.

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

Катехоламины – гормоны типа адреналина, представляющие собой аминопроизводные катехола.

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

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

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

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

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

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

Ковалентная связь – химическая связь, образованная общей электронной парой.

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

Компартментализация – структурная или функциональная специализация частей клетки.

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

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

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

Конформация – трехмерная структура макромолекулы.

Кортикостероиды – стероидные гормоны, вырабатываемые корой надпочечников.

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

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

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

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

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

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

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

Липопротеини – сложный белок, содержащий липид или группу липидов.

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

Медиатор нервных импульсов – низкомолекулярное соединение (обычно содержащее азот), секретируемое окончанием

нейрона и связывающееся со следующим нейроном; служит для передачи нервных импульсов.

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

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

Метаболит – любой продукт или субстрат метаболизма, чаще катаболизма.

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

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

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

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

Миофибрилла – элементарная единица толстых и тонких нитей мышечных волокон.

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

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

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

Моносахариды – углеводы, содержащие один остаток сахара.

Мультиферментная система – последовательность связанных между собой ферментов, участвующих в данном метаболиче-

ском 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 углевада (обычно рибозы или дезоксирибозы) с пуриновым или пиримидиновым основанием с по-

мощью N-гликозидной связи.

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

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

Окисление – потеря соединением электронов.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Оптическая активность – способность вещества вращать плоскость плоскополяризованного света.

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

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

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

Пептидаза – фермент, катализирующий гидролиз пептидной связи.

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

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

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

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

Пиридоксальфосфат – кофермент, содержащий витамин пиродоксин и участвующий в реакциях переноса аминогрупп.

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

Полипептид – длинная цепь аминокислот, соединенных пептидными связями.

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

Порфирины – сложные азотсодержащие соединения, состоящие из четырех замещенных пиррольных циклов, ковалентно соединенных в кольцо; часто в центре порфирина находится атом металла.

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

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

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

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

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

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

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

Протеолитический фермент – фермент, катализирующий гидролиз белков или пептидов.

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

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

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

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

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

Ренатурация – сворачивание денатурированного глобулярного белка с образованием нативной конформации.

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

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

Репрессия фермента – ингибирование синтеза фермента,

обусловленное доступностью продукта этого фермента.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Саркомер – функциональная и структурная единица мышечной сократительной системы.

Сателлитная ДНК – высокоповторяющиеся нетранслируемые участки ДНК в эукариотических клетках.

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

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

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

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

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

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

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

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

Стероиды – класс липидов, содержащих циклопентанфенантреновую кольцевую структуру.

Структурный ген – ген, кодирующий белки и РНК.

Субстрат – определенное соединение, на которое действует фермент.

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

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

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

Токоферолы – группа соединений, представляющих собой формы витамина Е.

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

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

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

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

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

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

Транслоказа – фермент, вызывающий перемещение рибосомы вдоль мРНК.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Факторы терминации – см. Рилизинг-факторы.

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

Ферменты – белки, катализирующие различные метаболические реакции.

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

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

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

Флавопротеин – белок, содержащий в качестве простетической группы флавиновый нуклеотид.

Фосфолипид – липид, содержащий одну или несколько фосфатных групп.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Цитостатики – лекарственные средства, подавляющие деление клеток; используют главным образом для лечения злокачественных опухолей.

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

Четвертичная структура – пространственное расположение субъединиц олигомерного белка.

Экзергоническая реакция – химическая реакция, сопро-

вождающаяся 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
ПЕДАТРИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

I. ВВЕДЕНИЕ

1. Предмет и задачи биологической химии. Медицинская биохимия, теоретические и практические аспекты. Роль биохимии в медицинском образовании.
2. Биохимическая характеристика живых систем. Объекты биохимических исследований. Методы биохимии.
3. Важнейшие этапы в истории биохимии. Основные разделы и современные направления науки. Вклад ученых-биохимиков. Развитие биохимии в Белоруссии.

II. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

4. Белки, история изучения. Гидролиз белков, аминокислоты, строение, представители, классификация.
5. Цветные реакции на аминокислоты и белки, практическое применение. Методы количественного определения белков, общий белок сыворотки крови.
6. Классификация белков по функциям, форме белковой молекулы. Содержание белков в тканях.
7. Физико-химические свойства белков, осаждение их из растворов.
8. Методы фракционирования и очистки белков: ультрацентрифугирование, электрофорез, хроматография, диализ.
9. Первичная структура белка, методы ее установления. Зависимость биологических свойств и видовой специфичности белков от первичной структуры.
10. Вторичная структура белка, виды, методы установления, связи, стабилизирующие вторичную структуру.
11. Третичная структура белковой молекулы, методы установления, виды стабилизирующих связей, ее роль в функционировании белка.
12. Денатурация белков, факторы и механизмы денатурации. Практическое использование денатурации.

13. Четвертичная структура белка, виды связей, биологический смысл. Функциональные особенности белков с четвертичной структурой.
14. Многообразие белков и их функции. Лиганды и функционирование белков.
15. Содержание белков в тканях детского организма. Изменение белкового состава в онтогенезе и при болезнях. Иммуноглобулины у детей.
16. Простые белки, представители, краткая характеристика, биологические функции.
17. Сложные белки, представители, краткая характеристика, биологические функции.

III. ФЕРМЕНТЫ

18. История открытия и изучения ферментов. Химическая природа ферментов. Особенности ферментативного катализа: свойства ферментов.
19. Механизм действия ферментов. Активный и аллостерический центры. Специфичность действия ферментов.
20. Классификация и номенклатура ферментов. Представление об изоферментах.
21. Кинетика ферментативных реакций. Анализ и графическое изображение уравнений Михазлиса-Ментен и Лайнуивера-Берка.
22. Зависимость скорости ферментативных реакций от температуры, pH, концентрации субстрата и фермента.
23. Простые и сложные ферменты. Кофакторы ферментов. Коферментные функции витаминов.
24. Определение ферментативной активности. Единицы измерения активности ферментов.
25. Механизмы регуляции активности ферментов: аллостерическая регуляция, ковалентная модификация структуры ферментов.
26. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов. Типы ингибирования: обратимое (конкурентное, неконкурентное), необратимое. Применение ингибиторов ферментов в медицине.

27. Различие ферментного состава органов и тканей. Органоспецифические ферменты. Изменение ферментного состава в онтогенезе.
28. Изменение активности ферментов при патологии. Первичные и вторичные энзимопатии.
29. Происхождение ферментов крови, причины ферментемии. Определение активности ферментов в плазме крови с диагностической целью.
30. Применение ферментов для лечения болезней. Иммобилизованные ферменты.

IV. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ

31. История открытия и изучения нуклеиновых кислот. Химическая природа нуклеиновых кислот, нуклеотидный состав, различия между ДНК и РНК.
32. ДНК, виды, локализация в клетке, биологические функции. Первичная и вторичная структуры ДНК.
33. РНК, виды, локализация в клетке, биологические функции. Особенности структурной организации РНК: первичная и вторичная структуры.
34. Роль белков в структурной организации нуклеиновых кислот. Нуклеопротеины. Структура хромосом. Строение рибосом эукариот. Информосома.
35. Денатурация и ренатурация ДНК. Гибридизация нуклеиновых кислот.
36. Биосинтез ДНК у эукариот, субстраты, ферменты, общая схема синтеза.
37. Обратная транскрипция, схема, биологическая роль.
38. Биосинтез РНК у эукариот, субстраты, ферменты, этапы, схема. Процессинг нуклеиновых кислот. Механизмы регуляции транскрипции.
39. Генетический код, его свойства.
40. Биосинтез аминоацил-тРНК. Адапторная функция тРНК.
41. Биосинтез белка у эукариот, этапы, схема.
42. Посттрансляционные изменения белков. Особенности синтеза белков в детском организме.
43. Регуляция трансляции. Антибиотики и токсины – ингибиторы

синтеза нуклеиновых кислот и белков.
44. Методы идентификации белков. Вестерн-блот.
45. Полимеразная цепная реакция, этапы применение.
46. Блот-анализ ДНК и РНК. Геномная дактилоскопия.
47. Выяснение последовательности нуклеотидов ДНК методом Сэнджера.
48. Клонирование, генная инженерия.

V. ГОРМОНЫ

49. Общая характеристика гормонов, свойства, типы биологического действия. Классификация гормонов. Клетки – мишени и клеточные рецепторы гормонов. Применение гормонов и анаболических стероидов в медицине.
50. Особенности действия гормонов, связывающихся с мембранными рецепторами. Посредники в действии гормонов на клетку. Протеинкиназы, их роль в механизмах передачи гормонального сигнала. Механизм действия гормонов, связывающихся с внутриклеточными рецепторами.
51. Тироксин и трииодтиронин, строение, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция гормонов, метаболические последствия и общие принципы лечения.
52. Паратгормон, кальцитонин, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция паратгормона.
53. Гормоны поджелудочной железы: инсулин и глюкагон, строение, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция гормонов.
54. Адреналин и норадреналин, строение, влияние на обмен веществ и функции. Гиперпродукция адреналина.
55. Глюкокортикоиды, строение кортизола, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.
56. Минералокортикоиды, строение альдостерона, биологическое действие. Гипер- и гипопродукция гормона.
57. Женские половые гормоны, строение эстрадиола и прогестерона, влияние на обмен веществ и функции. Последствия избытка и недостатка гормонов.
58. Мужские половые гормоны, строение тестостерона, влияние на обмен веществ и функции. Гипер- и гипопродукция гормонов.

59. Гормоны гипоталамуса и гипофиза, их биологическое действие. Соматотропин, кортикотропин, влияние на обмен веществ. Гипер- и гипопродукция соматотропина.
60. Эйкозаноиды (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены) и их роль в регуляции метаболизма и физиологических функций.
61. Особенности развития эндокринной системы у детей.
62. Возрастное становление гормональной регуляции.

VI. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ. ВИТАМИНЫ

63. Состав пищи человека, значение питания для жизнедеятельности. Общая характеристика органических и минеральных компонентов пищи. Незаменимые факторы питания. Нарушение питания.
64. Потребность в пищевых веществах в процессе роста ребенка. Роль молока в питании детей.
65. Витамины, история открытия, классификация. Витаминоподобные вещества. Обеспеченность организма витаминами, гипо-, а- и гипервитаминозы, их причины. Антивитамины.
66. Витамин А. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности и избытка. Каротины, биологическая роль.
67. Витамин Е. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности.
68. Витамин Д, активные формы. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности и избытка.
69. Витамин К. Биологические функции, пищевые источники, суточная потребность, проявление состояния недостаточности.
70. Витамин B_1. Строение, активная форма, участие в метаболизме, пищевые источники, суточная потребность. Проявления недостаточности, основные признаки.
71. Витамин B_2. Строение, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
72. Витамин РР. Строение, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.

73. Витамин B_6. Строение, активные формы, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
74. Пантотеновая кислота. Строение, активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
75. Фолиевая кислота. Активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
76. Витамин Н. Активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
77. Витамин С. Строение, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
78. Витамин B_{12}. Активная форма, участие в метаболизме, суточная потребность, пищевые источники. Проявления недостаточности, основные признаки.
79. Роль витаминов в метаболизме и функционировании детского организма. Особенности витаминной недостаточности у детей.

VII. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

80. Состав, строение и функции биологических мембран. Липидный и белковый состав мембран.
81. Общие свойства мембран. Механизмы мембранного транспорта.

VIII. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ

82. Представление о метаболизме и метаболических путях. Конечные продукты метаболизма. Методы изучения обмена веществ, использование изотопов.
83. Общие и специфические пути катаболизма. Связь между анаболизмом и катаболизмом.

IX. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. ЦТК

84. Энергетика клетки, общие представления. Биологическое окисление как основной путь получения энергии в клетке. Тканевое дыхание.

85. Макроэргические субстраты, строение
86. АТФ, строение, пути образования и использования, биологическая роль.
87. НАД(НАДФ)-зависимые дегидрогеназы, строение, биологическая роль.
88. ФАД(ФМН)-зависимые дегидрогеназы, строение, биологическая роль.
89. Кофермент Q, строение, биологическая роль.
90. Цитохромы и цитохромоксидаза, биологическая роль.
91. Цепь тканевого дыхания (ЦТД), структурная организация, схема функционирования.
92. Механизм окислительного фосфорилирования АДФ, теория Митчелла. Коэффициент Р/О.
93. Регуляция цепи тканевого дыхания. Активаторы и ингибиторы ЦТД. Разобщители ЦТД и окислительного фосфорилирования.
94. Нарушения энергетического обмена (гипоксии, гиповитаминозы РР, B_2). Гипоэнергетические состояния у детей.
95. Особенности энергетического обмена в детском организме.
96. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), последовательность реакций.
97. Схема цикла трикарбоновых кислот, регуляция, биологическая роль.
98. Энергетика ЦТК, связь с ЦТД.
99. Роль кислорода в процессах окисления в клетке, типы окисления. Активные формы кислорода, их повреждающее действие.
100. Антиоксидантные системы организма, роль ферментов.

X. ОБМЕН И ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ

101. Углеводы, классификация, биологические функции, содержание в тканях человека.
102. Основные углеводы пищи, их характеристика. Переваривание и всасывание углеводов в пищеварительном тракте. Нарушение переваривания и всасывания.
103. Углеводы пищи ребенка, особенности их переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте. Углеводы в крови и моче у детей.
104. Общая схема путей метаболизма глюкозы в организме, общая характеристика, биологическая роль. Фосфорилирование глю-

козы и дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата, регуляция.
105. Метаболизм галактозы. Нарушение обмена. Синтез лактозы в молочной железе, регуляция.
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.
113. Метаболизм молочной кислоты. Метаболические предшественники глюкозы. Схема глюконеогенеза.
114. Основные реакции глюконеогенеза, роль биотина. Регуляция и физиологическое значение глюконеогенеза.
115.Пентозофосфатный путь (ПФП), схема, биологическая роль.
116. Окислительные и неокислительные реакции ПФП.
117. Путь глюкуроновой кислоты. Основные реакции, биологическая роль. Эссенциальная пентозурия.
118. Синтез гликогена, регуляция.
119. Расщепление гликогена, регуляция. Биологическая роль гликогена.
120. Врожденная патология обмена гликогена: гликогенозы и агликогенозы.
121. Регуляция гликемии (факторы и механизмы). Методы количественного определения глюкозы в крови.
122. Нарушение углеводного обмена при сахарном диабете.
123. Метаболизм углеводов в детском организме. Характеристика гликемии у детей.

XI. ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ

124. Понятие «липиды». Классификация липидов. Важнейшие липиды тканей человека, структура, содержание в тканях. Функции липидов.
125. Липиды пищи. Высоконепредельные жирные кислоты – не-

заменимые факторы питания. Роль липидов в питании детей.

126. Переваривание и всасывание липидов в желудочно-кишечном тракте. Особенности переваривания и всасывания липидов в детском организме.

127. Ресинтез триглицеридов в клетках кишечника. Образование хиломикронов, их состав и транспорт. Нарушение переваривания и всасывания липидов.

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

129. β–Окисление жирных кислот, последовательность реакций, энергетика, биологическое значение.

130. Реакции образования и утилизации кетоновых тел, их биологическая роль. Механизм избыточного накопления кетоновых тел при голодании и сахарном диабете. Кетоацидоз.

131. Синтетаза жирных кислот, строение. Источники $НАДФН_2$ и ацетил-КоА для синтеза жирных кислот. Образование малонил-КоА.

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

133. Синтез триглицеридов. Внутриклеточный липолиз, гормональная регуляция этого процесса. Нарушение метаболизма липидов при ожирении.

134. Биосинтез глицерофосфолипидов.

135. Схема синтеза холестерина, этапы, регуляция.

136. Начальные реакции синтеза холестерина. Метаболизм холестерина в организме.

137. Жёлчные кислоты, строение, представители, метаболизм. Биологические функции жёлчных кислот. Желчнокаменная болезнь. Механизмы образования холестериновых камней.

138. Представление о метаболизме сфингофосфолипидов и гликолипидов. Врожденные нарушения обмена этих соединений.

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

140.Метаболизм липопротеинов: их образование и утилизация. Роль апопротеинов.

141. Первичные и вторичные гиперлипопротеинемии, их причины.

142. Биохимия атеросклероза, роль гиперхолестеринемии и других

факторов риска. Биохимические основы лечения и профилактики атеросклероза.

143. Особенности липидного обмена у детей.

XII. ОБМЕН И ФУНКЦИИ АМИНОКИСЛОТ

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

145. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Всасывание аминокислот. Наследственные нарушения транспорта аминокислот.

146. Требования к белковому питанию детей. Особенности переваривания и всасывания белков у детей.

147. Превращение аминокислот микрофлорой кишечника.

148. Трансаминирование аминокислот, биологическое значение. Коферментная функция витамина B_6. Механизм трансаминирования аминокислот. Клинико - диагностическое значение определения активности аминотрансфераз.

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

150. Непрямое дезаминирование аминокислот. Биологическое значение.

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

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

153. Биосинтез мочевины. Нарушения синтеза и выведения мочевины. Содержание мочевины в крови и моче в норме.

154. Особенности обмена аминокислот в детском возрасте. Конечные продукты азотистого обмена и их экскреция в онтогенезе.

155. Метаболизм метионина: Образование S-аденозилметионина, его участие в реакциях трансметилирования.

156. Синтез креатина, его биологическая роль. Образование цистеина. Наследственные нарушения обмена серосодержащих аминокислот.

157. Пути обмена фенилаланина и тирозина в норме и патологии. Врожденные нарушения их обмена (фенилкетонурия, тирозиноз, алкаптонурия, альбинизм).

XIII. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

158. Биосинтез пуриновых нуклеотидов; реакция синтеза фосфорибозиламина, происхождение атомов пуринового ядра. Инозиновая кислота как предшественник адениловой и гуаниловой ислот. Регуляция биосинтеза пуриновых нуклеотидов.
159. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов. Регуляция биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов. Оротацидурия.
160. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях. Подагра. Врожденные нарушения обмена пуриновых нуклеотидов.

XIV. ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН. БИОХИМИЯ ПОЧЕК И МОЧИ

161. Биохимические функции почек. Особенности метаболизма в почечной ткани.
162. Вода, биологические функции в организме. Водный баланс. Компартментализация жидкости в организме. Электролитный состав биологических жидкостей.
163. Механизмы регуляции объема и электролитного состава жидкостей организма.
164. Роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия.
165. Изменение содержания воды в тканях у детей. Особенности водно-солевого обмена и обмена электролитов в детском возрасте.
166. Минеральные компоненты тканей, классификация, представители. Микроэлементы, биологическая роль.
167. Натрий, калий, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.
168. Кальций, фосфор, биологическая роль, обмен, регуляция обмена.
169. Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия. Представление об обезвоживании, отеках, ацидозе, алкалозе.
170. Моча, общие свойства. Химический состав мочи. Патологические компоненты мочи. Клинико-диагностическое значение биохимического анализа мочи.

XV. ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

171. Уровни взаимосвязи метаболизма. Субстратные взаимосвязи. Роль субстратов ЦТК во взаимосвязи обменов.
172. Энергетические взаимосвязи между катаболическими и анаболическими путями. Субстратные взаимосвязи метаболизма углеводов и аминокислот. Биосинтез липидов из углеводов и аминокислот.

XVI. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

173. Роль регуляции метаболизма в функционировании органов и систем. Иерархия регуляторных систем в организме. Нервная и гормональная регуляция метаболизма.
174. Уровни регуляции метаболизма и основные регуляторные механизмы. Регуляция с участием мембран, вторичных посредников, ферментов, гормонов.

XVII. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

175. Роль печени в обмене углеводов, липидов, аминокислот и белков. Синтез белков плазмы крови в печени.
176. Обезвреживающая функция печени, механизмы (защитные синтезы, конъюгация, микросомальное окисление). Обезвреживание продуктов гниения, поступающих из кишечника.
177. Особенности функций и метаболизма в печени у детей.
178. Реакции синтеза гема, субстраты, ферменты.
179. Роль печени в пигментном обмене. Обмен билирубина в норме и патологии.
180. Желтухи, их виды. Биохимическая диагностика желтух. Желчные пигменты крови, кишечника и мочи.
181. Обмен билирубина в детском возрасте. Физиологическая желтуха новорожденных. Наследственные желтухи у детей.
182. Биохимические механизмы патогенеза печеночной недостаточности и печеночной комы. Биохимические методы диагностики нарушений печени.

XVIII. БИОХИМИЯ КРОВИ

183. Кровь, общая характеристика, функции. Особенности химического состава, строения и метаболизма эритроцитов и лейкоцитов. Эритроцитарные энзимопатии.

184. Гемоглобин, строение, производные. Варианты гемоглобина в онтогенезе. Гемоглобинопатии.
185. Особенности крови в детском возрасте. Участие гемоглобина в транспорте кислорода и углекислого газа кровью. Гипоксии.
186. Обмен железа. Нарушения обмена железа: железодефицитные анемии.
187. Плазма крови и сыворотка. Белки плазмы крови, их характеристика.
188. Свертывание крови. Факторы свертывающей системы крови.
189. Внутренняя и внешняя системы коагуляционного механизма. Роль витамина К в свертывании крови.
190. Противосвертывающая и фибринолитическая системы крови. Представление о тромбозах и гемофилиях, ДВС - синдроме. Геморрагические состояния у детей.
191. Значение биохимического анализа крови в характеристике состояния здоровья детей.

XIX. БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

192. Химический состав нервной ткани. Миелиновые мембраны, особенности состава и структуры.
193. Особенности метаболизма углеводов, липидов и аминокислот в нервной ткани. Энергетический обмен в головном мозге. Особенности метаболизма ткани мозга в детском возрасте.
194. Молекулярные механизмы синаптической передачи. Медиаторы, активные пептиды мозга.

XX БИОХИМИЯ МЫШИ

195. Особенности строения и состава мышечной ткани. Миофибриллярные и саркоплазматические белки мышц, характеристика, функции.
196. Биохимические механизмы сокращения и расслабления мышц. Роль ионов в регуляции мышечного сокращения. Энергетический обмен в мышцах.

XXI. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

197. Химический состав межклеточного вещества соединительной ткани. Коллаген, эластин. Особенности химического состава и метаболизма в соединительной ткани у детей.

198. Белково-углеводные комплексы соединительной ткани: протеогликаны, гликопротеины, особенности синтеза и распада, биологическая роль в организме.

XXII. ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

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

200. Подходы к лабораторной диагностике и лечению патологии метаболизма.

Для заметок

Учебное издание

Лелевич Владимир Валерьянович
Шейбак Владимир Михайлович
Леднёва Ирина Олеговна и др.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум
для студентов, обучающихся
по специальности 1-79 01 02 «Педиатрия»

Ответственный за выпуск В. В. Воробьев

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной

Подписано в печать 06.08.2020
Формат 60х84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. 9,76. Уч.-изд. л. 4,48. Тираж 195 экз. Заказ 96.

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