

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**О.Л. Носарева, Е.А. Степовая,  
Е.В. Шахристова, Л.В. Спирина**

# **ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ**

**ДЛЯ СТУДЕНТОВ БАКАЛАВРИАТА ПО  
НАПРАВЛЕНИЮ ПОДГОТОВКИ  
06.03.01 – БИОЛОГИЯ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Томск  
Издательство СибГМУ  
2026

УДК 577.1(075.8)

ББК 28.707.2я73

Л 125

**Лабораторный практикум по биохимии** для студентов бакалавриата по направлению подготовки  
Л 125 06.03.01 – Биология / О.Л. Носарева, Е.А. Степовая, Е.В. Шахристова, Л.В. Спирина. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2026. – 152 с.

Пособие подготовлено по дисциплине «Биохимия» в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом высшего образования для студентов, обучающихся по основной профессионально-образовательной программе бакалавриата направления подготовки 06.03.01 – Биология.

В каждом разделе приведены лабораторные работы, выполняемые студентами на практических занятиях. Ряд изучаемых методов используется в клиничко-диагностических лабораториях для определения параметров углеводного, белкового, липидного, водно-минерального обменов организма человека. По каждому разделу студенту предлагаются вопросы для самоподготовки к практическому занятию.

Пособие способствует формированию профессиональных компетенций, а именно овладению основными методами лабораторных исследований обмена веществ и их клиничко-диагностическим значением.

**УДК 577.1(075.8)**

**ББК 28.707.2я73**

**Рецензент:**

**Агеева Е.С.** – доктор медицинских наук, доцент, зав. кафедрой биологии медицинской Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

*Утверждено и рекомендовано к печати методической комиссией по направлению подготовки 06.03.01 – Биология, профиль «Биомедицина» ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 6 от 14 января 2026 г.).*

© Макет издательства СибГМУ, 2026

© Носарева О.Л., Степовая Е.А.,  
Шахристова Е.В., Спирина Л.В. 2026

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Раздел 1. Строение, свойства и функции белков</b> .....	6
<b>Тема 1.1. Строение и классификация аминокислот.</b> Структура белков .....	6
<b>Тема 1.2. Структура и физико-химические</b> <b>свойства белков</b> .....	10
<b>Тема 1.3. Классификация белков.</b> Строение и функции белков в организме. Сложные белки .....	14
<b>Раздел 2. Строение, классификация и роль витаминов</b> .....	18
<b>Тема 2.1. Жирорастворимые витамины</b> .....	18
<b>Тема 2.2. Водорастворимые витамины</b> .....	21
<b>Раздел 3. Энзимология</b> .....	26
<b>Тема 3.1. Строение и свойства ферментов.</b> Основы классификации и номенклатуры ферментов ....	26
<b>Тема 3.2. Регуляция активности ферментов.</b> Использование ферментов в медицине .....	32
<b>Контрольные вопросы к итоговому занятию</b> <b>(по разделам 1, 2, 3)</b> .....	35
<b>Раздел 4. Биологическое окисление</b> .....	38
<b>Тема 4.1. Общие пути катаболизма: окислительное</b> <b>декарбоксилирование пирувата. Цикл трикарбоновых</b> <b>кислот. Ферменты дыхательной цепи. Окислительное</b> <b>фосфорилирование (семинар)</b> .....	38
<b>Раздел 5. Обмен аминокислот и белков</b> .....	40
<b>Тема 5.1. Внешний обмен белков</b> .....	40
<b>Тема 5.2. Пути превращения аминокислот</b> <b>в клетке. внутриклеточный обмен аминокислот</b> <b>(семинар)</b> .....	46
<b>Тема 5.3. Пути превращения аммиака и</b> <b>его обезвреживание</b> .....	49

<b>Раздел 6. Строение и обмен пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов .....</b>	<b>55</b>
<b>Тема 6.1. Строение и метаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.....</b>	<b>55</b>
<b>Раздел 7. Матричные биосинтезы .....</b>	<b>59</b>
<b>Тема 7.1. Синтез нуклеиновых кислот и его регуляция .....</b>	<b>59</b>
<b>Тема 7.2. Биосинтез белка и его регуляция.....</b>	<b>62</b>
<b>Контрольные вопросы к итоговому занятию (по разделам 5, 6, 7).....</b>	<b>65</b>
<b>Раздел 8. Строение и обмен углеводов .....</b>	<b>69</b>
<b>Тема 8.1. Строение и внешний обмен углеводов. Обмен гликогена .....</b>	<b>69</b>
<b>Тема 8.2. Окисление глюкозы в анаэробных условиях. Глюконеогенез (семинар) .....</b>	<b>77</b>
<b>Тема 8.3. Аэробное окисление глюкозы.....</b>	<b>78</b>
<b>Тема 8.4. Пентозофосфатный путь. Нарушения обмена углеводов (семинар) .....</b>	<b>84</b>
<b>Контрольные вопросы к итоговому занятию (по разделу 8).....</b>	<b>85</b>
<b>Раздел 9. Строение и обмен липидов .....</b>	<b>88</b>
<b>Тема 9.1. Строение и внешний обмен липидов .....</b>	<b>88</b>
<b>Тема 9.2. Внутриклеточный обмен жирных кислот и триацилглицеролов (семинар).....</b>	<b>91</b>
<b>Тема 9.3. Внутриклеточный обмен фосфолипидов (семинар).....</b>	<b>93</b>
<b>Тема 9.4. Внутриклеточный обмен холестерина .....</b>	<b>94</b>
<b>Тема 9.5. Транспорт липидов в крови. Нарушения липидного обмена (семинар) .....</b>	<b>97</b>
<b>Контрольные вопросы к итоговому занятию (по разделу 9).....</b>	<b>98</b>
<b>Раздел 10. Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма .....</b>	<b>102</b>
<b>Тема 10.1. Механизмы передачи гормонального сигнала. Классификация гормонов (семинар) .....</b>	<b>102</b>

<b>Тема 10.2.</b> Гормоны гипоталамуса, гипофиза, надпочечников, щитовидной, поджелудочной и паращитовидной и половых желез (семинар) .....	103
<b>Раздел 11. Биохимия крови</b> .....	108
<b>Тема 11.1.</b> Азотсодержащие вещества крови: белки, ферменты, фракции остаточного азота.....	108
<b>Тема 11.2.</b> Обмен железа. Гемопротейны. Синтез и распад гема .....	117
<b>Тема 11.3.</b> Неорганические вещества крови. Кислотно-основное состояние (семинар).....	123
<b>Раздел 12. Биохимия почек и печени</b> .....	126
<b>Тема 12.1.</b> Водно-солевой обмен. Нормальные и патологические компоненты мочи.....	126
<b>Тема 12.2.</b> Участие печени в метаболизме веществ. Биотрансформация ксенобиотиков (семинар).....	134
<b>Контрольные вопросы к итоговому занятию (по разделам 10, 11, 12)</b> .....	135
<b>Рекомендуемая литература</b> .....	140
<b>Приложения</b> .....	141

# РАЗДЕЛ 1

## СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

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

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

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

#### *ЦЕЛЬ*

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

Приобретение практических навыков по проведению качественных реакций на присутствие аминокислот, пептидов и белков при помощи цветных реакций.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Принципы классификации аминокислот.
2. Классы аминокислот:
  - по биологической роли (заменимые и незаменимые);
  - по физико-химическим свойствам (нейтральные, кислые, основные; гидрофобные, гидрофильные);
  - по химическому строению (с алифатическими радикалами, с дополнительной функциональной группой, с ароматическим и гетероциклическим радикалом, аминокислоты);
  - по растворимости в воде (неполярные, полярные незаряженные, полярные отрицательно и положительно заряженные).
3. Структурные формулы протеиногенных аминокислот.

4. Физико-химические свойства аминокислот, роль их функциональных групп.
5. Изоэлектрическая точка аминокислот и пептидов. От чего она зависит?
6. Влияние изменения рН на заряд аминокислот.
7. Пептидная связь, реакция образования. Свойства пептидной связи.
8. Влияние изменения рН на заряд и растворимость пептидов.
9. Цветные качественные реакции на аминокислоты и белки. Принцип методов. Практическое применение реакций.

### Лабораторная работа

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

### *Реактивы*

1) 1% раствор яичного белка, 2) 0,5% раствор нингидрина, 3) 30% раствор NaOH, 4) 10% раствор NaOH, 5) 5% раствор  $Pb(CH_3COO)_2$ , 6) 5% раствор нитропрусида натрия, 7) конц.  $HNO_3$ , 8) 5% раствор  $CuSO_4$ .

### *Материал исследования*

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

### *РЕАКЦИЯ НА ПЕПТИДНЫЕ СВЯЗИ*

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

### *Принцип*

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

### *Проведение анализа*

В пробирку с 5 каплями 1% раствора белка вносят 3 капли

10% раствора NaOH и 1 каплю 5% раствора CuSO<sub>4</sub>.

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

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

#### *Принцип*

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

#### *Проведение анализа*

5 капель 1% раствора белка смешивают с 5 каплями 0,5% раствора нингидрина. Пробирки нагревают при 100 °С до появления сине-фиолетового окрашивания.

### *РЕАКЦИЯ НА АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ*

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

#### *Принцип*

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

#### *Проведение анализа*

К 5 каплям 1% раствора белка добавляют 2 капли конц. HNO<sub>3</sub> и осторожно нагревают. Наблюдают за появлением желтого окрашивания, при отсутствии желтого цвета еще добавляют 1–2 капли конц. HNO<sub>3</sub>. При добавлении избытка 30% раствора NaOH окраска переходит в оранжевую.

### *РЕАКЦИИ НА СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ*

#### *Принцип*

Сульфгидрильные группы в белке или пептиде подвергаются щелочному гидролизу, в результате чего происходит отщепление серы в виде сульфида натрия Na<sub>2</sub>S, который вступает в дальнейшие реакции:

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

#### *Проведение анализа*

5 капель 1% раствора белка и 5 капель 30% раствора  $\text{NaOH}$  нагревают при  $100\text{ }^\circ\text{C}$  1–2 минуты. Далее делят содержимое пробирок на 2 части для реакций «а» и «б».

##### **а) реакция Фоля.**

К 5 каплям гидролизата добавляют 1 каплю раствора уксусно-кислого свинца и нагревают при  $100\text{ }^\circ\text{C}$ . Отмечают появление бурого или черного осадка;

##### **б) реакция с нитропруссидом.**

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

#### *Практическое значение цветных реакций*

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

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

#### *Оформление работы*

Результаты оформляют в виде таблицы, где отмечают полученный цвет раствора.

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

В выводах указывается на возможность обнаружения пептидных связей, некоторых типов аминокислот и концевых  $\alpha$ -аминогрупп пептидов и белков при помощи используемых реакций.

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

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение физико-химических свойств белков (молекулярная масса, форма, ионизация, гидратация, растворимость) и основных типов структур белковых молекул.

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

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

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

## Лабораторная работа 1 **ВЫСАЛИВАНИЕ БЕЛКОВ**

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

### *Реактивы*

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

### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

### *Принцип*

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

### *Проведение анализа*

К 2,0 мл сыворотки крови добавляют 2,0 мл насыщенного раствора  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , при этом получается полунасыщенный раствор. Перемешивают и отмечают выпадение осадка глобулинов.

Через 5 мин осадок отделяют центрифугированием или фильтрованием. Надосадочную жидкость (фильтрат) отделяют. Наличие белка в осадке (на фильтре) доказывают биуретовой реакцией (см. тема 1.1).

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

### *Клинико-диагностическое значение*

Метод высаливания ранее использовали в лабораторной практике для разделения альбуминов и глобулинов, определения их соотношения в сыворотке крови. В норме отношение альбу-

мины/глобулины в сыворотке крови человека колеблется в пределах 1,2–1,8 и при патологии может изменяться в сторону повышения или снижения. Например, при воспалительных заболеваниях увеличивается содержание глобулинов.

### *Оформление работы*

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

## Лабораторная работа 2 **ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕНАТУРАЦИИ БЕЛКОВ**

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

### *Реактивы*

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

### *Материал исследования*

Яичный белок, 1% водный раствор.

### *Принцип*

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

### *Исследование химической денатурации*

### *Проведение анализа*

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

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

№ пробирки	Используемые реактивы	Число капель	Механизм реакции	Наличие и цвет осадка
Денатурация солями тяжелых металлов				
1	Меди сульфат	2	Ионы металлов связываются с заряженными группами аминокислот, в результате чего изменяется пространственная структура белка	
2	Свинца ацетат	2		
Денатурация концентрированными неорганическими кислотами				
3	Азотная Серная	2	Концентрированные кислоты вызывают дегидратацию белков, нейтрализуют заряд белка, связываясь с катионными группами	
4		2		
5	Азотная Серная	10	Исчезновение осадка белка при добавлении избытка серной кислоты обусловлено перезарядкой ионных групп	
6		10		
Денатурация органическими кислотами				
7	Трихлоруксусная	2	Кислоты нейтрализуют заряд белка, разрушают водородные связи и образуют комплексы с белком	
8	Сульфосалициловая	2		
Денатурация дубильными веществами				
9	Танин	2	Образуются нерастворимые солеобразные соединения с аминогруппами основных аминокислот	
Денатурация органическими растворителями				
10	Ацетон	5	Нарушаются гидрофобные взаимодействия внутри белковой молекулы	

### *Практическое значение*

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

### *Оформление работы*

Отмечают принцип метода, ход работы, регистрируют механизм осаждения и результаты анализа в таблице. Делают вывод об обратимости осаждения белков.

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

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

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

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение структуры сложных белков: фосфопротеинов, нуклеопротеинов, гликопротеинов, хромопротеинов (гемо-, ретиналь- и флавопротеинов), металлопротеинов, липопротеинов.

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

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Структурные формулы протеиногенных аминокислот.
2. Классификация белков по функциональным признакам (защит-

ные, структурные, транспортные, сократительные, гормональные, ферментативные). Примеры белков каждого класса.

3. Классы белков в зависимости от их строения: простые и сложные, мономеры и олигомеры, глобулярные и фибриллярные. Примеры белков каждого класса.

4. Характеристика простых белков (альбумины, глобулины, гистоны). Отметьте особенности их строения и функции.

5. Характеристика и особенности строения классов сложных белков:

- **Нуклеопротеины.** Общая структура и свойства ДНК и РНК. Каковы отличия ДНК и РНК? Строение нуклеотидов на примере АМФ, АДФ, АТФ, цАМФ. Типы гистонов, их роль в образовании нуклеосом и укладке ДНК.
- **Хромопротеины** (гемопроотеины, флавопротеины, ретинальпротеины). Понятие о химической структуре, их основные представители и функции. Представление о строении молекулы гемоглобина. Структура гема.
- **Гликопротеины.** Структура, функции в организме. Представление о строении углеводной части. Протеогликаны, структура, функции в организме. Химическая структура гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфатов.
- **Липопротеины.** Структура липопротеинов. Основные транспортные формы липидов плазмы – хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП). Их функции.
- **Металлопротеины.** Представление о строении. Основные представители. Что такое металлоферменты? Их функции. Примеры.
- **Фосфопротеины.** Каким образом присоединяется фосфатная группа к белку? Их функции. Основные представители.

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

Лабораторная работа 1  
**ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА  
ФОСФОПРОТЕИНОВ И ГЛИКОПРОТЕИНОВ**

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

*Реактивы*

1) 1% раствор тимола в этиловом спирте, 2) 10% раствор NaOH, 3) 3,75% раствор молибденово-кислого аммония, 4) конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 5) 1% раствор CuSO<sub>4</sub>, 6) 10% раствор CH<sub>3</sub>COOH.

*Анализ химического состава фосфопротеинов*

*Материал исследования*

Молоко.

*Проведение анализа*

Берут 2 пробирки, наливают по 1,0 мл молока, приливают 1,0 мл дистиллированной воды и 1,0 мл 10% раствор CH<sub>3</sub>COOH, перемешивают. Далее проводят молибденовую и биуретовую пробу.

<b>Молибденовая проба на фосфаты</b>	<p><i>Принцип</i> Присутствующая в осадке фосфорная кислота, взаимодействуя с молибденово-кислым аммонием в азотной кислоте, образует окрашенное в лимонно-желтый цвет комплексное соединение фосфомолибдата аммония.</p> <p><i>Проведение реакции</i> Половину осадка снимают палочкой с фильтра в пробирку. Для выявления фосфатов добавляют 20 капель 3,75% раствора молибденово-кислого аммония. Фосфомолибдат аммония выпадает в осадок.</p>
<b>Биуретовая реакция</b>	<p><i>Принцип</i> Пептидная группа образует в щелочной среде с ионами Cu<sup>2+</sup> комплексное соединение фиолетового цвета с красным или синим оттенком в зависимости от числа пептидных связей. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству пептидных групп.</p> <p><i>Проведение реакции</i> К оставшейся на фильтре части осадка добавляют 10 капель 10% раствора NaOH и 1 каплю 1% раствора CuSO<sub>4</sub>.</p>

## Анализ химического состава гликопротеинов

### Материал исследования

Слюна, собранная после ополаскивания рта водой.

### Проведение анализа

В 2 пробирки собирают по 1,0 мл слюны, по каплям приливают 10% раствор  $\text{CH}_3\text{COOH}$  до появления сгустка муцина.

<b>Реакция Молиша на углеводные группы</b>	<p><i>Принцип</i> После дегидратации пентоз серной кислотой образуется гидроксиметилфурфурол. При конденсации тимола с гидроксиметилфурфуролом развивается красное окрашивание, которое проявляется в виде розового кольца в пробирке.</p> <p><i>Проведение реакции</i> Из 1-й пробирки жидкость сливают и к сгустку добавляют 2–3 капли раствора тимола. Перемешивают и осторожно по стенке добавляют конц. <math>\text{H}_2\text{SO}_4</math>.</p>
<b>Биуретовая реакция</b>	<p><i>Принцип</i> Пептидная группа образует в щелочной среде с ионами <math>\text{Cu}^{2+}</math> комплексное соединение фиолетового цвета с красным или синим оттенком в зависимости от числа пептидных связей. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству пептидных групп.</p> <p><i>Проведение реакции</i> В другую пробирку предварительно добавляют 10 капель 10% раствора <math>\text{NaOH}</math> для нейтрализации кислоты. Затем добавляют еще 10 капель 10% раствора <math>\text{NaOH}</math> и 1 каплю 1% раствора <math>\text{CuSO}_4</math>.</p>

### Оформление работы

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

Объект исследования	Сложные белки	Выявляемый компонент	Окрашивание	Вывод о присутствии
Слюна	Гликопротеины	Белок Углеводы		
Молоко	Фосфопротеины	Белок Фосфаты		

## **РАЗДЕЛ 2**

# **СТРОЕНИЕ, КЛАССИФИКАЦИЯ И РОЛЬ ВИТАМИНОВ**

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

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

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

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

#### *ЦЕЛЬ*

Изучение классификации, химической структуры, свойств, биологической роли жирорастворимых витаминов, клинической картины авитаминозов.

Научиться проводить качественные реакции со стандартными растворами жирорастворимых витаминов.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Общая характеристика витаминов, их роль. Классификация и номенклатура витаминов.
2. Характеристика гипо- и авитаминозов, гипервитаминозов, их экзогенные и эндогенные причины.
3. Провитамины –  $\beta$ -каротин, эргостерол, 7-дегидрохолестерол. Превращение провитаминов в витамины на примере  $\beta$ -каротина и 7-дегидрохолестерола. Понятие о каротиноидах и их роли в организме.

4. Понятие об антивитаминах. Использование антивитаминов в качестве лекарственных средств. Механизм действия дикумарола как антивитамина К.

5. Характеристика отдельных жирорастворимых витаминов по плану:

- строение витаминов А, Е, К, D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>, F;
- строение активных форм витаминов А и D;
- биохимические функции, примеры реакций и/или процессов, в которых принимает участие витамин;
- картина гипо- и авитаминоза, гипервитаминоза.

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

7. Эйкозаноиды. Схема начальных реакций синтеза эйкозаноидов на примере арахидоновой кислоты, их биологическая роль.

8. Составьте конспект или таблицу, содержащие для каждого жирорастворимого витамина: название витамина (буквенное, химическое, физиологическое); химическую формулу; биологическую роль; признаки гипер-, гипо- и авитаминоза.

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

### Лабораторная работа

## **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ**

### *КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА РЕТИНОЛ*

#### *Принцип*

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

#### *Реактивы*

1) конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2) бутанол.

#### *Материал исследования*

Витамин А, 3,44% масляный раствор.

### *Проведение анализа*

В пробирку вносят 2 капли раствора витамина А и 5 капель бутанола. Оставляют на 1 минуту, периодически встряхивая. Затем добавляют 5–7 капель конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Появляется синее окрашивание, переходящее в фиолетовое, затем в красно-бурое.

### *КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛ*

#### *Принцип*

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

#### *Реактивы*

1) конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2) бутанол, 3) 20% раствор сахарозы.

#### *Материал исследования*

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

#### *Проведение анализа*

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

### *КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ТОКОФЕРОЛ*

#### *Принцип*

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

#### *Реактивы*

Конц.  $\text{HNO}_3$ .

#### *Материал исследования*

Витамин Е, 30,0% масляный раствор.

#### *Проведение анализа*

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

## КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ВИТАМИН К

### *Принцип*

Викасол (синтетический аналог витамина К<sub>1</sub>) в присутствии цистеина в щелочной среде окрашивается в лимонно-желтый цвет.

### *Реактивы*

1) 0,025% раствор цистеина, 2) 10% раствор NaOH.

### *Материал исследования*

0,05% раствор викасола.

### *Проведение анализа*

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

### *Клинико-диагностическое значение*

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

### *Оформление работы*

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

Исследуемые витамины	Окраска	Наличие реакции

## ТЕМА 2.2. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Водорастворимые витамины – низкомолекулярные органические вещества различной химической природы, регуляторы обменных процессов и жизнедеятельности организма. В организме они не синтезируются и являются незаменимыми пищевыми факторами. При недостаточном поступлении витаминов развиваются тяжелые состояния – гипо- и авитаминозы. Биологическая роль

водорастворимых витаминов связана с регуляцией обменных процессов в организме, поскольку большинство из них входят в состав коферментов (простетических групп) ферментов.

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение классификации, химической структуры, свойств, биологической роли витаминов, клинической картины авитаминозов.

Приобретение практических навыков по проведению качественных реакций на витамины.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Характеристика всех водорастворимых витаминов по плану:
  - строение – химическая формула витаминов В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), В<sub>3</sub> (РР, никотиновая кислота, никотинамид), В<sub>6</sub> (пиридоксин), С (аскорбиновая кислота), Н (биотин). Представление о строении витаминов В<sub>5</sub> (пантотеновая кислота), В<sub>9</sub> (фолиевая кислота), В<sub>12</sub> (кобаламин);
  - формула кофермента (ТДФ, ФМН и ФАД, НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>, ПФ);
  - биохимические функции, примеры реакций и/или процессов, в которых принимает участие кофермент;
  - возможные причины гипо- и авитаминоза и его клинические проявления.
2. Антивитамины – изониазид, авидин, птеридины. Механизм их действия. Использование антивитаминов в качестве лекарственных средств.
3. Составьте конспект или таблицу, содержащие для каждого водорастворимого витамина: название витамина (буквенное, химическое, физиологическое); химическую формулу; биологическую роль; признаки гипо- и авитаминоза.
4. Качественные реакции на рибофлавин, никотиновую кислоту, пиридоксин, кобаламин, аскорбиновую кислоту. Принцип методов.

Лабораторная работа  
**КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ  
НА ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ**

*Реактивы*

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

*Оборудование*

Водяная баня.

*Исследуемый материал*

1% раствор пиридоксина гидрохлорида, сухая никотиновая кислота, 0,025% раствор рибофлавина, 1% раствор кобаламина, 1% раствор аскорбиновой кислоты.

**КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА РИБОФЛАВИН**

*Материал исследования*

0,025% раствор рибофлавина. Перед использованием разводят в 5 раз.

*Реакция восстановления*

*Принцип*

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

*Проведение анализа*

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

**КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА НИКОТИНОВУЮ КИСЛОТУ**

*Принцип*

При нагревании никотиновой кислоты с раствором уксуснокислой меди образуется плохо растворимый синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

*Материал исследования*

Порошок никотиновой кислоты.

### *Проведение анализа*

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

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

### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ПИРИДОКСИН**

#### *Принцип*

Пиридоксин с  $\text{FeCl}_3$  образует комплексную соль красного цвета.

#### *Материал исследования*

1% раствор пиридоксина.

#### *Проведение анализа*

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

### **КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА КОБАЛАМИН**

#### *Принцип*

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

#### *Материал исследования*

1% раствор кобаламина.

#### *Проведение анализа*

На фильтр наносят 2–3 капли тиомочевины, высушивают. На фильтр наносят 1–2 капли кобаламина и вновь высушивают.

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

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

#### *Материал исследования*

1% раствор аскорбиновой кислоты.

#### *Принцип*

Аскорбиновая кислота обладает способностью восстанавливать метиленовый синий, окисляясь при этом до дегидро-

аскорбиновой кислоты. Метиленовый синий при восстановлении обесцвечивается.

#### *Проведение анализа*

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

#### *Оформление работы*

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

<b>Исследуемые витамины</b>	<b>Окраска</b>	<b>Наличие реакции</b>

## РАЗДЕЛ 3 ЭНЗИМОЛОГИЯ

### ТЕМА 3.1. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ. ОСНОВЫ КЛАССИФИКАЦИИ И НОМЕНКЛАТУРЫ ФЕРМЕНТОВ

#### АКТУАЛЬНОСТЬ

Ферменты – белковые молекулы, выполняющие в живой клетке функции биокатализаторов. Изучение строения и функционирования ферментов необходимо для изучения обмена веществ и его регуляции, а также патологических состояний организма человека, связанных с нарушением работы ферментов. Знание принципов классификации ферментов необходимо для понимания их роли в осуществлении биохимических реакций.

#### ЦЕЛЬ

Знакомство со строением и свойствами ферментов, особенностями ферментативного катализа.

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

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

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

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Строение простых и сложных белков.
2. Коферментные формы витаминов В<sub>1</sub> (ТДФ), В<sub>2</sub> (ФМН и ФАД), РР (НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>), В<sub>6</sub> (ПФ).
3. Биологическая роль ферментов. Понятие энергетического барьера реакции и энергии активации.
4. Этапы ферментативного катализа.
5. Характеристика структурно-функциональной организации ферментов по плану:
  - простые ферменты;
  - сложные ферменты: понятие холофермента, апофермента, кофактора, кофермента, простетической группы;

- активный центр (контактный и каталитический участки);
  - аллостерический центр.
6. Кислотно-основной и ковалентный механизмы катализа.
7. Сходство и различие в действии ферментов и неорганических катализаторов.
8. Единицы активности ферментов.
9. Мультиферментный комплекс, строение, принципы самосборки, роль. Примеры.
10. Изоферменты, особенности их строения на примере лактатдегидрогеназы и креатинкиназы.
11. Основные свойства ферментов. Графики зависимости скорости ферментативной реакции:
- от температуры;
  - от рН среды;
  - от концентрации субстрата;
  - от концентрации фермента.
12. Специфичность, виды специфичности. Механизмы специфичности – теория Фишера и теория Кошланда.
13. Принципы современной классификации и номенклатуры ферментов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтетазы) (см. учебное пособие Биохимические функции витаминов. Классификация и номенклатура ферментов: учебное пособие / Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, О.Л. Носарева, А.А. Садыкова. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2020. – 89 с.).
14. Характеристика каждого класса ферментов по плану:
- название и номер класса;
  - биохимическая роль;
  - основные коферменты данного класса;
  - правила систематического названия ферментов;
  - напишите примеры биохимических реакций данного класса ферментов (3 реакции).
15. Исследование специфичности действия ферментов на примере амилазы и уреазы. Принцип метода.
16. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры на примере амилазы слюны. Принцип метода.

Лабораторная работа 1  
**ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ  
РЕАКЦИИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ**

*Исследование влияния температуры на  
активность амилазы слюны*

*Реактивы*

1) 1% раствор крахмала, 2) водный раствор Люголя.

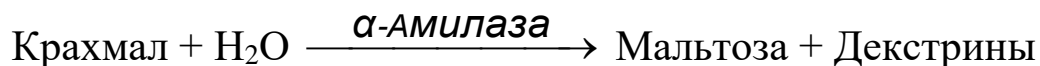
*Материал исследования*

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

*Принцип*

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

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



Количество расщепленного крахмала оценивают по цветной реакции с йодом. Нерасщепленный крахмал с йодом дает синее окрашивание. Продукты гидролиза крахмала (декстрины) в зависимости от размера молекул дают с йодом окрашивание:

- амилодекстрины – фиолетовое,
- эритродекстрины – красно-бурое,
- ахродекстрины и мальтоза – цветная реакция отсутствует, желтый цвет соответствует цвету водного раствора Люголя.

*Проведение реакции*

Приготовление препарата слюны (выполняет дежурный для всей группы).

Собирают 1,0 мл слюны в мерную пробирку и доводят дистиллированной водой до метки 10,0 мл, хорошо перемешивают (не встряхивая!).

1. В 4 пробирки (1, 2, 3, 4) вносят по 10 капель крахмала. Флакон с раствором крахмала предварительно взболтать! В следующие

4 пробирки (5, 6, 7, 8) вносят по 10 капель разведенной слюны (раствор  $\alpha$ -амилазы). Пробирки делят по парам – 1–5, 2–6, 3–7, 4–8.

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

1-ю пару пробирок помещают в баню со льдом (0 °С). 2-ю пару оставляют при комнатной температуре (20 °С). 3-ю пару инкубируют при температуре 37 °С. 4-ю пару пробирок помещают в кипящую водяную баню (100 °С).

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

4. Проверяют ход реакции. Для этого из 3-й пробирки (37 °С) отбирают на предметное стекло 3 капли смеси и добавляют 1 каплю водного раствора Люголя:

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

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

### *Оформление работы*

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

<b>№ пробирки</b>	<b>Температура инкубации</b>	<b>Окраска</b>	<b>Относительная скорость реакции</b>
1	0 °С		
2	20 °С		
3	37 °С		
4	100 °С		

Лабораторная работа 2  
**ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ ДЕЙСТВИЯ  
ФЕРМЕНТОВ**

*Реактивы*

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

*Материал исследования*

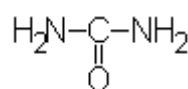
Приготовленный из семечек арбуза препарат уреазы.

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

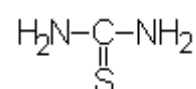
*Обнаружение абсолютной специфичности действия  
фермента уреазы*

*Принцип*

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

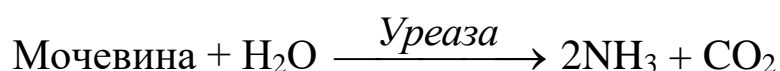


Мочевина



Тиомочевина

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



*Проведение реакции*

Приготовление препарата уреазы

Очистить 3–4 семечка арбуза, зерна растереть в ступке в 1,0 мл дистиллированной воды, затем довести объем до 10,0 мл. Полученную эмульсию фильтруют и используют как препарат фермента уреазы.

	<b>Опыт 1, капли</b>	<b>Опыт 2, капли</b>
1% раствор мочевины	10	—
1% раствор тиомочевины	—	10
Препарат уреазы	10	10
Раствор фенолфталеина	1–2	1–2

	Перемешивают. Выдерживают 3–5 мин. Наблюдают за появлением розовой окраски в одной из пробирок.
--	---

### Оформление работы

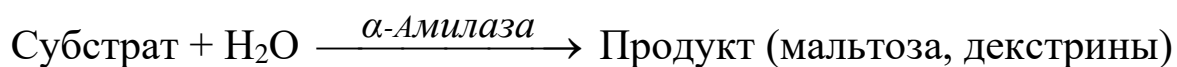
Отмечают принцип метода и ход работы. Результаты работы оформляют в виде таблицы. В выводах отмечают причину отсутствия окраски в одной из пробирок и специфичность фермента.

Пробирки	Субстрат реакции	Окраска	Наличие реакции
Опыт 1			
Опыт 2			

### Обнаружение специфичности действия амилазы слюны

#### Принцип

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



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

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

#### Проведение реакции

##### Приготовление раствора слюны

Собирают 1,0 мл слюны в мерную пробирку и доводят дистиллированной водой до метки 10,0 мл, хорошо перемешивают.

	Опыт 1, капли	Опыт 2, капли
1% раствор крахмала	—	10
1% раствор сахарозы	10	—
Раствор слюны	5	5

	Перемешивают. Инкубируют при температуре 37°С в течение 10 мин	
Реактив Феллинга I	3	3
Реактив Феллинга II	3	3
	Перемешивают. Выдерживают при температуре 100 °С до появления желтого или красно-оранжевого окрашивания в одной из пробирок.	

### *Оформление работы*

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

Пробирки	Субстрат реакции	Окраска	Наличие реакции
Опыт 1			
Опыт 2			

## **ТЕМА 3.2. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

### **ЦЕЛЬ**

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

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

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Способы регуляции скорости ферментативных реакций в клетке (*in vivo*):

- компартментализация;
- изменение количества фермента на примере влияния глюкокортикоидов на глюконеогенез;

- изменение доступности субстрата на примере оксалоацетата и цикла трикарбоновых кислот;
- проферменты и их ограниченный протеолиз на примере ферментов желудочно-кишечного тракта;
- белок-белковое взаимодействие на примере активации аденилатциклазы (присоединение регуляторных белков) и на примере протеинкиназы А (диссоциация белка на протомеры). Схемы процессов;
- аллостерические механизмы регуляции ферментов: а) схемы изменения активности фермента при воздействии эффектора, б) роль аллостерической регуляции метаболизма на примере фосфофруктокиназы;
- ковалентная химическая модификация ферментов на примере гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы. Схема механизма регуляции.

2. Характеристика ингибирования ферментов. Обратимое и необратимое ингибирование. Конкурентное и неконкурентное ингибирование. Примеры.

3. Применение ингибиторов ферментов в качестве лекарственных средств. Примеры.

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

5. Энзимопатии, первичные и вторичные формы. Примеры.

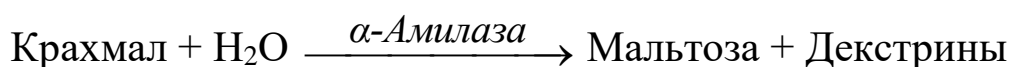
6. Определение активности амилазы в сыворотке крови. Принцип метода. Клинико-диагностическое значение и нормальные величины.

### Лабораторная работа

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

### *Принцип*

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



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

### Реактивы

1) субстрат – 0,04% раствор крахмала, 2) 0,01 М рабочий раствор йода.

### Материал исследования

Сыворотка крови.

### Проведение анализа

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

### Расчет

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

где  $E_{\text{контр}}$  – оптическая плотность контрольной пробы и  $E_{\text{опыт}}$  – оптическая плотность опытной пробы, 240 – коэффициент пересчета.

### Нормальные величины

Сыворотка крови 16–30 г/л·ч

### Клинико-диагностическое значение

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

### Сыворотка крови

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

Снижение активности амилазы в сыворотке крови в клинической практике выявляется редко, обычно диагностического значения не имеет.

### *Оформление работы*

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

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

1. Классификация аминокислот по биологической роли, по химическому строению, по физико-химическим свойствам, по растворимости в воде.
2. Строение протеиногенных аминокислот. Физико-химические свойства аминокислот. Понятие изоэлектрической точки.
3. Пептидная связь, реакция ее образования. Свойства пептидной связи.
4. Биологическая роль белков. Классификация белков по функции и строению. Физико-химические свойства белков и белковых растворов. Факторы, стабилизирующие белковую молекулу в растворе. Коллоидные свойства белков.
5. Влияние изменения рН на заряд аминокислот и белков. Факторы, вызывающие осаждение белков. Свойства денатурированного белка. Характерные особенности денатурации и ренативации.
6. Уровни структурной организации белковой молекулы. Типы связей, стабилизирующие структуру белковой молекулы. Аминокислоты, образующие эти связи.
7. Простые белки (альбумины, глобулины, гистоны), их предста-

вители, роль в организме.

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

9. Принцип цветных качественных реакций на аминокислоты и белки.

10. Методы осаждения белков в растворе. Механизмы реакций. Использование в биохимии и медицине.

11. Составление произвольных тетрапептидов с заданными свойствами, умение назвать их. Определение суммарного заряда и растворимости, указание рН (кислая, щелочная, нейтральная), в которой находится изоэлектрическая точка тетрапептидов.

12. Определение составных компонентов фосфопротеинов и гликопротеинов.

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

14. Характеристика жирорастворимых витаминов А, D, E, K, F: физиологическое название, химическая структура витаминов А, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, E, K, F, активных форм витаминов А и D. Биохимические функции и процессы, в которых принимает участие витамин. Возможные причины и клинические проявления гипер-, гипо- и авитаминозов. Что такое каротиноиды? Что такое эйкозаноиды? Схема начальных реакций синтеза эйкозаноидов на примере арахидоновой кислоты. Укажите их роль в организме.

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

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

17. Ферменты, их роль в осуществлении биохимических реакций.

Сравните ферменты и неорганические катализаторы.

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

19. Особенности строения изоферментов. Общая характеристика и примеры изоферментов. Использование в диагностике, примеры.

20. Классификация ферментов. Номенклатура ферментов. Что такое классификационный номер? Систематические названия. Примеры биохимических реакций (по 3 примера на каждый класс).

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

22. Единицы активности ферментов.

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

24. Способы регуляции скорости ферментативных реакций в клетке (*in vivo*): компартментализация, изменение концентрации фермента, доступность субстрата, аллостерические механизмы регуляции ферментов, ковалентная химическая модификация ферментов, проферменты и их ограниченный протеолиз, белок-белковое взаимодействие.

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

26. Использование ферментов в медицине. Энзимодиагностика. Использование ингибиторов ферментов в качестве лекарств. Примеры.

27. Отличие первичных и вторичных форм энзимопатий. Примеры.

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

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

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

## **РАЗДЕЛ 4**

# **БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ**

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

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

#### **ЦЕЛЬ**

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

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Пластическая (анаболизм) и энергетическая (катаболизм) функции метаболизма.
2. Стадии катаболических превращений питательных веществ в организме, связанные с высвобождением свободной энергии.
3. Химическая формула АТФ (аденозинтрифосфорная кислота), роль АТФ? Значение циклов АТФ – АДФ.
4. Основные макроэргические соединения клетки – АТФ, 1,3-дифосфоглицерат, фосфоенолпируват, креатинфосфат? Что такое субстратное фосфорилирование?
5. Источники ключевых продуктов метаболизма – ацетил-S-КоА и пировиноградной кислоты. Дальнейшая судьба веществ.

6. Строение мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса, его ферменты и коферменты. Суммарная реакция окислительного декарбоксилирования пирувиноградной кислоты. Химизм пяти отдельных реакций. Регуляция процесса.

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

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

9. Характеристика процесса окислительного фосфорилирования по плану:

- молекулярная организация и последовательность ферментных комплексов цепи переноса электронов, дайте им названия (рабочее и систематическое);
- перенос электронов по комплексам дыхательной цепи, роль коферментов (ФМН, FeS-белки, коэнзим Q, гемовые группы цитохромов);
- роль кислорода – конечного акцептора электронов восстановленных субстратов биологического окисления;
- выкачивание протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство, участки сопряжения окисления и фосфорилирования, формирование электрохимического градиента;
- строение АТФ-синтазы, роль электрохимического градиента в работе АТФ-синтазы.

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

11. Разобщение окисления и фосфорилирования, его механизм. Вещества, вызывающие разобщение.

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

13. Причины гипоэнергетических состояний.

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

## **РАЗДЕЛ 5**

# **ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ**

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

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Источником белков для человека являются пищевые продукты животного и растительного происхождения. Ухудшение переваривания белков и всасывания аминокислот может повлечь за собой недостаток синтеза белков в организме и нарушение деятельности органов и систем.

#### **ЦЕЛЬ**

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

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

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

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

пептидазы) и кишечного сока (аминопептидазы, дипептидазы) по плану:

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

8. Всасывание аминокислот в энтероцитах (транслоказа, симпорт с ионами натрия).

9. Возрастные особенности переваривания белков и всасывания аминокислот у детей.

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

11. Реакции превращения аминокислот под действием ферментов микрофлоры толстого кишечника:

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

12. Обезвреживание в печени токсичных продуктов гниения белков в толстом кишечнике: микросомальное окисление и реакции конъюгации. Какие ферменты участвуют в микросомальном окислении? Строение УДФ-глюкуроновой кислоты (УДФГК) и фосфоаденозинфосфосульфата (ФАФС). Примеры реакций, в том числе образование животного индикана.

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

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

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



дцатиперстной кишки и некоторых случаях язв желудка. При стрессе наблюдается vagus-опосредованное усиление секреции кислоты.

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

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

**Гипохлоргидрия** (пониженная кислотность) встречается при гипоацидном гастрите, иногда при язвенной болезни желудка. Как следствие, снижается всасывание железа, и активируются процессы гниения белков в кишечнике.

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

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

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

### *Оформление работы*

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

Образец желудочного сока	Изменение окраски индикатора		Величина рН
	Конго красный	Метилоранж	
№ 1			
№ 2			
№ 3			



### *Оформление работы*

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

Пробы		Окраска раствора	Наличие молочной кислоты
№ 1	Раствор фенолята железа		
№ 2	Раствор молочной кислоты		
№ 3	Нормальный желудочный сок		
№ 4	Желудочный сок с лактатом		

### Лабораторная работа 3

## **ОБНАРУЖЕНИЕ КРОВИ В ЖЕЛУДОЧНОМ СОКЕ С ПОМОЩЬЮ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПОЛОСОК «ГЕМОФАН»**

### *Принцип*

Зона индикации диагностических полосок «Гемофан» содержит стабилизированную органическую гидроперекись, кислотный буфер и хромоген. При наличии крови в исследуемой жидкости гемоглобин, обладающий ферментативной пероксидазной активностью, катализирует окисление хромогена гидроперекисью с образованием продуктов синего цвета. В присутствии свободного (растворенного) гемоглобина зона индикации окрашивается в синий цвет равномерно, при наличии эритроцитов на светлом фоне видны яркие синие точки.

### *Материал исследования*

Нормальный желудочный сок и желудочный сок с кровью.

### *Проведение анализа*

В каждый образец исследуемого желудочного сока погружают индикационную зону диагностической полоски, быстро вынимают и через 30 секунд сравнивают с цветной шкалой на этикетке. По шкале сравнения на упаковке тест-полосок определяют концентрацию гемоглобина и количество эритроцитов.

### *Нормальные величины*

Кровь

отсутствие

### *Клинико-диагностическое значение*

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

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

### *Оформление работы*

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

## **ТЕМА 5.2. ПУТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ В КЛЕТКЕ. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Белки выполняют ряд уникальных функций, свойственных живой материи, поддерживая в значительной мере динамичное состояние между организмом и внешней средой. Свыше 20 аминокислот, часть из которых являются незаменимыми, включаются в общие и специфические пути превращения, что объясняет разнообразие и разветвленность метаболизма аминокислот. Образовавшиеся продукты реакций, характерные для каждой аминокислоты, могут играть важную, а иногда и решающую роль в процессах обмена веществ и определять физиологическое состояние организма. Нарушения обмена некоторых аминокислот и белков лежат в основе развития ряда заболеваний. Известно более 100 болезней, обусловленных наследственными дефектами метаболизма аминокислот.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение главных путей превращения аминокислот и транс-

портных систем их проникновения через клеточные мембраны.

Изучение основных реакций внутриклеточного обмена аминокислот (дезаминирование, трансаминирование, декарбоксилирование).

Изучение основных путей превращения отдельных аминокислот: глицина, серина, цистеина, метионина, фенилаланина, тирозина и дикарбоновых аминокислот, их нарушения.

### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Строение протеиногенных аминокислот.
2. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны.
3. Источники и пути превращений аминокислот в тканях. В чем особенность метаболизма глюкогенных и кетогенных аминокислот?
4. Виды дезаминирования аминокислот (восстановительное, гидролитическое, внутримолекулярное, окислительное).
5. Окислительное дезаминирование. Отличие прямого и непрямого окислительного дезаминирования.
6. Механизм реакций трансаминирования. Роль витамина В<sub>6</sub>. Строение витамина В<sub>6</sub> и его коферментных форм, роль в катализе.
7. Значение реакций трансаминирования. Характеристика аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ). Реакции, катализируемые этими ферментами.
8. Реакция прямого окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты.
9. Непрямое окислительное дезаминирование – трансдезаминирование.
10. Особенности непрямого дезаминирования в мышечной ткани – цикл ИМФ–АМФ.
11. Судьба  $\alpha$ -кетокислот, образовавшихся в процессах дезаминирования, на примере пирувата, оксалоацетата,  $\alpha$ -кето-глутарата.
12. Реакции декарбоксилирования. Синтез биогенных аминов (на примере  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, гистамина, серотонина, дофамина). Роль этих биогенных аминов.
13. Способы обезвреживания биогенных аминов. Реакции дезаминирования с участием моноаминоксидазы (МАО) и реакции метилирования.
14. Анаболическая роль аминокислот на примере креатина. Стро-

ение креатина и креатинфосфата, реакции их синтеза, локализация процесса. Биологическая роль креатинфосфата.

15. Пути использования дикарбоновых аминокислот (глутаминовой и аспарагиновой) и их амидов в реакциях метаболизма. Связь обмена дикарбоновых аминокислот с циклом трикарбоновых кислот.

16. Синтез глюкозы из серина, аланина, глутаминовой и аспарагиновой кислот.

17. Пути использования цистеина и его серы. Характеристика заболевания «цистиноз», его причина, клинические проявления. Цистинурия и ее причины.

18. Использование глицина и серина в организме. Реакции взаимопревращения глицина и серина, роль тетрагидрофолиевой кислоты.

19. Взаимосвязь обмена глицина, серина, метионина и цистеина:

- реакция синтеза S-аденозилметионина из S-аденозилгомоцистеина, его роль в процессах трансметилирования при синтезе ряда веществ;
- реакция образования гомоцистеина и пути его дальнейших превращений;
- участие витамина B<sub>9</sub> (фолиевой кислоты), витаминов B<sub>6</sub> (пиридоксина) и B<sub>12</sub> (цианкобаламина).

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

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

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

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

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

25. Причины возникновения заболевания «квашиноркор». Характерные биохимические нарушения при белковой недостаточности?

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

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение основных путей обезвреживания аммиака с образованием конечных продуктов белкового обмена.

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

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Основные источники аммиака в тканях. Реакции дезаминирования аминокислот, амидов, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, реакции обезвреживания биогенных аминов.
2. Основные пути связывания аммиака в клетках:
  - реакция восстановительного аминирования (реаминирование), фермент и значение реакции;
  - реакции образования амидов глутаминовой и аспарагиновой кислот, отметьте их биологическое значение, опишите в каких органах проходят эти реакции;
  - реакция синтеза карбамоилфосфата.
3. Транспортные формы аммиака в крови (глутамин, аспарагин, аланин). Схема глюкозо-аланинового цикла.
4. Роль печени, почек и кишечника в связывании и выведении аммиака.
5. Реакции орнитинового цикла синтеза мочевины. Его локализация, ферменты, значение. Связь орнитинового цикла и ЦТК.
6. Представление о гипераммониемиях, их причинах и последствиях. Предельно допустимый уровни концентрации аммиака в крови. Причины токсичности аммиака.
7. Аммониегенез, химизм, локализация, значение.

8. Креатин и креатинфосфат, реакции синтеза. Биологическая роль креатинфосфата.

9. Креатинин, реакция образования, выведение.

10. Количественное определение мочевины в сыворотке крови и моче. Принцип метода, его клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

11. Количественное определение концентрации креатинина в сыворотке крови и моче. Принцип метода, его клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

### Лабораторная работа 1 **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МОЧЕВИНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

#### *Принцип*

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

#### *Реактивы*

1) стабилизированный раствор уреазы в фосфатном буфере (реагент 1), 2) салицилат-нитропруссидный реагент (реагент 2), 3) раствор гипохлорита и NaOH (реагент 3).

Стандартный раствор мочевины (5 ммоль/л).

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови. Моча (разведение 1:50).

#### *Проведение анализа*

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Стандарт, мл
Реагент 1	0,25	0,25	0,25
Сыворотка крови	0,01	—	—
Моча (разведение 1:50)	—	0,01	—
Стандартный раствор мочевины	—	—	0,01
	Перемешивают и инкубируют при 37°C 5 мин		
Реагент 2	1,0	1,0	1,0
Реагент 3	1,0	1,0	1,0

	Перемешивают и инкубируют при 37 °С 5 мин. Измеряют оптическую плотность опытных и стандартной пробы против воды при 640 нм (красный светофильтр).
--	--

### *Расчет*

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

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

где  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора, 50 – разведение мочи, Д – величина диуреза (1,3–1,5 л/сут).

### *Нормальные величины*

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

### *Клинико-диагностическое значение*

Уровень мочевины в сыворотке крови и моче зависит от скорости ее синтеза в печени и выделения через почки.

### Сыворотка крови

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

Снижение концентрации мочевины отмечается при диете с низким содержанием белка, при повышенной утилизации белка в тканях (дети, поздние сроки беременности), тяжелых заболеваниях печени, сопровождающихся нарушением синтеза мочевины (паренхиматозная желтуха, гепатиты, цирроз печени), а также наследственные заболевания, сопровождающиеся снижением активности ферментов орнитинового цикла.

## Моча

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

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

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

### *Оформление работы*

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

## Лабораторная работа 2

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

#### *Принцип*

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

#### *Реактивы*

1) рабочий раствор, содержащий пикриновую кислоту, ортофосфорную кислоту, NaOH и натрия лаурилсульфата; 2) тандартный раствор креатинина, 177 мкмоль/л (0,177 ммоль/л).

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови. Моча (разведение 1:50).

#### *Проведение анализа*

	<b>Опыт 1,</b> мл	<b>Опыт 2,</b> мл	<b>Стандарт,</b> мл
Рабочий раствор	2,0	2,0	2,0

Сыворотка крови	0,4	—	—
Моча (разведение 1:50)	—	0,4	—
Стандартный раствор креатинина	—	—	0,4
	Инкубируют 10 мин при температуре 37 °С. Измеряют оптическую плотность опытных и стандартной пробы против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).		

### Расчет

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

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

где  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора (для расчета содержания креатинина в сыворотке крови – 177 мкмоль/л, в моче – 0,177 ммоль/л), 50 – разведение мочи,  $D$  – величина диуреза (1,3–1,5 л/сут).

### Нормальные величины

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

### Клинико-диагностическое значение

#### Сыворотка крови

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

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

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

### Моча

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

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

### *Оформление работы*

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

## **РАЗДЕЛ 6**

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

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

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

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

#### **ЦЕЛЬ**

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

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

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте, ферменты. Дальнейшая судьба пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов и азотистых оснований.
2. Синтез пуриновых нуклеотидов:
  - реакции образования 5-фосфорибозиламина;
  - источники атомов азота и углерода пуринового кольца;
  - реакции синтеза АМФ и ГМФ из ИМФ;
  - реакции превращения АМФ в АТФ, ГМФ в ГТФ.
3. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов по механизму отрицательной обратной связи. Регуляция с участием АТФ и ГТФ.

4. Катаболизм пуриновых нуклеотидов:
  - реакции распада АМФ;
  - реакции распада ГМФ;
  - реакция образования мочевой кислоты из гипоксантина и ксантина, роль ксантиноксидазы.
5. Реакции реутилизации аденина, гуанина и гипоксантина.
6. Первичные и вторичные гиперурикемии:
  - синдром Леша–Нихана, причины, основы лечения, прогноз;
  - мочекаменная болезнь, причины, основы лечения;
  - подагра, причины, клинические проявления, основы лечения.
7. Синтез пиримидиновых нуклеотидов:
  - реакции синтеза УМФ и УТФ;
  - реакции синтеза ЦТФ из УТФ.
8. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов по механизму отрицательной обратной связи.
9. Синтез дезоксирибонуклеотидов. Роль тиоредоксина и НАДФН.
10. Синтез dТМФ. Роль тетрагидрофолиевой кислоты. Причина развития мегалобластической анемии при дефиците фолиевой кислоты.
11. Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов. Конечные продукты процесса.
12. Заболевания, связанные с пиримидиновым обменом. Оротацидурия, причина, клинические проявления, основы лечения.
13. Количественное определение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови и моче. Принцип метода, клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

#### Лабораторная работа

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

#### *Принцип*

Мочевая кислота расщепляется ферментом уриказой до аллантаина с одновременным образованием пероксида водорода. Последний при участии пероксидазы взаимодействует с дихлоргидроксибензолсульфонатом и 4-аминоантипирином с образованием окрашенных в розово-малиновый цвет продуктов.

Интенсивность окраски пропорциональна содержанию мочевой кислоты и определяется фотоколориметрически.

### Реактивы

1) рабочий раствор, содержащий фенол, уриказу, пероксидазу, дихлоргидроксibenзолсульфонат и 4-аминоантипирин в калиево-фосфатном буфере; 2) стандартный раствор мочевой кислоты, 0,5 ммоль/л.

### Материал исследования

Сыворотка крови. Моча (разведение 1:5).

### Проведение анализа

	Опыт 1, мл	Опыт 2, мл	Стандарт, мл
Сыворотка крови	0,05	—	—
Моча (разведение 1:5)	—	0,05	—
Стандартный раствор мочевой кислоты	—	—	0,05
Рабочий раствор	2,0	2,0	2,0
	Инкубируют 10 мин при температуре 37 °С. Измеряют оптическую плотность опытных и стандартной пробы против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).		

### Расчет

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

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

где  $E_{оп}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{ст}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{ст}$  – концентрация стандартного раствора, 5 – разведение мочи, Д – суточный диурез (1,3–1,5 л/сут).

### Нормальные величины

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

## *Клинико-диагностическое значение*

### Сыворотка крови

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

Для **первичной** гиперурикемии выделяют метаболический (наиболее частый) и почечный типы. *Метаболический* тип является следствием усиления синтеза пуриновых нуклеотидов, например, повышенная активность фосфорибозилдифосфатсинтетазы или недостаточная активность гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы. *Почечный* тип может быть при генетически обусловленном уменьшении экскреции мочевой кислоты почками.

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

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

### Моча

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

Уменьшают концентрацию мочевой кислоты злоупотребление алкоголем, отравление солями тяжелых металлов, заболевания почек. Так как при подагре мочевая кислота откладывается в тканях, суставных сумках, хрящах, сухожилиях, ее суточное количество в моче иногда может снижаться.

### *Оформление работы*

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

## **РАЗДЕЛ 7**

# **МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ**

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

#### ***АКТУАЛЬНОСТЬ***

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

#### ***ЦЕЛЬ***

Изучение основных этапов биосинтеза нуклеиновых кислот.

Приобретение практических навыков по определению состава нуклеопротеинов дрожжей.

#### ***ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ***

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

- суммарное уравнение,
  - локализация процесса,
  - компоненты РНК-синтезирующей системы,
  - основные этапы, последовательность реакций, субстраты и ферменты,
  - конечные продукты,
  - источники энергии для синтеза,
  - схема транскрипционной вилки, укажите положение промотора, ТАТА-бокса, терминатора и РНК-полимеразы.
6. Регуляция транскрипции у прокариот путем индукции синтеза (схема Жакоба–Моно) на примере лактозного оперона и путем репрессии синтеза на примере триптофанового оперона.
7. Основные способы регуляции транскрипции у эукариот.
8. Процессинг матричной РНК: сплайсинг, кэпирование, присоединение поли-А-последовательности.
9. Вторичная структура транспортной РНК, понятие о процессинге тРНК. Адапторная роль тРНК.
10. Понятие о процессинге рибосомальной РНК. Типы рРНК у эукариот. Функция рРНК.
11. Анализ химического состава сложных белков – нуклеопротеинов. Принцип метода.

Лабораторная работа  
**АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА  
 НУКЛЕОПРОТЕИНОВ**

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

*Реактивы*

1) 1% раствор тимола в этиловом спирте, 2) 10% раствор NaOH, 3) конц. NH<sub>4</sub>OH (аммиак), 4) 3,75% раствор молибденово-кислого аммония, 5) конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6) 1% раствор CuSO<sub>4</sub>, 7) 1% аммиачный раствор AgNO<sub>3</sub>.

*Материал исследования*

Гидролизат пекарских дрожжей.

## Проведение анализа

<b>Биуретовая реакция</b>	<p><i>Принцип</i> Белок с сульфатом меди в щелочной среде образует комплексное соединение с развитием розово-фиолетового или сине-фиолетового окрашивания.</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель 10% раствора NaOH и 1 каплю 1% раствора CuSO<sub>4</sub>.</p>
<b>Серебряная проба на пуриновые основания</b>	<p><i>Принцип</i> Пуриновые основания (аденин и гуанин) при взаимодействии с нитратом серебра образуют через 5–10 минут рыхлый светло-коричневый осадок серебряных солей.</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 10 каплям гидролизата добавляют 10 капель конц. раствора аммиака, 10 капель 1% аммиачного раствора нитрата серебра. При стоянии образуется осадок с характерной окраской.</p>
<b>Реакция Молиша на углеводные группы (β-D-рибоза)</b>	<p><i>Принцип</i> После дегидратации серной кислотой из пентоз образуется гидроксиметилфурфурол. При конденсации тимола с гидроксиметилфурфуролом развивается красное окрашивание.</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 10 каплям гидролизата добавляют 2 капли раствора тимола, перемешивают и осторожно по стенке добавляют конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Наблюдают появление розового кольца в пробирке.</p>
<b>Молибденовая проба на фосфорную кислоту</b>	<p><i>Принцип</i> Присутствующая в гидролизате дрожжей фосфорная кислота, взаимодействуя с молибденово-кислым аммонием в азотной кислоте, образует окрашенное в лимонно-желтый цвет комплексное соединение аммония фосфомолибдата.</p> <p><i>Проведение реакции</i> К 10 каплям гидролизата добавляют 20 капель 3,75% раствора молибденово-кислого аммония. Нагревают при 100 °С. После охлаждения пробирки в струе воды фосфомолибдат аммония выпадает в осадок лимонно-желтого цвета.</p>

## *Оформление работы*

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

<b>Объект исследования</b>	<b>Сложные белки</b>	<b>Выявляемый компонент</b>	<b>Окрашивание</b>	<b>Вывод о присутствии</b>
Дрожжи	Нуклео-протеины	Белок		
		Пуриновые основания		
		Пентозы		
		Фосфорная кислота		

## **ТЕМА 7.2. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение основных этапов биосинтеза белка и механизмов его регуляции.

Познакомиться с методом определения концентрации белка в сыворотке крови.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Строение протеиногенных аминокислот, нуклеиновых кислот ДНК и РНК. Как построены рибосомы, какова их роль в клетке?
2. Генетический код, его свойства.
3. Адапторная роль транспортной РНК. Синтез аминоксил-тРНК, специфичность аминоксил-тРНК-синтетазы.
4. Характеристика биосинтеза белка по плану:
  - суммарное уравнение,
  - локализация процесса,
  - компоненты белоксинтезирующей системы,
  - основные этапы, последовательность реакций и ферменты,

- конечные продукты,
- источники энергии для синтеза.

5. Посттрансляционная модификация белковых молекул. Примеры белков. Что такое фолдинг, в чем состоит роль шаперонов?

6. Количественное определение белка в сыворотке крови биуретовым методом. Принцип метода, клинико-диагностическое значение и нормальные показатели.

Лабораторная работа  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БЕЛКА  
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

*Биуретовый метод*

*Принцип*

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

*Материал исследования*

Сыворотка крови.

*Реактивы*

1) биуретовый реактив: смесь  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{NaOH}$ ; 2) стандартный раствор альбумина, 70 г/л.

*Проведение анализа*

	Опыт, мл	Стандарт, мл
Сыворотка крови	0,04	—
Стандартный раствор альбумина	—	0,04
Биуретовый реактив	3,0	3,0
	Выдерживают 15 мин. Измеряют оптическую плотность опытной и стандартной пробы против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).	

*Расчет*

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

где  $E_{оп}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{ст}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{ст}$  – концентрация стандартного раствора.

### *Нормальные величины*

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

### *Клинико-диагностическое значение*

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

### Гиперпротеинемия

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

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

### Гипопротеинемия

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

**Абсолютная** (истинная) гипопротеинемия связана:

- с недостаточным потреблением белка с пищей – заболевания желудочно-кишечного тракта, сужение пищевода при опухолях, полное или частичное голодание;
- со снижением синтеза белка – несбалансированный аминокислотный состав пищи, хронические паренхиматозные гепатиты, интоксикации, злокачественные новообразования, лечение кортикостероидами;
- с усиленным распадом белков – кахексия, тяжелые инфекции, длительные воспалительные процессы, лихора-

- дочные состояния, тиреотоксикозы;
- с потерей белка – нарушения проницаемости капиллярных стенок, кровоизлияния, ожоги, острые и хронические кровотечения, нефротический синдром.

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

### *Оформление работы*

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

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

1. Отрицательный и положительный азотистый баланс в организме. Понятие азотистого равновесия. Биологическая ценность белков. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Нормы потребления белка у детей и взрослых и пищевые источники белка. Что такое эталонный белок? Симптомы белковой недостаточности.
2. переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Реакции образования соляной кислоты, роль HCl. Регуляция секреции соляной кислоты. Ферменты ЖКТ, экзо- и эндопептидазы, их локализация, механизм активации ферментов, оптимум pH, специфичность. Механизм всасывания аминокислот.
3. Особенности переваривания белков и всасывания аминокислот у детей.
4. Процесс гниения белков в толстом кишечнике. Его причины и последствия. Вещества, образующиеся в этом процессе. Системы обезвреживания токсичных продуктов в печени: микросомальное окисление, реакции конъюгации, укажите строение и роль ФАФС и УДФГК. Реакции образования животного индикана.
5. Качественные реакции на соляную кислоту в желудочном соке.
6. Обнаружение молочной кислоты в желудочном соке. Принцип метода, ход определения, нормальные показатели и клинко-

диагностическое значение.

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

8. Источники и пути превращений аминокислот в тканях. По какому признаку аминокислоты делятся на глюкогенные и кетогенные?

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

10. Характеристика реакций трансаминирования – механизм реакций, ферменты, коферменты, локализация процесса. Значение реакций трансаминирования.

11. Характеристика аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), катализируемые реакции.

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

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

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

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

16. Аммонийогенез, реакции, их локализация, значение.

17. Синтез креатина и креатинфосфата, реакции. Биологическая

роль креатинфосфата.

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

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

20. Пути использования цистеина и его серы (схема). Причины и последствия нарушений при цистинозе и цистинурии.

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

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

23. Реакции синтеза веществ с участием ТГФК (dТМФ, серин, метионин).

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

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

26. Тирозинемии I, II и III типов, алкаптонурия, паркинсонизм, альбинизм: биохимические механизмы развития заболеваний.

27. «Квашиоркор»: причины возникновения заболевания. Биохимические нарушения при белковой недостаточности.

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

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

30. Реакции катаболизма пуриновых нуклеотидов до мочевой кислоты. Реутилизация аденина, гуанина и гипоксантина.

31. Нарушения катаболизма пуринов:

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

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

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

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

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

36. Репликация ДНК эукариот. Суммарное уравнение, ферменты ДНК-синтезирующей системы, основные этапы и особенности репликации ДНК. Репарация ДНК.

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

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

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

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

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

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

## **РАЗДЕЛ 8**

# **СТРОЕНИЕ И ОБМЕН УГЛЕВОДОВ**

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

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

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

#### *ЦЕЛЬ*

Изучение переваривания углеводов в желудочно-кишечном тракте.

Изучение обмена гликогена – энергетического резерва организма.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Биологическая роль углеводов. Суточная потребность в углеводах у взрослых и детей.
2. Классификация углеводов в зависимости от количества мономеров в молекуле (моно-, ди-, олиго- и полисахариды), в зависимости от числа углеродных атомов (триозы, тетрозы, пентозы, гексозы) и по положению карбонильной группы (альдозы и кетозы).
3. Структура и функции представителей углеводов:
  - моносахаридов (глюкоза, фруктоза, галактоза, рибоза, дезоксирибоза, глицеральдегид, диоксиацетон),
  - дисахаридов (мальтоза, лактоза, сахароза, целлобиоза),
  - полисахаридов (крахмал, гликоген, целлюлоза).
4. Производные моносахаридов. Что такое сиаловые кислоты?

Химическая формула N-ацетилнейраминовой кислоты и хондроитин-4-сульфата и хондроитин-6-сульфата.

5. Сложные углеводы – гликозаминогликаны. Строение гиалуроновой кислоты и хондоитинсульфатов, их биологическая роль. Строение и роль гликопротеинов и протеогликанов.

6. Переваривание углеводов в ротовой полости и тонком кишечнике. Характеристика ферментов переваривания:  $\alpha$ -амилаза слюны, ферменты панкреатического сока ( $\alpha$ -амилаза, олиго-1,6-глюкозидаза), ферментные комплексы тонкого кишечника, отвечающие за гидролиз дисахаридов (сахаразо-изомальтазный, гликоамилазный,  $\beta$ -глюкозидазный, трегалаза).

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

8. Транспорт моносахаридов через клеточные мембраны.

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

10. Пути метаболизма фруктозы. Каково значение фруктозы в обмене веществ? Превращение фруктозы в глюкозу. Эссенциальная фруктоземия, фруктозурия.

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

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

13. Регуляция ферментов обмена гликогена – гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы:

- гормональная – влияние адреналина и глюкагона (аденилатциклазный механизм, роль цАМФ и протеинкиназы А); роль инсулина и участие фосфодиэстеразы в снижении концентрации цАМФ в клетке.
- аллостерическая регуляция активности гликогенфосфорилазы при участии АМФ;
- кальций-зависимая активация киназы фосфорилазы гликогена.

14. Генетические нарушения распада гликогена: печеночные и мышечные гликогенозы. Что такое агликогеноз?

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

16. Экспресс-определение содержания глюкозы в капиллярной крови с помощью глюкометра. Принцип метода. Нормальные показатели. Клинико-диагностическое значение.

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

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

### Лабораторная работа 1

## **ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В КАПИЛЛЯРНОЙ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ГЛЮКОМЕТРА**

### *Принцип*

Принцип действия глюкометра основан на фотометрическом определении изменения коэффициента отражения аналитической зоны тест-полоски. Кодовая пластинка, входящая в комплект упаковки тест-полосок, содержит необходимую информацию о данном лоте диагностических полосок. При нанесении капли капиллярной крови на тестовое поле тест-полоски, изменяется коэффициент отражения на аналитической зоне. С помощью встроенной оптико-электронной системы осуществляется измерение изменения коэффициента отражения, которое пропорционально содержанию глюкозы в капиллярной крови пациента.

### *Материал исследования*

Капиллярная кровь.

### *Оборудование*

Глюкометр ACCU-CHEK Active.

### *Проведение анализа*

#### *1. Подготовительный этап*

а) извлечь из контейнера (тубуса) тест-полоску. Далее контейнер плотно закрыть фабричной крышкой с осушителем. Тест-полоску следует держать за свободный край пластиковой подложки;

б) сравнить цвет круглого контрольного «окошка», располо-

женного на обратной стороне тест-полоски, с цветовой шкалой, напечатанной на контейнере (тубусе). Цвет контрольного «окошка» должен совпадать с цветом, которым обозначен интервал на верхней части этикетки 0 ммоль/л или 0 мг/дл. *Если цвет контрольного «окошка» отличается от цвета, которым обозначен интервал на верхней части этикетки 0 ммоль/л или 0 мг/дл, то тест-полоски использовать нельзя!*

в) взять тест-полоску таким образом, чтобы тестовое поле было направленно вверх, а стрелки «от себя» – «→». Аккуратно вставить тест-полоску в направлении, указанном стрелками в направляющую глюкометра до легкого щелчка. *Не сгибать тест-полоску!*

г) включить глюкометр. После завершения глюкометром самостоятельного тестирования дисплея, на экране будет отображен номер кода. *Необходимо убедиться в том, что номер кода совпадает с номером кода на этикетке контейнера (тубуса) с тест-полосками!*

д) после номера кода на дисплее глюкометра появится изображение тест-полоски и мигающее изображение капли крови, раздастся звуковой сигнал. Глюкометр готов к измерению содержания глюкозы в капиллярной крови. *Для нанесения капли капиллярной крови на тест-полоску отводится около 90 секунд, далее глюкометр отключится!*

## *2. Получение капли капиллярной крови*

Тщательно промыть и протереть насухо палец, из которого планируете взять кровь. С помощью скарификатора или автоматического ланцета проколоть боковую поверхность кончика пальца. Формированию капли крови можно помочь поглаживанием пальца с легким нажатием в направлении концевой фаланги пальца.

## *3. Количественное определение содержания глюкозы*

а) нанести полученную каплю капиллярной крови в середину зеленого поля тест-полоски. Раздастся звуковой сигнал глюкометра. Мигающее изображение песочных часов означает, что идет измерение;

б) по истечении 5 сек измерения на дисплей глюкометра выводится результат измерения и раздастся звуковой сигнал глюкометра.

## Нормальные величины

Капиллярная кровь (натощак) 3,3–5,5 ммоль/л

## Клинико-диагностическое значение

### Капиллярная кровь

Увеличение содержания глюкозы в крови наблюдается как при физиологических, так и при патологических состояниях. Измерение содержания глюкозы в капиллярной крови показано пациентам, страдающим сахарным диабетом 1 и 2 типа.

### Физиологические гипергликемии

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

### Патологические гипергликемии

Патологические гипергликемии, как правило, обусловлены нейроэндокринными расстройствами:

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

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

### Физиологические гипогликемии

К физиологической гипогликемии относят избыточную секрецию в кровь инсулина в ответ на алиментарную гипергликемию; гипогликемию после тяжелой и длительной мышечной

работы, при полном или частичном голодании. Гипогликемия может возникать у женщин в период лактации в результате усиленного поглощения глюкозы молочной железой. У новорожденных часто наблюдается гипогликемия, обусловленная резким прекращением поступления «материнской» глюкозы, незрелостью структуры печени и повышенной чувствительностью клеток к инсулину.

### Патологические гипогликемии

Наблюдаются при гиперинсулинизме при гиперплазии  $\beta$ -клеток островков Лангерганса (инсулинома, аденома и рак поджелудочной железы). Самая распространенная причина гипогликемий – передозировка инсулина. Кроме того, гипогликемию вызывает недостаток гормона кортизола при гипофункции коры надпочечников (Аддисонова болезнь, опухоли надпочечников), гипофункции передней доли гипофиза (болезнь Симмондса), гипофункции щитовидной железы. Гипогликемия может возникать при токсических поражениях печени, гликогенозах, при заболеваниях почек вследствие глюкозурии.

### *Оформление работы*

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

## Лабораторная работа 2

### **ГЛЮКОЗООКСИДАЗНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

#### *Принцип*

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

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

### Реактивы

- 1) рабочий раствор, содержащий хлорфенол, глюкозооксидазу, пероксидазу, 4-аминоантипирин в калиево-фосфатном буфере;
- 2) стандартный раствор глюкозы, 5,5 ммоль/л.

### Проведение анализа

	Опыт 1, мл	Стандарт, мл
Сыворотка крови	0,02	—
Стандартный раствор глюкозы	—	0,02
Рабочий раствор	2,0	2,0
	Инкубируют в течение 15 мин при 37 °С. Измеряют оптическую плотность опытных и стандартной пробы против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).	

### Расчет

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

где  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора.

### Нормальные величины

Сыворотка крови (натощак)      взрослые      3,5–5,5 ммоль/л

### Клинико-диагностическое значение

#### Сыворотка крови

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

### Оформление работы

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

Лабораторная работа 3  
**ОБНАРУЖЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ  
ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПОЛОСОК «ГЛЮКОФАН»**

*Принцип*

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

*Нормальные величины*

Моча

Глюкоза      тест-полоски «Глюкофан»      проба отрицательна

*Клинико-диагностическое значение*

Уровень глюкозы в моче возрастает при всех случаях гипергликемии свыше 10 ммоль/л (почечного порога). Глюкозурии могут быть физиологическими и патологическими. К физиологическим относятся алиментарная глюкозурия, глюкозурия беременных и нейрогенная глюкозурия стрессовых состояний.

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

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

*Оформление работы*

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

Исследуемый материал	Окраска тест-полоски	Результат
Нормальная моча		
Моча с глюкозой		

## **ТЕМА 8.2. ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

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

### **ЦЕЛЬ**

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

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Источники и пути превращения глюкозы в клетке. Роль глюкозо-6-фосфата в метаболизме глюкозы.
2. Характеристика процесса гликолиза по плану:
  - локализация и условия протекания процесса,
  - последовательность реакций и ферменты,
  - конечные продукты,
  - участие адениловых нуклеотидов и энергетический эффект,
  - реакции, сопряженные с потреблением АТФ,
  - реакции субстратного фосфорилирования, значение,
  - гликолитическая оксидоредукция НАД<sup>+</sup> и НАДН, значение.
3. Характеристика процесса глюконеогенеза по плану:
  - локализация и условия протекания реакций,
  - субстраты (молочная кислота, глицерол, аминокислоты). Откуда поступают эти вещества?

- последовательность реакций и ферменты,
  - реакции, сопряженные с потреблением ГТФ и АТФ,
  - необратимые реакции,
  - значение при голодании и физической работе,
  - расход энергии для синтеза одной молекулы глюкозы.
4. Синтез глюкозы из аланина, аспартата и глутамата. При каких условиях и где протекают реакции? В чем их значение?
  5. Гормональная регуляция гликолиза и глюконеогенеза. Роль инсулина, адреналина, кортизола, глюкагона. Ферменты, регулируемые этими гормонами.
  6. Аллостерическая регуляция гликолиза и глюконеогенеза, роль АТФ, АДФ, АМФ, цитрата, жирных кислот, глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата, фруктозо-1,6-дифосфата, ацетил~S-КоА. Регулируемые ферменты.
  7. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори), его значение при физической работе. Источники молочной кислоты в организме.
  8. Глюкозо-аланиновый цикл, его значение при физической работе и голодании.
  9. Энергетический эффект окисления глюкозы в анаэробных условиях. Сравнение энергетического эффекта анаэробного окисления глюкозы и распада гликогена до лактата.
  10. Метаболизм этилового спирта в печени при участии алкогольдегидрогеназы и ацетальдегиддегидрогеназы, последовательность реакций, конечные продукты.
  11. Влияние этилового алкоголя на обмен углеводов в организме человека.

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

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

расходует около 120 г глюкозы в сутки.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение реакций аэробного распада глюкозы до углекислого газа и воды.

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

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Источники глюкозы крови. Нормальная концентрация глюкозы в крови. Возможные причины гипо- и гипергликемий.
2. Специфические и общие пути катаболизма глюкозы. Суммарное уравнение аэробного распада глюкозы.
3. Этапы аэробного распада глюкозы: 1 – окисление глюкозы до пирувата; 2 – окислительное декарбоксилирование пирувата; 3 – цикл трикарбоновых кислот, 4 – цепь переноса электронов и образование эндогенной воды.
4. Суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты и его отдельные реакции. Компоненты мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса, ферменты и коферменты. Регуляция процесса. Какие витамины принимают участие в работе пируватдегидрогеназного комплекса? Их характеристика.
5. Цикл трикарбоновых кислот, ферменты и коферменты, биологическая роль цикла. Регуляция процесса.
6. Глицеролфосфатная и малат-аспартатная челночные системы. Каково их значение?
7. Преимущества аэробного окисления глюкозы.
8. Образование АТФ при аэробном и анаэробном распадах глюкозы. Роль анаэробного и аэробного распадов глюкозы при мышечной работе. Как проявляется зависимость метаболизма нервной ткани от аэробного распада глюкозы?
9. Тест толерантности к глюкозе. Диагностическое значение параметров гликемической кривой – крутизна подъема, величина подъема, время возвращения к исходным значениям. При каких заболеваниях изменяется вид гликемической кривой?

## Лабораторная работа **ТЕСТ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ**

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

### *Принцип*

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

Концентрация глюкозы в крови определяется глюкозооксидазным методом (тема 8.1).

### *Проведение теста толерантности к глюкозе*

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

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

На **практическом занятии** метод сахарной нагрузки проводится с модельными образцами сыворотки крови, взятыми до глюкозной нагрузки, через 30, 60 и 120 мин после нагрузки. Во всех взятых пробах определяют концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом (тема 8.1).

### *Материал исследования*

Модельные образцы сыворотки крови, содержащие разные концентрации глюкозы.

### *Реактивы*

1) рабочий раствор, содержащий хлорфенол, глюкозооксидазу, пероксидазу, 4-аминоантипирин в калиево-фосфатном буфере, 2) стандартный раствор глюкозы, 5,5 ммоль/л.

## Определение концентрации глюкозы

	Опытные пробы, мл				Стандартная проба, мл
	до нагрузки	время после нагрузки			
		30 мин	60 мин	120 мин	
	1	2	3	4	5
Рабочий раствор	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Сыворотка крови	0,02	0,02	0,02	0,02	—
Стандартный раствор глюкозы	—	—	—	—	0,02
	Содержимое пробирок перемешивают, инкубируют при 37 °С в течение 15 мин. Измеряют оптическую плотность опытных и стандартной пробы при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).				

### Расчет

В каждом образце крови рассчитывают концентрацию глюкозы по формуле:

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

где  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора.

### Нормальные величины

До нагрузки (натощак)	3,5–5,5 ммоль/л	100%
Через 60 мин	5,3–9,6 ммоль/л	150–175%
Через 120 мин	ниже 5,3 ммоль/л	около 100%

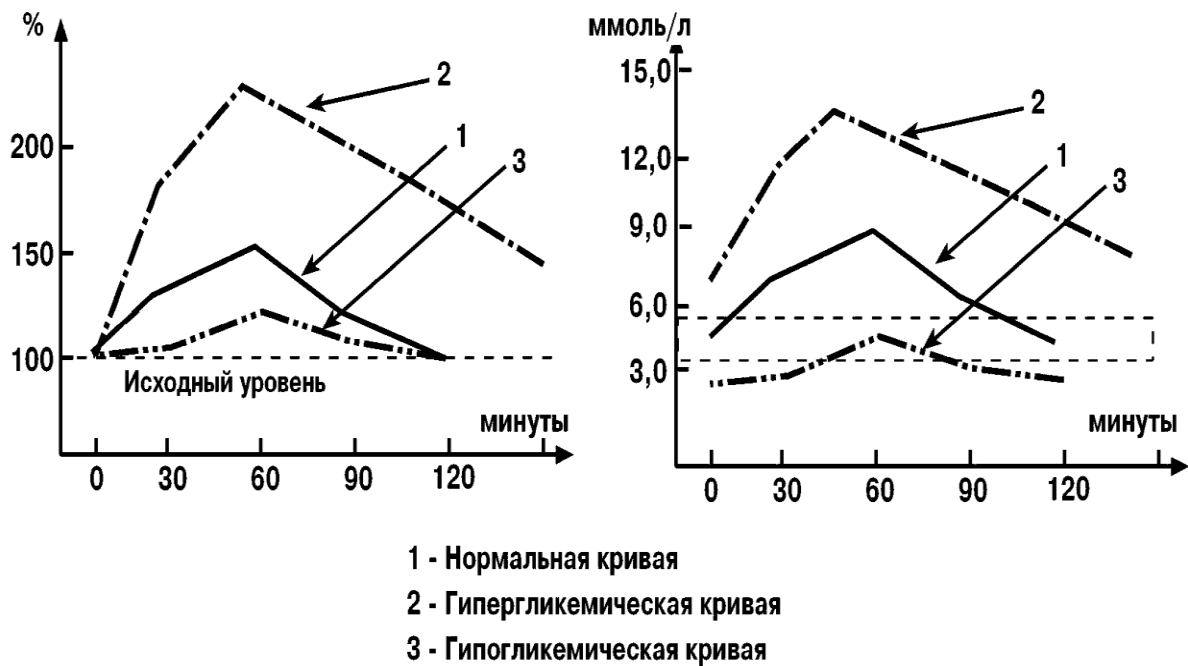
### Оценка гликемической кривой

Выделяют следующие типы гликемических кривых:

Тип кривой	Исходное содержание глюкозы	Максимальный подъем	Гипогликемическая фаза	Содержание глюкозы к концу 2 ч
Нормальная	Норма	Через 1 ч	Через 2 ч или отсутствует	Исходный уровень

Гипергликемическая	Гипергликемия	Через 1,0–1,5 ч	Нет	Исходного уровня не достигает
Гипогликемическая	Гипогликемия	1 ч	Нет	Исходный уровень

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



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

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

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

3. Через 90–120 мин содержание глюкозы в крови возвраща-

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

У здорового человека нагрузка глюкозой не вызывает глюкозурию.

#### *Клинико-диагностическое значение*

Гипергликемические кривые отмечаются при повреждениях паренхимы печени, заболеваниях центральной нервной системы, скрытых формах сахарного диабета, гиперфункции щитовидной железы и коры надпочечников, инфекционных заболеваниях (ревматизм, дифтерия, тиф, дизентерия, сепсис, бронхопневмония), панкреатите.

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

#### *Оформление работы*

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

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

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

## **ТЕМА 8.4. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение реакций пентозофосфатного пути. Изучение нервной и гормональной регуляции обмена углеводов. Изучение нарушений обмена углеводов.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Характеристика пентозофосфатного пути окисления глюкозы по плану:

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

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

3. Наследственная энзимопатия глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

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

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

6. Характеристика сахарного диабета 1 и 2 типов. Какие пути обмена углеводов нарушены? Биохимия осложнений сахарного диабета.

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

1. Роль углеводов в организме. Классификация углеводов по структуре и функциям. Строение основных представителей углеводов: моносахаридов (триозы, пентозы, гексозы), ди- и полисахаридов. Роль и структурные формулы гликозаминогликанов: гиалуроновая кислота, хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат.
2. Где и какими ферментами происходит переваривание углеводов, поступающих с продуктами питания? Механизм всасывания глюкозы. Роль целлюлозы в пищеварении. Причины интолерантности к сахарозе и лактозе.
3. Экспресс-определение содержания глюкозы в капиллярной крови с помощью глюкометра.
4. Обнаружение глюкозы в моче. Принцип метода. Клинико-диагностическое значение.
5. Роль печени в обмене углеводов при голодании и мышечной нагрузке. Особенность функционирования ферментов глюкокиназы и глюкозо-6-фосфатазы. Реакции взаимопревращения гексоз: метаболизм галактозы и фруктозы в организме и его нарушения.
6. Реакции биосинтеза гликогена и гликогенолиза, физиологическое значение процессов. Энергетический эффект использования гликогена в аэробных и анаэробных условиях. Регуляция активности фосфорилазы и синтазы гликогена (роль цАМФ, ионов кальция и кальмодулина). Особенности обмена гликогена в печени и в мышцах. Характеристика гликогенозов и агликогенозов, дефектные ферменты и последствия.
7. Источники и пути превращения глюкозы в тканях (схема). Характеристика окисления глюкозы в анаэробных условиях: последовательность реакций гликолиза, балансовое уравнение, энергетический эффект, регуляция, способ образования АТФ, локализация процесса. Дальнейшая судьба молочной кислоты. Укажите роль анаэробного распада глюкозы в эритроцитах и в мышечной ткани.
8. Метаболизм этанола в организме человека.
9. Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови глюкозооксидазным методом. Принцип метода, ход определения, кли-

нико-диагностическое значение, нормальные показатели.

10. Реакции окисления глюкозы в аэробных условиях: последовательность реакций, энергетический эффект. Реакции функционирования глицеролфосфатной и малат-аспартатной челночных систем, отметьте источник НАДН. Роль аэробного распада глюкозы в мозге.

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

12. Последовательность реакций глюконеогенеза, укажите возможные предшественники, его значение. Регуляция глюконеогенеза. Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори) и глюкозо-аланиновый цикл (схемы), их роль. Реакции синтеза глюкозы из аминокислот на примере аланина и аспартата.

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

14. Что такое аллостерическая регуляция ферментов? На какие ферменты влияют промежуточные метаболиты обмена углеводов и НАДН?

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

16. Типы сахарного диабета. В чем заключается нарушение обмена углеводов при сахарном диабете 1 и 2 типов?

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

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

19. НАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена углеводов. Структурные формулы окисленной и восста-

новленной форм НАД. Характеристика витамина, входящего в состав НАД<sup>+</sup>: биологическое название, признаки недостаточности.

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

21. Последовательность реакций окислительного декарбоксилирования пирувата, связь с дыхательной цепью. Регуляция процесса. Участие витаминов в процессе и их характеристика: биологическое название, признаки недостаточности.

22. Последовательность реакций цикла трикарбоновых кислот, связь с дыхательной цепью. Регуляция реакций. Участие витаминов в процессе и их характеристика.

23. Принцип окислительного фосфорилирования. Схема структурной организации дыхательной цепи. Сопряжение окисления с фосфорилированием. Строение Н<sup>+</sup>-АТФ-синтазы. Коэффициент Р/О для НАДН и ФАДН<sub>2</sub>. Механизм дыхательного контроля.

24. Разобщение дыхания и фосфорилирования. От чего зависит теплообразующая функция бурой жировой ткани? Разобщители дыхательной цепи. Причины гипознергетических состояний. Коэффициент Р/О и количество образующихся молекул АТФ при полном окислении глюкозы.

# РАЗДЕЛ 9

## СТРОЕНИЕ И ОБМЕН ЛИПИДОВ

### ТЕМА 9.1. СТРОЕНИЕ И ВНЕШНИЙ ОБМЕН ЛИПИДОВ

#### АКТУАЛЬНОСТЬ

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

#### ЦЕЛЬ

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

Приобретение практических навыков по определению состава фосфолипидов.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

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

- химическая структура,
- биологическая роль.

2. Характеристика жирных кислот по схеме:

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

3. Жирные кислоты  $\omega$ -6-ряда (линолевая,  $\gamma$ -линоленовая, арахидоновая кислоты) и  $\omega$ -3-ряда ( $\alpha$ -линоленовая, эйкозопентаеновая, докозгексаеновая кислоты). Их длина и положение двойных свя-

зей. Биологическая роль полиненасыщенных жирных кислот.

4. Характеристика производных эйкозотриеновой ( $\omega$ -6), арахидоновой ( $\omega$ -6) и эйкозопентаеновой ( $\omega$ -3) кислот – эйкозаноиды (простагландины, лейкотриены, тромбоксаны). Биологическая роль отдельных типов эйкозаноидов. Схема начальных реакций синтеза на примере арахидоновой кислоты. Роль ферментов – фосфолипаза  $A_2$ , циклооксигеназа, липоксигеназа. Какие вещества влияют на синтез эйкозаноидов?

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

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

7. Характеристика сложных липидов:

- глицерофосфолипиды (фосфатидилсерин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол), их химическая формула, биологические функции,
- сфингофосфолипиды (сфингомиелины), представление об их строении, биологические функции,
- гликолипиды (цереброзиды, сульфолпиды и ганглиозиды), представление об их строении, биологические функции.

8. Внешний обмен липидов: эмульгирование, переваривание, всасывание продуктов гидролиза.

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

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

11. Состав смешанной мицеллы. Схема строения мицеллы, образуемой после окончания переваривания липидов. Какова ее роль во всасывании липидов?

12. Возможные причины нарушения переваривания и всасывания липидов пищи. Причины гиповитаминозов и стеатореи при нарушении переваривания липидов.

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

14. Транспорт экзогенных липидов. Состав хиломикрона, его функции. Роль апобелков.

15. Биохимические основы развития нарушений липидного обмена: стеаторея, желчно-каменная болезнь.

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

### Лабораторная работа

## **ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФОСФАТИДИЛХОЛИНА**

### *Принцип*

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

### *Материал исследования*

Сухой желток куриного яйца.

### *Реактивы*

1) 10% раствор NaOH, 2) 10% раствор HCl, 3) конц. HNO<sub>3</sub>, 4) 3,75% раствор молибденово-кислого аммония, 5) 1% раствор CuSO<sub>4</sub>.

### *Проведение анализа*

#### 1. Гидролиз фосфатидилхолина

Кусочек яичного желтка помещают в пробирку, добавляют 3,0-4,0 мл 10% раствора NaOH, нагревают при 100 °С 15 мин.

<b>Открытие холина</b>	Холин при нагревании в щелочной среде превращается в триметиламин N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , который обнаруживается в конце гидролиза по запаху селедочного рассола.
------------------------	--

#### 2. Гидролизат делят на 3 пробирки

<b>Открытие жирных кислот</b>	К гидролизату 1-й пробирки прибавляют по каплям 10% раствор HCl до появления хлопьевидной взвеси жирных кислот.
<b>Открытие фосфорной</b>	Ко 2-й части гидролизата осторожно добавляют 5–7 капель концентрированной HNO <sub>3</sub> и по каплям 3,75%

<b>кислоты</b>	раствор молибденово-кислого аммония до появления желтого осадка фосфомолибдата аммония. При необходимости нагревают при 100 °С. После охлаждения пробирки в струе воды фосфомолибдат аммония выпадает в осадок.
<b>Обнаружение глицерола</b>	К 3-й части гидролизата добавляют 5 капель 10% раствора NaOH и 1 каплю 1% раствора CuSO <sub>4</sub> , перемешивают. Образуется хелатное соединение меди с глицеролом ярко-синего цвета.

### *Оформление работы*

Записывают результат реакций и выводы в виде таблицы:

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

## **ТЕМА 9.2. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

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

### **ЦЕЛЬ**

Изучение метаболизма триацилглицеролов и его регуляции.  
Транспортные формы триацилглицеролов.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

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

2. Характеристика липопротеинов очень низкой плотности: их состав, апобелки, функция.
3. Сходство и отличие биосинтеза триацилглицеролов в жировой ткани и печени.
4. Характеристика реакций липолиза по плану:
  - локализация и условия протекания процесса,
  - последовательность реакций и ферменты,
  - конечные продукты,
  - гормональная регуляция процесса,
  - транспорт и использование свободных жирных кислот, образующихся при липолизе.
5. Гормоночувствительная ТАГ-липаза, роль аденилатциклазной системы в регуляции ее активности. Регуляция ТАГ-липазы гормонами адреналином, глюкагоном, кортизолом и инсулином. Аллостерическая регуляция активности ферментов липолиза и липогенеза.
6. Реакции окисления глицерола до пирувата. Возможные пути метаболизма пирувата. Энергетический выход окисления глицерола в аэробных и анаэробных условиях.
7. Реакции окисления жирных кислот до углекислого газа и воды:
  - роль карнитина в окислении жирных кислот,
  - локализация и условия протекания  $\beta$ -окисления,
  - последовательность реакций  $\beta$ -окисления, ферменты,
  - участие витаминов и коферментов,
  - конечные продукты,
  - связь с ЦТК и дыхательной цепью (реакции ЦТК, окислительное фосфорилирование),
  - расчет энергетической ценности  $\beta$ -окисления пальмитиновой кислоты.
8. Характеристика синтеза жирных кислот из глюкозы по плану:
  - локализация и условия протекания процесса,
  - реакции образования ацетил~S-CoA из глюкозы,
  - роль цитрата в переносе ацетильной группы в цитозоль, его дальнейшие превращения,
  - реакция синтеза малонил~S-CoA,
  - состав мультиферментного комплекса: синтазы жирных кислот, химизм реакций,
  - конечный продукт синтеза,
  - участие витаминов и коферментов, источники НАДФН,

- регуляция процесса при участии гормонов инсулина, адреналина, глюкагона,
  - влияние АТФ, ацил~S-КоА, малонил~S-КоА, цитрата на реакции синтеза жирных кислот.
9. Реакции синтеза глицерол-3-фосфата из глюкозы. Локализация и роль процесса.
10. Реакции синтеза фосфатидной кислоты из жирных кислот и глицерол-3-фосфата по плану:
- локализация в клетке,
  - источники глицерол-3-фосфата, жирных кислот и энергии,
  - последовательность реакций,
  - связь с обменом углеводов,
  - дальнейшие пути использования фосфатидной кислоты.
11. Особенности обмена триацилглицеролов при некоторых состояниях (потребление пищи, голодание, мышечная активность). В чем особенность бурой жировой ткани?
12. Биохимия ожирения.
13. Реакции синтеза кетонных тел. Условия, локализация и роль процесса. Реакции окисления кетонных тел в тканях. Причины кетоацидоза при голодании и сахарном диабете. Роль дефицита оксалоацетата для активации кетогенеза.

### **ТЕМА 9.3. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ФОСФОЛИПИДОВ (СЕМИНАР)**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Фосфолипиды входят в состав клеточных мембран, участвуют в образовании липопротеинов, передаче гормонального сигнала в клетке. При нарушении синтеза фосфолипидов будет изменяться метаболизм клеток и образование транспортных липопротеинов.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение обмена, транспорта и функций фосфолипидов.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Строение фосфолипидов: фосфатидилсерин, фосфатидилэта-

ноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол. Биологическая роль.

2. Катаболизм фосфолипидов. Ферменты, расщепляющие фосфолипиды в кишечнике и тканях. Роль фосфолипаз A<sub>2</sub> и C.

3. Характеристика синтеза фосфатидной кислоты из жирных кислот и глицерола по плану:

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

4. Реакции взаимосвязи обмена глицина, серина, метионина, участие в них витаминов B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> и фолиевой кислоты (см. тема 5.2.). Реакция синтеза S-аденозилметионина из S-аденозилгомоцистеина, его роль в процессах трансметилирования при синтезе ряда веществ, в том числе фосфатадилхолина.

5. Реакции биосинтеза фосфолипидов в тканях. Два пути биосинтеза фосфолипидов. Роль аминокислот и витаминов в этом процессе. Липотропные вещества, реакции, в которых они участвуют. Причины нарушения синтеза фосфолипидов. Причины жирового перерождения печени.

6. Липидозы: лизосомные болезни накопления липидов. Представление о болезнях Нимана–Пика, Гоше, Тея–Сакса, Шюллера–Кристиана, Вольмана. Молекулярные причины, патогенез.

## **ТЕМА 9.4. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Холестерол является компонентом клеточных мембран, предшественником стероидных гормонов, желчных кислот, витамина D.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение обмена, функций и транспорта холестерина.

Приобретение практических навыков определения концентрации общего холестерина в сыворотке крови.

### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Химическое строение и биологическая роль холестерина. Пищевые источники холестерина. Пути выведения холестерина из организма.
2. Характеристика транспорта свободного холестерина и его эфиров в плазме крови.
3. Реакции синтеза мевалоновой кислоты. Схема дальнейших этапов синтеза холестерина. Связь синтеза холестерина с обменом углеводов. Регуляция синтеза.
4. Источники образования в организме ацетил-S-КоА: катаболизм глюкозы, аминокислот, жирных кислот и кетонных тел. Пути использования ацетил-S-КоА: ЦТК, синтез жирных кислот, холестерина, кетонных тел. При каких условиях и в каких органах происходят те или иные процессы?
5. Определение концентрации холестерина в сыворотке крови. Принцип метода, его клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

### Лабораторная работа

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХОЛЕСТЕРОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

### *Принцип*

Метод основан на использовании сопряженных ферментативных реакций. Холестеролэстераза осуществляет гидролиз эфиров холестерина; затем холестеролоксидаза превращает холестерол в холестенон с образованием  $H_2O_2$ . Пероксид водорода в присутствии фенола с участием пероксидазы окисляет 4-аминоантипирин с образованием продукта хинонимина розово-малинового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию холестерина и определяется фотоколориметрически.

### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

### *Реактивы*

1) рабочий раствор, содержащий холестеролэстеразу, холестеролоксидазу, пероксидазу, хлорфенол, 4-аминоантипирин в 0,1 М калиево-фосфатном буфере; 2) стандартный раствор холестерина, 4,65 ммоль/л.

*Материал исследования*  
Сыворотка крови.

*Проведение анализа*

	<b>Опыт,</b> мл	<b>Стандарт,</b> мл
Сыворотка крови	0,02	—
Стандартный раствор холестерина	—	0,02
Рабочий раствор	2,0	2,0
	Инкубируют 20 мин при 37 °С. Измеряют оптическую плотность опытной и стандартной пробы против воды при 540 нм (зеленый светофильтр).	

*Расчет*

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

где  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора.

*Нормальные величины*

Сыворотка крови	дети	1,2–5,2 ммоль/л
	взрослые	3,0–5,2 ммоль/л

*Клинико-диагностическое значение*

Гиперхолестеролемию более 5,2 ммоль/л является фактором повышенного риска атеросклероза и его клинических осложнений – ишемической болезни сердца, инсульта. Высокое содержание холестерина в крови наблюдается при дислипотеинемиях IIa и IIb, III типов, нефротическом синдроме, сахарном диабете I типа, гипотиреозе, поражениях почек, внутри- и внепеченочном холестазах.

Уменьшение концентрации холестерина в крови (гипохолестеролемию) отмечается при голодании и синдроме мальабсорбции, при гипертиреозе, остром панкреатите, циррозе печени, злокачественных опухолях.

### *Оформление работы*

Записывают принцип метода, ход работы и результаты анализа, отмечают клинико-диагностическое значение. Делают вывод о возможных патологиях.

## **ТЕМА 9.5. ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ В КРОВИ. НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Нарушения липидного обмена проявляются такими распространенными заболеваниями, как атеросклероз, ожирение, желчно-каменная болезнь, а также дислипотеинемии.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение транспорта липидов в крови и нарушений липидного обмена.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Состав липопротеинов очень низкой плотности, соотношение липидных фракций, значение. Апобелки, их функция. Где образуются эти липопротеины? Метаболизм ЛПОНП. Роль липопротеинлипазы.
2. Состав липопротеинов низкой и высокой плотности. Типы апобелков, их функции. Реакция, катализируемая лецитин: холестерол-ацилтрансферазой (ЛХАТ).
3. Локализация и роль апо-В100-рецептора. Значение рецепторопосредованного эндоцитоза ЛПНП и пути метаболизма их компонентов после эндоцитоза. Роль ацил~S-КоА:холестерол-ацилтрансферазы (АХАТ).
4. Состав хиломикронов, их функции. Роль апобелков. Метаболизм хиломикронов. Роль липопротеинлипазы. Активация липопротеинлипазы.
5. Взаимосвязь метаболизма ХМ, ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП.
6. Характеристика нарушений обмена холестерина – гиперлипотеинемия IIa типа (семейная гиперхолестеролемиа), атеросклероз (по стадиям), желчно-каменная болезнь. Причины, последствия, основы лечения.
7. Причины нарушений обмена триацилглицеролов – ожирение,

гиперлипопротеинемия I типа (гиперхиломикронемия) и V типа.

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

## **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛУ 9)**

1. Структурные формулы и характеристика основных классов липидов.

2. Типы высших жирных кислот, биологическая роль, их пищевые источники. Структура пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислот, полиненасыщенных жирных кислот  $\omega$ -6-ряда (линолевая,  $\gamma$ -линоленовая, арахидоновая кислоты) и  $\omega$ -3-ряда ( $\alpha$ -линоленовая, эйкозопентаеновая, докозогексаеновая кислоты). Транспорт жирных кислот в крови.

3. Производные полиненасыщенных жирных кислот  $\omega$ -6-ряда и  $\omega$ -3-ряда, биологическая роль отдельных типов эйкозаноидов. Схема синтеза эйкозаноидов из арахидоновой кислоты, роль фосфолипазы A<sub>2</sub>, циклооксигеназы, липоксигеназы.

4. Триацилглицеролы: химическая структура, жирные кислоты, входящие в состав триацилглицеролов, физико-химические свойства, биологическая роль. Транспорт триацилглицеролов в крови.

5. Фосфолипиды: химическая структура (фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол), жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов, физико-химические свойства, биологическая роль. Какую роль выполняют фосфолипиды в транспорте липидов в крови?

6. Представление о химической структуре сфинголипидов (сфингомиелины) и гликолипидов (цереброзиды, сульфоллипиды, ганглиозиды), их биологической роли и функциях.

7. Строение холестерина и его эфиров, их биологическая роль. Транспорт холестерина в крови.

8. Роль ферментов и компонентов желчи в переваривании пищевых липидов в ЖКТ. Схема синтеза желчных кислот, роль витаминов в этом процессе. Химическое строение таурохолевой и гликохолевой кислот.

9. Ресинтез липидов в энтероците. Последствия нарушений пере-

варивания и всасывания липидов.

10. Характеристика хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности, их состав, функции. Метаболизм хиломикронов и ЛПОНП. Роль липопротеинлипазы, ее активация?

11. Обнаружение компонентов фосфатидилхолина яичного желтка. Принцип метода и ход определения.

12. Липолиз, химизм реакций, роль липолиза. Регуляция липолиза. Транспорт и использование жирных кислот, образующихся при липолизе. Аденилатциклазный механизм активации ТАГ-липазы. Механизм влияния на липолиз инсулина, адреналина, глюкагона, глюкокортикоидов.

13. Реакции  $\beta$ -окисления жирных кислот, отметьте связь с ЦТК и дыхательной цепью. Энергетический выход процесса на примере пальмитиновой кислоты.

14. Пути образования и пути окисления ацетил-S-КоА в организме (схема).

15. Реакции синтеза и окисления кетоновых тел. Причины кетонемии и кетонурии при голодании и сахарном диабете.

16. Реакции синтеза жирных кислот из глюкозы. Ключевые стадии и локализация процесса, роль цитрата. Регулируемые ферменты. Состав мультиферментного комплекса: синтазы жирных кислот.

17. Реакции синтеза глицерол-3-фосфата из глюкозы и реакции окисления глицерола до пировиноградной кислоты. Дальнейшая судьба пирувата.

18. Химизм реакций синтеза триацилглицеролов. В каких условиях и где происходит липогенез? Отличия биосинтеза липидов в жировой ткани и в печени. Регуляция липогенеза. Источники глицерола, жирных кислот и энергии. Взаимосвязь синтеза триацилглицеролов с обменом глюкозы.

19. Особенности обмена триацилглицеролов и насыщенных жирных кислот при некоторых состояниях (потребление пищи, голодание, мышечная активность, сахарный диабет 1 и 2 типов).

20. Пути синтеза фосфолипидов. Химизм реакций синтеза фосфолипидов. Роль аминокислот и витаминов. Источники энергии для синтеза фосфолипидов. Что такое липотропные вещества? Их функции. Последствия недостатка липотропных соединений.

21. Обмен и функции холестерина: реакции синтеза до мевалоновой кислоты, схема дальнейших этапов синтеза, регуляция синте-

за, связь с углеводным обменом. Пути выведения холестерина из организма.

22. Определение концентрации холестерина в крови. Принцип метода, ход определения, клинико-диагностическое значение, нормальные величины.

23. Характеристика липопротеинов высокой и низкой плотности: роль в обмене холестерина и его эфиров, основные апобелки липопротеинов. Взаимодействие ЛПНП и ЛПВП в плазме крови. Роль лецитин: холестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ). Метаболизм ЛПНП. Внутриклеточное использование холестерина и выведение из клетки. Роль ацил-S-КоА: холестерол-ацилтрансферазы (АХАТ).

24. Взаимосвязь обмена липидов и углеводов. Превращение глюкозы в жирные кислоты, триацилглицеролы и холестерол (схема). Роль пентозофосфатного пути для синтеза липидов.

25. Регуляция обмена липидов. Механизм влияния инсулина, глюкагона, адреналина, глюкокортикоидов на липолиз и липогенез, синтез и  $\beta$ -окисление жирных кислот, синтез холестерина.

26. Биохимические механизмы нарушения обмена липидов: атеросклероз, желчекаменная болезнь, ожирение, жировая инфильтрация печени, сахарный диабет II типа, гиперлипотеинемии I типа (хиломикронемия), V типа и IIa типа (семейная гиперхолестеролемиа). Что такое болезни Тея–Сакса, Нимана–Пика, Гоше?

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

28. НАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена липидов. Структурные формулы окисленной и восстановленной форм НАД. Характеристика витамина, входящего в состав НАД: биологическое название, признаки недостаточности.

29. ФАД-зависимые дегидрогеназы, катализируемые ими реакции обмена липидов. Структурные формулы окисленной и восстановленной форм ФАД. Характеристика витамина, входящего в состав ФАД: биологическое название, признаки недостаточности.

30. Последовательность реакций окислительного декарбоксилирования пирувата, связь с дыхательной цепью. Регуляция процес-

са. Участие витаминов в процессе и их характеристика: биологическое название, признаки недостаточности.

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

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

33. Разобщение дыхания и фосфорилирования. От чего зависит теплообразующая функция бурой жировой ткани? Разобщители дыхательной цепи. Причины гипоэнергетических состояний. Коэффициент P/O и количество образующихся молекул АТФ при полном окислении пальмитиновой кислоты.

# РАЗДЕЛ 10

## ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА

### ТЕМА 10.1. МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ГОРМОНАЛЬНОГО СИГНАЛА. КЛАССИФИКАЦИЯ ГОРМОНОВ (СЕМИНАР)

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

Одной из особенностей живых организмов является их способность сохранять постоянство гомеостаза при помощи механизмов саморегуляции, в осуществлении которых одно из главных мест принадлежит гормонам. Влияние гормонов на клетки осуществляется через особые механизмы, нарушение которых ведет к недостаточности или изменению эффекта гормона. Для правильной оценки причин возникновения эндокринных заболеваний необходимо знание механизмов передачи гормонального сигнала в клетку.

Изменение эндокринной регуляции при недостаточном или избыточном синтезе гормонов приводит к нарушениям процессов обмена веществ в организме.

#### *ЦЕЛЬ*

Изучение механизмов действия белковых и пептидных гормонов, гормонов производных аминокислот, стероидных гормонов.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Принципы регуляции обменных процессов. Иерархия регуляторных систем организма. Роль гипоталамуса и гипофиза.
2. Механизм отрицательной обратной связи в регуляции образования и действия гормонов.
3. Общие биологические признаки гормонов. Классы гормонов в соответствии с химическим строением, биологическими функциями и принадлежности к эндокринным железам.
4. Характеристика мембранных механизмов передачи гормонального сигнала в клетки-мишени:
  - рецептор, обладающий ферментативной активностью (схематично на примере рецептора инсулина),

- рецептор, образующий ионный канал (схематично на примере рецептора ацетилхолина),
- передача гормонального сигнала с использованием G-белков (аденилатциклазный, кальций-фосфолипидный механизмы). Укажите компоненты передающей системы, отметьте роль активирующей и ингибирующей  $\alpha$ -субъединицы G-белка. Какие гормоны используют эти механизмы?
- Гуанилатциклазный механизм передачи сигнала. Общая характеристика этого механизма.

5. Строение и источники вторичных посредников передачи гормонального сигнала: цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат (ИФ<sub>3</sub>), диацилглицерол (ДАГ), ионы Ca<sup>2+</sup>.

6. Характеристика цитозольного механизма передачи гормональных сигналов в клетки-мишени. Гормоны, действующие посредством этого механизма.

## **ТЕМА 10.2. ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА, ГИПОФИЗА, НАДПОЧЕЧНИКОВ, ЩИТОВИДНОЙ, ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ, ПАРАЩИТОВИДНОЙ И ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Гормоны гипоталамуса и гипофиза регулируют синтез и секрецию гормонов других эндокринных желез или оказывают влияние на метаболические реакции в тканях-мишенях.

Гормоны щитовидной железы играют важную роль в регуляции метаболизма, пролиферации и дифференцировки клеток. Гормоны, регулирующие гомеостаз кальция, вырабатываются в паращитовидной и щитовидной железах и обеспечивают поддержание концентрации кальция в плазме крови в очень узких пределах.

Гормоны поджелудочной железы инсулин и глюкагон играют первостепенную роль в гомеостазе глюкозы. Влияют на обмен углеводов и липидов.

Роль кортикотропина в синтезе и секреции гормонов надпочечников; фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормона в синтезе и секреции половых гормонов. Функции гормонов надпочечников и половых желез в организме.

## **ЦЕЛЬ**

Изучение строения и биологических эффектов гормонов гипоталамуса, гипофиза, надпочечников, щитовидной, поджелудочной, паращитовидной и половых желез. Изменения метаболизма при гипо- и гиперфункции гормонов.

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Классы гормонов в соответствии с химическим строением, биологическими функциями и принадлежностью к эндокринным железам.

2. Характеристика гормонов гипоталамуса (либерины и статины) по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия.

3. Характеристика гормонов гипофиза – соматотропный гормон, вазопрессин, окситоцин, адренокортикотропный, липотропный и меланоцитстимулирующий гормоны, лактотропный, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, минеральных веществ, воды – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- патологии, связанные с избытком или недостаточностью гормона.

4. Причины и метаболические последствия гипофункции антидиуретического гормона (несахарный диабет). Какие клинические проявления заболевания отмечаются?

5. Характеристика нарушений, связанных с соматотропином: гипофизарный нанизм, акромегалия, гигантизм. Причины и метаболические нарушения? Клинические проявления заболеваний.

6. Характеристика гормонов тиреоидной функции: тиреолиберин. тиреотропный гормон, три- и тетраiodтиронины. Схема синтеза

йодтиронинов. Химическая структура тироксина и трийодтиронина, их органы-мишени, локализация рецепторов в клетке и механизм действия. Влияние на обмен углеводов, белков, липидов. Ферменты, чувствительные к действию гормона. Гипо- и гиперфункции щитовидной железы. Метаболические нарушения и клинические проявления заболеваний.

7. Характеристика кальцитонина и паратгормона по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен минеральных веществ.

8. Как эффект кальцитонина и паратгормона сочетается с действием кальцитриола (активная форма витамина D<sub>3</sub>)?

9. Характеристика гормонов поджелудочной железы – глюкагона и инсулина по плану:

- название,
- химическая природа,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона.

10. Типы сахарного диабета. Причины абсолютной и относительной инсулиновой недостаточности. Метаболические нарушения при разных видах сахарного диабета, их клинические проявления, основы лечения.

11. Химическая формула адреналина и норадреналина. Характеристика адреналина по плану:

- химическая природа,
- место и химизм реакций синтеза,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизмы действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- понятие феохромоцитомы, клинические проявления.

12. Типы адренорецепторов и особенности их действия.

13. Характеристика следующих гормонов: кортиколиберин, кортикотропин (АКТГ), кортизол по плану:

- название,
- химическая природа и строение,
- место синтеза, транспорт в крови,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, минеральных веществ – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- гипо- или гиперфункция гормона, метаболические нарушения, клинические проявления.

14. Изменение метаболизма в жировой, мышечной, лимфоидной тканях при гипо- и гиперкортицизме. Что значит выражение «стероидный диабет»?

15. Схема синтеза стероидных гормонов. Роль прегненолона и прогестерона – ключевых соединений на пути синтеза. Специфические гидроксилазы, определяющие образование минералокортикоидов и глюкокортикоидов.

16. Характеристика минералокортикоидов (альдостерона) по плану:

- химическая природа и строение,
- место синтеза, транспорт в крови,
- регуляция синтеза и секреции гормона,
- органы-мишени,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен минеральных веществ и воды – реакции и ферменты, чувствительные к действию гормона,
- гипо- или гиперфункция гормона, метаболические нарушения, клинические проявления.

17. Роль ренин-ангиотензиновой системы в регуляции синтеза и секреции альдостерона.

18. Характеристика следующих гормонов: гонадолиберин, фолликулостимулирующий, лютеинизирующий гормоны, прогестерон и эстрадиол, тестостерон:

- название,
- химическая природа и химическая формула (для стероидных гормонов),

- место синтеза,
- регуляция синтеза и секреции гормона; роль ароматаз в синтезе эстрогенов,
- органы-мишени, транспорт в крови,
- локализация рецепторов в клетке и механизм действия,
- влияние на обмен углеводов, белков, липидов, пролиферацию и дифференцировку клеток,
- гипо- или гиперфункция гормона, метаболические нарушения, клинические проявления.

10. Цикличность изменений концентрации гонадотропных гормонов, прогестерона и эстрогенов в организме женщины (менструальные циклы).

11. Составьте конспект или таблицу для гормонов гипоталамуса, гипофиза, гормонов надпочечников, гормонов тиреоидной функции и гормонов паращитовидной, поджелудочной и половых желез по схеме: название и химическая природа; место синтеза; регуляция действия гормонов; органы-мишени; локализация рецепторов; механизм действия; влияние на углеводный, белковый, липидный, водно-солевой обмен; патология, связанная с недостатком (отсутствием) или избытком действия гормона.

## **РАЗДЕЛ 11**

# **БИОХИМИЯ КРОВИ**

### **ТЕМА 11.1. АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ВЕЩЕСТВА КРОВИ: БЕЛКИ, ФЕРМЕНТЫ, ФРАКЦИИ ОСТАТОЧНОГО АЗОТА**

#### *АКТУАЛЬНОСТЬ*

Существует тесная взаимосвязь крови со всеми тканями организма. Исследование различных по происхождению азотсодержащих компонентов крови и их роли в обмене веществ позволяет диагностировать нарушения метаболизма в организме, следить за развитием патологического процесса и оценивать эффективность терапевтических мероприятий. Соотношение азотсодержащих соединений в крови меняется в зависимости от образа жизни и возраста человека.

#### *ЦЕЛЬ*

Изучение происхождения и клинико-диагностического значения определения азотсодержащих веществ крови.

Приобретение навыков проведения тимоловой пробы, определения содержания С-реактивного белка и фракций белков сыворотки крови.

#### *ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ*

1. Органические и неорганические компоненты крови. Форменные элементы, плазма, сыворотка крови.
2. Источники глюкозы, триацилглицеролов и холестерина крови. Клинико-диагностическое значение определения их концентрации в крови.
3. Азотсодержащие вещества крови.
4. Понятие общего белка крови. Функции белков крови, нормальные показатели концентрации общего белка крови. Причины гипо- и гиперпротеинемий.
5. Основные белковые фракции сыворотки крови. Нормальные величины их концентрации в крови. Приведите примеры белков для каждой фракции (прил. 1). Диспротеинемии и парапротеинемии. Эмбриоспецифические белки и их диагностическое значение.

6. Понятие протеинограммы, типы протеинограмм. Изменение соотношения белковых фракций при остром и хроническом воспалении, патологии почек, опухолевых заболеваниях, патологиях печени.

7. Основные ферменты плазмы и сыворотки крови. В чем заключается энзимодиагностика? Истинно плазменные (плазмоспецифичные) ферменты. Две группы органоспецифичных ферментов: индикаторные (клеточного метаболизма) и экскреторные (секретируемые) ферменты.

8. Фракции остаточного азота крови. Укажите причины и виды азотемий.

9. Реакции синтеза креатина и креатинина. Нормальные величины концентрации в крови. Клинико-диагностическое значение определения концентрации креатинина в крови и моче.

10. Реакции синтеза мочевины. Нормальные величины ее концентрации в крови. Клинико-диагностическое значение определения концентрации мочевины в крови и моче.

11. Реакции синтеза мочевой кислоты. Нормальные величины концентрации в крови. Клинико-диагностическое значение определения концентрации мочевой кислоты в крови и моче.

12. Гипераммониемии, их причины и последствия. Причины токсичности аммиака.

13. Тимоловая проба на коллоидоустойчивость белков сыворотки крови. Принцип метода. Нормальные показатели и клинико-диагностическое значение.

14. Исследование содержания С-реактивного белка в сыворотке крови. Клинико-диагностическое значение и нормальные показатели.

15. Белковые фракции сыворотки крови. Принцип электрофореза. Нормальные показатели и клинико-диагностическое значение.

Лабораторная работа 1  
**ПРОВЕДЕНИЕ ТИМОЛОВОЙ ПРОБЫ НА  
КОЛЛОИДОУСТОЙЧИВОСТЬ БЕЛКОВ  
СЫВОРОТКИ КРОВИ**

Устойчивость белков сыворотки крови в растворе зависит от их заряда и наличия гидратной оболочки. Нарушение коллоидной устойчивости белков под влиянием различных агентов проявля-

ется сначала склеиванием (коагуляцией) белковых молекул, а затем выпадением их в осадок. При этом в первую очередь осаждаются более крупные и менее заряженные белки – глобулины.

### *Тимоловая проба*

Как и все коагуляционные тесты, тимоловая проба является неспецифической реакцией. Вместе с тем она более приемлема для функционального исследования печени, чем другие коллоидные пробы.

#### *Принцип*

Сывороточные  $\beta$ -,  $\gamma$ -глобулины и липопротеины осаждаются при pH 7,55 тимоловым реактивом вследствие образования глобулин-тимол-липидного комплекса.

#### *Реактивы*

Тимоловый буфер, pH 7,55–7,60.

#### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

#### *Проведение анализа*

	<b>Опыт, мл</b>
Сыворотка крови	0,05
Тимоловый буфер	3,0
	Перемешивают и инкубируют 15 мин при комнатной температуре. Снова перемешивают и сравнивают с калибровочными пробами. Результат выражают в единицах помутнения S-N (по авторам: Shank-Haagland).

#### *Калибровочная шкала*

В качестве калибровочных проб используются растворы с различной интенсивностью мутности. Перед использованием пробы необходимо тщательно перемешать.

<b>№ пробы</b>	<b>Единицы помутнения, S-N</b>
1	5
2	10
3	15
4	20

## *Нормальные величины*

Сыворотка крови

0–4 ед. S-H

## *Клинико-диагностическое значение*

Проба применяется для дифференциальной диагностики заболеваний печени. При поражении паренхимы печени (инфекционный и токсический гепатит) уже в преджелтушной стадии или при безжелтушной форме в 90–100% случаев тимоловая проба выше нормальных величин. У здоровых индивидов, при остальных заболеваниях печени или нарушении функции других органов тимоловая проба соответствует норме.

## *Оформление работы*

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

## Лабораторная работа 2

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЕТОДОМ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ ЛАТЕКСА**

## *Принцип*

Латекс-реагент представляет собой суспензию латексных частиц, на поверхности которых иммобилизованы антитела против С-реактивного белка (СРБ) человека. При смешивании данного реагента с сывороткой крови человека, содержащей СРБ в концентрации, превышающей 6,0 мг/л, в результате реакции между антителами к СРБ и антигеном (СРБ) развивается агглютинация латексных частиц. Агглютинация определяется визуально, что свидетельствует о положительной реакции пробы.

## *Реактивы*

1) СРБ-латексный реагент (реагент 1), 2) буферастворазбавитель (0,9% раствор NaCl) (реагент 2), 3) положительная контрольная сыворотка (не менее 12 мг/л СРБ) (реагент 3), 4) отрицательная контрольная сыворотка (менее 6 мг/л СРБ) (реагент 4).

## *Материал исследования*

Сыворотка крови.

## *Проведение анализа*

### *1. Подготовительный этап*

Все реагенты и сыворотка крови должны быть доведены до комнатной температуры 18–25 °С. СРБ-латексный реагент (реагент 1) необходимо перемешать путем осторожного встряхивания бутылки до образования гомогенной суспензии.

### *2. Качественное определение содержания С-реактивного белка*

а) на тест-пластине раскапать по 20 мкл в лунку 1 – сыворотку крови, в лунку «+» – положительную контрольную сыворотку (реагент 3), в лунку «-» – отрицательную контрольную сыворотку (реагент 4);

б) рядом с первой каплей во все лунки внести по 20 мкл СРБ-латексный реагент (реагент 1);

в) смешать содержимое двух капель в лунке до гомогенного состояния, используя одноразовый шпатель или стеклянную палочку и не выходя за границы лунки;

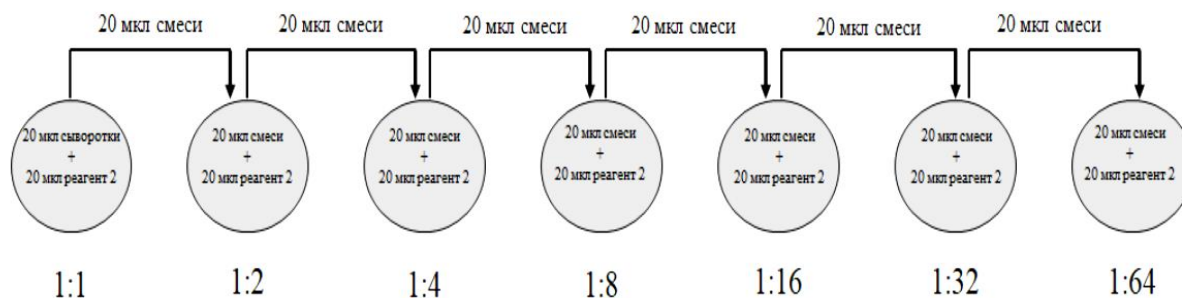
г) взяв тест-пластину в руки, совершить плавные вращательные движения, затем, строго в промежутке со 2-ой по 3-ю минуту от момента начала вращения тест-пластины, оценить наличие и степень агглютинации.

### *3. Интерпретация полученного результата определение содержания С-реактивного белка качественным способом*

Четко видимые агрегаты латексных частиц на прозрачном фоне жидкости свидетельствуют о концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови больше 6 мг/л, этот результат расценивают «+++»; мелкие агрегаты – на концентрацию С-реактивного белка близкую к 6 мг/л, этот результат расценивают «+»; равномерно гомогенная «молочного» цвета суспензия – на концентрацию С-реактивного белка ниже 6 мг/л. В случае получения результата содержания С-реактивного белка в сыворотке крови ниже 6 мг/л, этот результат расценивают «-». В случае получения концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови больше 6 мг/л необходимо выполнить определение показателя полуколичественным методом.

#### 4. Полуколичественное определение содержания С-реактивного белка

а) на тест-пластине приготовить разведения исследуемой сыворотки крови с помощью буфера-разбавителя (реагент 2): 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64;



б) рядом с первой каплей во все лунки внести по 20 мкл СРБ-латексный реагент (реагент 1);

в) смешать содержимое двух капель в лунке до гомогенного состояния, используя для каждой лунки отдельный одноразовый шпатель или стеклянную палочку и не выходя за границы лунки;

г) взяв тест-пластину в руки, совершить плавные вращательные движения, затем, строго в промежутке со 2-ой по 3-ю минуту от момента начала вращения тест-пластины, оценить наличие и степень агглютинации.

#### 5. Интерпретация полученного результата определения содержания С-реактивного белка полуколичественным способом

Выбрать разведение, при котором образовались мелкие агрегаты, но при этом следующее разведение должно иметь равномерно гомогенную «молочного» цвета суспензию.

#### Расчет

$$\text{Концентрация С-реактивного белка, мг/л} = 6 \times K_{\text{разведения}},$$

где  $K_{\text{разведения}}$  – наибольшее разведение с позитивной реакцией и четко видимыми агрегатами латексных частиц

#### Нормальные величины

Сыворотка крови

до 6 мг/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Проба применяется для неспецифической оценки наличия воспалительного синдрома. С-реактивный белок относится к белкам острофазного ответа на воспаление. Бактериальная инфекция сопровождается самыми высокими уровнями С-реактивного белка (100 мг/л и выше); при вирусной инфекции содержание С-реактивного белка повышается до 20 мг/л, но прирост показателя в динамике вирусной инфекции свидетельствует о присоединении бактериальной инфекции.

Также определение концентрации С-реактивного белка имеет значимость при контроле эффективности лечения хронических воспалительных заболеваний.

### *Оформление работы*

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

## Лабораторная работа 3 (теоретически) **ЭЛЕКТРОФОРЕЗ БЕЛКОВ НА БУМАГЕ И АЦЕТАТЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ПЛЕНКАХ**

### *Принцип*

Белковые молекулы, отрицательно заряженные при рН 6,8, перемещаются в электрическом поле постоянного тока: по направлению к аноду. Наиболее быстро перемещаются альбумины, затем по порядку  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины.

На ход электрофореза влияет подвижность разделяемых веществ, находящаяся в зависимости от следующих факторов:

- заряд (обычно зависит от рН), размеры и форма молекул веществ;
- электрическое поле – скорость движения ионов белка прямо пропорциональна силе тока и напряжению и обратно пропорциональна сопротивлению (зависит от типа и размеров носителя и ионной силы буфера);
- буферный раствор – состав, концентрация, рН и ионная сила (зависит от концентрации ионов и их заряда);

- носитель – учитывается его гидрофильность, адсорбция веществ на молекулах носителя.

### *Материал исследования*

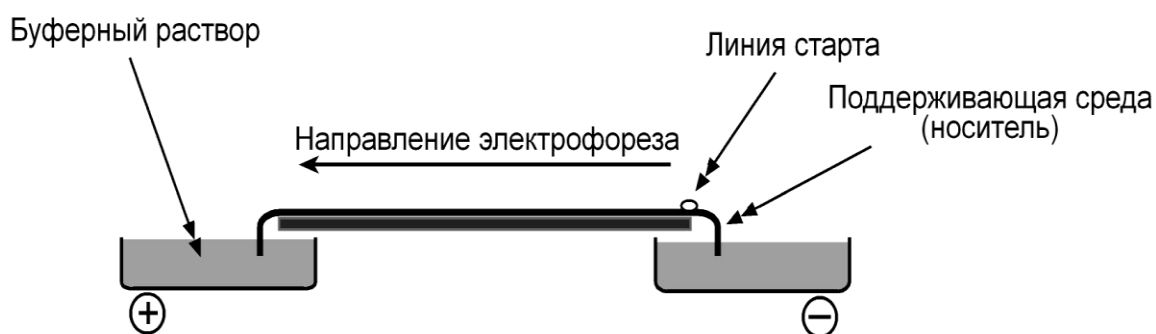
Сыворотка крови.

### *Оборудование*

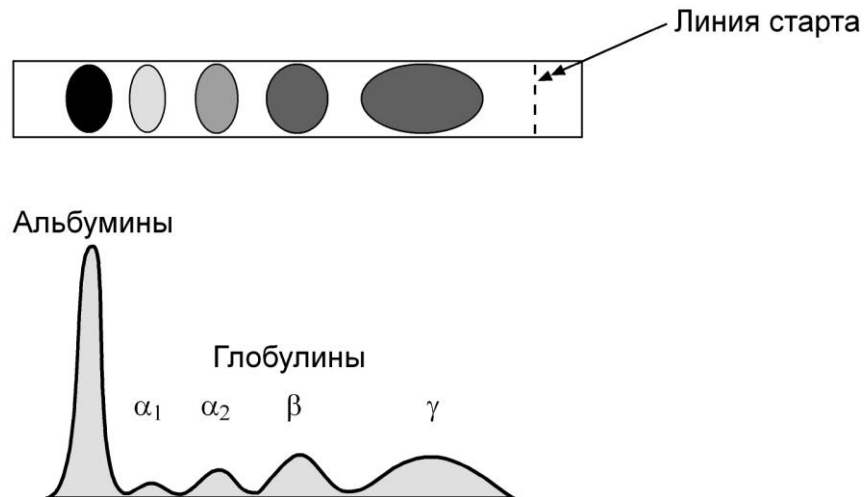
Прибор для электрофореза, денситометр.

### *Проведение анализа (основные положения)*

Образцы сыворотки равномерно наносят по линии старта на носитель (бумага, ацетатцеллюлозная пленка). Носитель помещают в прибор для электрофореза и подают электрический ток. Буферный раствор, двигаясь в электрическом поле, захватывает молекулы белка. Молекулы с наибольшим отрицательным зарядом и наименьшим размером, т.е. альбумины, двигаются быстрее остальных. Наиболее крупные и нейтральные ( $\gamma$ -глобулины) оказываются последними. Через некоторое время (устанавливается для каждого прибора индивидуально) электрофорез заканчивают.



Полоски бумаги или ацетатцеллюлозной пленки отмывают от буферного раствора и окрашивают. В результате участки, содержащие белок, прокрашиваются, при этом площадь и интенсивность окраски зависят от содержания белковой фракции. В настоящее время количественный учет окрашенных зон на электрофореграмме проводят при помощи денситометра. Работа денситометра основана на пропускании луча света через движущуюся полоску носителя. При изменении интенсивности окраски носителя происходит «всплеск» и регистрируется наличие окрашенной зоны (белковой фракции). Параллельно современные приборы автоматически рассчитывают процентное соотношение белковых фракций.



### *Клинико-диагностическое значение*

#### Альбумины

Снижение содержания альбуминовой фракции происходит при состояниях, характеризующихся:

- пониженным синтезом альбуминов – при врожденной анальбуминемии, белковом голодании, нарушении всасывания, тяжелых поражениях печени (цирроз, дистрофии, некроз, активный гепатит, амилоидоз печени);
- повышенным катаболизмом альбуминов – при лихорадке, кахексии, тяжелых инфекциях, панкреатите, коллагенозах, тиреотоксикозе, болезни Иценко-Кушинга;
- потерей альбуминов через ожоговые поверхности, почки, желудочно-кишечный тракт;
- воспалительными процессами, обусловленные выходом альбуминов из кровотока в межклеточное пространство.

Концентрация альбумина <20 г/л сопровождается отеками.

#### α-Глобулины

Повышение содержания α<sub>1</sub>- и α<sub>2</sub>-глобулиновой фракции связано с острыми и подострыми воспалительными процессами и некоторыми злокачественными опухолями, травмами, так как сюда входит большинство белков острой фазы (С-реактивный белок, α<sub>2</sub>-макроглобулин, α<sub>1</sub>-гликопротеин, α<sub>1</sub>-антитрипсин, церулоплазмин, гаптоглобин).

#### β-Глобулины

Большая доля белков β-глобулиновой фракции является

$\beta$ -липопротеинами (ЛПОНП и ЛПНП), поэтому повышение этой фракции чаще всего связано с гиперлипопротеинемиями. Кроме того, влияние на динамику этой фракции оказывают трансферрин, гемопексин, компоненты системы комплемента.

#### $\gamma$ -Глобулины

Содержание  $\gamma$ -глобулинов увеличивается при патологических состояниях, связанных с хроническими воспалительными процессами, так как класс содержит иммуноглобулины G, A и M.

### **ТЕМА 11.2. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА. ГЕМОПРОТЕИНЫ. СИНТЕЗ И РАСПАД ГЕМА**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Широкое разнообразие биологически важных функций гемоглобина и других гемопротеинов (например, цитохромов) вызывает необходимость изучения строения и роли этих белков в метаболизме. Состояния, связанные с нарушением синтеза и распада гема, приводят к развитию заболеваний крови и печени.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение реакций синтеза и распада гема, метаболизма билирубина.

Освоение методов определения концентрации общего билирубина и его фракций в сыворотке крови, билирубина и уробилиногена в моче.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Обмен железа в организме: потребность, всасывание, транспорт, форма депонирования. Пищевые источники. Симптомы и клинические проявления недостаточности железа.
2. Особенности метаболизма эритроцита (гликолиз, пентозофосфатный путь окисления глюкозы, 2,3-дифосфоглицерат, образование активных форм кислорода, Met-Hb-редуктазная система, антиоксидантная система).
3. Строение гема, реакции и основные этапы его синтеза. Регуляция синтеза гема и гемоглобина.
4. Причины порфирий, их клинические проявления, основы лечения порфирий.
5. Строение наиболее представленных в организме гемопроtei-

нов (гемоглобин, миоглобин) и гемсодержащих ферментов (цитохромы, каталаза, пероксидаза). Их функция.

6. Патологические и физиологические типы гемоглобина (метгемоглобин, гемоглобин S, гликозилированный гемоглобин, карбоксигемоглобин, оксигенированный гемоглобин, карбогемоглобин). Значение определения концентрации гликозилированного гемоглобина, оксигемоглобина и карбогемоглобина.

7. Механизмы транспорта углекислого газа. Как он связывается с гемоглобином? Роль карбоангидразы. Роль эритроцита в изменении концентрации бикарбонат-ионов плазмы.

8. Связывание гемоглобина с кислородом, эффект кооперативности. Кривая насыщения гемоглобина кислородом. Механизм транспорта кислорода. Влияние температуры, величины рН, концентрации  $\text{CO}_2$ , 2,3-дифосфоглицерата на сродство гемоглобина к кислороду.

9. Схема реакций, происходящих в эритроците в капиллярах легких и тканей.

10. Реакции распада гемоглобина и гема в клетках ретикулоэндотелиальной системы.

11. Непрямой (свободный) билирубин, его строение, реакции образования. Дальнейшая судьба непрямого билирубина.

12. Прямой (связанный) билирубин, его строение, реакции образования, его дальнейшая судьба. Роль фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы. Как выводятся конечные продукты распада гема?

13. Состояния, связанные с избыточным распадом гемоглобина. Причины гемолитической желтухи и ее лабораторные критерии.

14. Состояния, связанные с нарушениями оттока желчи. Причины обтурационной желтухи и ее лабораторные критерии.

15. Состояния, связанные с недостаточностью функции гепатоцитов. Причины паренхиматозной желтухи и ее лабораторные критерии.

16. Физиологические желтухи новорожденных.

17. Патологические желтухи:

- гемолитические желтухи, их причины. Физиологические основы применения фенобарбитала;
- наследственные нарушения выведения билирубина – синдромы Жильбера–Мейленграхта, Дубина–Джонсона, Криглера–Найара.

18. Определение содержания общего билирубина и его фракций в сыворотке крови. Принцип метода, нормальные величины, клинико-диагностическое значение.

19. Обнаружение билирубина и уробилиногена в моче. Принцип метода, нормальные величины, клинико-диагностическое значение.

### Лабораторная работа 1

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА И ЕГО ФРАКЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

### *Принцип*

Взаимодействие сульфаниловой кислоты с азотистым натрием дает диазофенилсульфовую кислоту, которая с билирубином образует окрашенные азопигменты (диазореакция Эрлиха). Связанный (прямой) билирубин реагирует быстро, поэтому о его концентрации судят по первоначальной интенсивности окраски. Несвязанный билирубин вступает в реакцию только после добавления акселератора (кофеин). Последний освобождает билирубин из комплекса с белками и тем самым ускоряет реакцию азосочетания.

### *Материал исследования*

Сыворотка крови.

### *Реактивы*

1) сульфаниловая кислота в HCl (реагент 1), 2) натрий азоти-сто-кислый NaNO<sub>2</sub> (реагент 2), 3) кофеиновый реактив (реагент 3), 4) буферный раствор (реагент 4), 5) 0,9% раствор NaCl.

Стандартный раствор билирубина, 5 мкмоль/л.

### *Проведение анализа*

	<b>Общий билирубин, мЛ</b>	<b>Прямой билирубин, мЛ</b>	<b>Стандарт, мЛ</b>
Сульфаниловая Кислота (реагент 1)	0,2	0,2	0,2
NaNO <sub>2</sub> (реагент 2)	1 капля	1 капля	1 капля
Кофеиновый реактив (реагент 3)	1,0	—	1,0
NaCl	—	1,0	—
Сыворотка крови	0,2	0,2	—

Стандартный раствор билирубина	—	—	0,2
	Перемешивают и оставляют на 5 мин при комнатной температуре		
Буферный раствор (реагент 4)	1,0	1,0	1,0
	Измеряют оптическую плотность стандарта и пробы на прямой билирубин против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр). Еще через 15 мин измеряют оптическую плотность пробы на общий билирубин против воды при длине волны 540 нм (зеленый светофильтр).		

### *Расчет*

По формуле рассчитывают концентрацию общего и прямого билирубина, концентрацию непрямого билирубина находят как разность между концентрацией общего и прямого билирубина.

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

где  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора.

### *Нормальные величины*

#### Сыворотка крови

##### **Общий билирубин**

Дети	3,4–17,1 мкмоль/л
Взрослые	8,5–20,5 мкмоль/л

##### **Прямой билирубин**

Дети	отсутствие
Взрослые	2,2–5,1 мкмоль/л

### *Клинико-диагностическое значение*

В таблице отражены сдвиги содержания основных пигментов в сыворотке крови, моче и кале при различных типах желтух (↑ – увеличение, ↓ – снижение, N – нормальные значения):

	Типы желтух		
	Гемолитическая	Паренхиматозная	Обтурационная
Билирубин крови			
Общий	↑	↑	↑↑
Непрямой	↑↑	↑	N или ↑
Прямой	N или ↑	↑	↑↑
Билирубин мочи	N	N или ↑	↑
Уробилин мочи	↑↑	↑	↓
Стеркобилин кала	↑↑	N или ↓	Отсутствует

### Сыворотка крови:

Накопление билирубина в крови свыше 43 мкмоль/л ведет к связыванию его эластическими волокнами кожи и конъюнктивы, что проявляется в виде желтухи. Для дифференциальной диагностики желтух необходимо определить, за счет какой фракции возникает билирубинемия:

**1. Гемолитическая** (надпеченочная) желтуха – ускоренное образование билирубина в результате гемолиза. *Гипербилирубинемия* развивается за счет фракции непрямого билирубина. В моче резко возрастает содержание уробилина, билирубин отсутствует. В кале увеличено содержание стеркобилина.

Данный тип желтух может развиваться при В<sub>12</sub>-дефицитной анемии, гемолитических анемиях различного происхождения.

**2. Паренхиматозная** (печеночно-клеточная) желтуха – нарушено извлечение билирубина печеночными клетками, его конъюгирование и выведение. *Гипербилирубинемия* развивается за счет обеих фракций: количество непрямого билирубина возрастает за счет функциональной недостаточности гепатоцитов или снижения их количества, а прямого – за счет цитолиза гепатоцитов. В моче определяется билирубин, умеренно увеличена концентрация уробилина, уровень стеркобилина кала в норме или снижен.

Наблюдается при вирусных и других формах гепатитов, циррозе и опухолях печени, жировой дистрофии, при других состояниях.

**3. Механическая** (подпеченочная) желтуха развивается вследствие нарушения оттока желчи при закупорке желчного протока. В результате застоя желчи происходит растяжение

желчных капилляров, увеличивается их проницаемость. Не имеющий оттока в желчь прямой билирубин поступает в *кровь* и в результате развивается гипербилирубинемия. В тяжелых случаях, вследствие переполнения гепатоцитов прямым билирубином, конъюгация с глюкуроновой кислотой нарушается и в крови увеличивается количество несвязанного билирубина. В *моче* резко увеличен уровень билирубина, практически отсутствует стеркобилин *кала*.

Кроме желчно-каменной болезни, подпеченочные желтухи выявляются при новообразованиях поджелудочной железы и гельминтозах.

### *Оформление работы*

Записывают принцип метода, ход работы и результаты исследования, отмечают клинико-диагностическое значение, делают вывод о возможной патологии.

## Лабораторная работа 2

### **ОБНАРУЖЕНИЕ БИЛИРУБИНА И УРОБИЛИНОГЕНА В МОЧЕ С ПОМОЩЬЮ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПОЛОСОК «ИКТОФАН»**

#### *Принцип*

Полоски содержат две зоны индикации – для билирубина и для уробилиногена.

Тест основан на реакции сочетания билирубина со стабилизированным диазореактивом. Реакционная зона содержит *n*-нитрофенил diaзониевый-*n*-толуолсульфонат, натриевый бикарбонат и сульфосалициловую кислоту. При контакте с конъюгированным (прямым) билирубином через 60 секунд появляется сиреневато-бежевая (сиреневато-розовая) окраска, интенсивность которой зависит от количества определяемого билирубина.

Определение уробилиногена основано на реакции азосочетания уробилиногена со стабилизированной солью диазония. Реакционная зона меняет цвет в присутствии уробилиногена на розовый или красный.

#### *Материал исследования*

Нормальная моча и патологическая моча (моча с билирубином).

## *Нормальные величины*

### Моча

Билирубин	проба отрицательна
Уробилиноген	до 17,0 мкмоль/л

## *Клинико-диагностическое значение*

### Моча

Билирубинурия характерна для обтурационной и паренхиматозной желтух при повышении уровня прямого билирубина в сыворотке, но отсутствует при гемолитической. При гепатите билирубин может быть обнаружен в моче до появления желтухи.

Повышение концентрации уробилиногена в моче наблюдается при паренхиматозных заболеваниях печени (гепатиты, циррозы, отравления), при гемолитических состояниях, кишечных заболеваниях, связанных с избыточным всасыванием стеркобилиногена слизистой оболочкой кишечника (энтероколиты, запоры).

## *Оформление работы*

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

Исследуемый материал	Окраска	Результат
Нормальная моча		
Моча с билирубином		

## **ТЕМА 11.3. НЕОРГАНИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА КРОВИ. КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Кровь занимает особое место в метаболизме благодаря ряду специфических функций, принадлежащих ее химическим компонентам. Незаменима роль крови в газообмене и регуляции кислотно-основного состояния организма, нарушения которых часто встречаются в клинической практике.

### **ЦЕЛЬ**

Изучение кислотно-основного состояния крови и механизмов компенсации его нарушений.

## ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

### 1. Электролиты плазмы крови:

- Макроэлементы: натрий, калий, кальций, фосфор, железо, хлор. Каково их распределение и значение в организме? Укажите нормальные концентрации в плазме крови. От каких факторов зависит их концентрация в плазме крови?
- Микроэлементы: йод, медь, цинк, кобальт, марганец, магний, селен. Назовите примеры участия этих элементов в обмене веществ.

2. Механизм транспорта углекислого газа. В каком виде переносится углекислый газ? Роль карбоангидразы. Роль эритроцита в изменении концентрации бикарбонат-ионов плазмы.

3. Механизм транспорта кислорода. Как кислород связывается с гемоглобином? Кривая насыщения гемоглобина кислородом.

4. Схема реакций, происходящих в эритроците в капиллярах легких и капиллярах тканей.

5. Показатели кислотно-основного состояния. Их нормальные величины (прил. 2).

6. Химические механизмы регуляции кислотно-основного состояния. Каким образом работают буферные системы крови – фосфатная, белковая, бикарбонатная, гемоглобиновая? Химические реакции.

7. Характеристика физиологических систем компенсации нарушения кислотно-основного состояния – роль легких, почек, печени и костной ткани. Каким образом они работают?

8. Влияние секреции желудка и поджелудочной железы на кислотно-основное состояние организма.

9. Основные виды нарушений кислотно-основного состояния – дыхательный ацидоз и алкалоз, метаболический ацидоз и алкалоз, причины, их вызывающие. Изменение показателей кислотно-основного состояния при данных нарушениях. Способы компенсации нарушений.

10. Причины сдвигов кислотно-основного равновесия при нижеперечисленных состояниях, способы их химической и физиологической компенсации:

- сахарный диабет,
- пневмония,
- тканевая гипоксия,
- хроническая почечная недостаточность (снижение функции почек),

- отравление этанолом,
  - неукротимая рвота,
  - диарея,
  - приступ бронхиальной астмы,
  - хронический бронхит
- черепно-мозговая травма с возбуждением дыхательного центра,
  - подъем высоко в горы,
  - правожелудочковая сердечная недостаточность.

## **РАЗДЕЛ 12**

# **БИОХИМИЯ ПОЧЕК И ПЕЧЕНИ**

### **ТЕМА 12.1. ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН. НОРМАЛЬНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ МОЧИ**

#### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Почки участвуют в регуляции водно-солевого баланса, поддержании кислотно-основного состояния, осмотического давления жидкостей организма, артериального давления, стимуляции эритропоэза.

Объем и состав образуемой в почках мочи может меняться в значительных пределах, отражая состояние водно-солевого обмена и других сторон метаболизма организма. Обследование каждого больного, не только в стационаре, но и в амбулаторных условиях должно сопровождаться обязательным анализом мочи, так как это исследование может помочь в постановке диагноза, а нередко совершенно изменить первоначальные диагностические предположения, оценить эффективность проводимой терапии.

#### **ЦЕЛЬ**

Изучение механизмов образования мочи, общих свойств и химического состава мочи в норме и при патологии, роли почек в поддержании кислотно-основного состояния.

Приобретение навыков определения физико-химических свойств и количественного состава мочи.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Метаболизм почек. Роль почек в синтезе биологически активных веществ (креатин, эритропоэтин, 1,25-дигидроксихолекальциферол).
2. Роль ферментов в реализации функции почек – глицинамидин-трансфераза, глутаматдегидрогеназа, глутаминаза, щелочная фосфатаза, изоферменты лактатдегидрогеназы.
3. Схема строения нефрона. Процессы образования мочи: фильтрация, реабсорбция и секреция. Места действия и эффект гормонов, регулирующих водно-солевой обмена.

4. Характеристика фильтрации, факторы, влияющие на ее скорость и величину. Оценка скорости фильтрации в клинической практике. Клиренс. Вещества, используемые для определения клиренса.
5. Оценка скорости клубочковой фильтрации в клинко-лабораторной диагностике. В чем состоит определение клиренса по креатинину?
6. Реабсорбция веществ. Транспорт максимум для глюкозы.
7. Регуляция реабсорбции воды. Роль антидиуретического гормона. Факторы, стимулирующие его синтез и выделение. Метаболические последствия гипофункции антидиуретического гормона, клинические проявления.
8. Регуляция реабсорбции натрия. Активация и функционирование ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Схема, отражающая роль ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в реабсорбции натрия.
9. Регуляция реабсорбции кальция. Роль 1,25-дигидроксикальциферола, паратгормона и кальцитонина в обмене кальция.
10. Роль почек в поддержании кислотно-основного состояния.
11. Общие свойства мочи здорового человека: количество, цвет, прозрачность, запах, относительная плотность, рН. Как изменяются эти показатели при патологических состояниях?
12. Органические и неорганические компоненты мочи здорового человека.
13. Патологические компоненты мочи – белок, глюкоза, билирубин, кетоновые тела, кровь.
14. Принцип методов определения физико-химических свойств мочи (относительная плотность, величина рН). Клинико-диагностическое значение этих показателей. Нормальные величины.
15. Принцип лабораторного определения компонентов мочи – белок, глюкоза, кетоновые тела, билирубин, уробилиноген, гемоглобин, эритроциты. Клинико-диагностическое значение, нормальные величины.

Лабораторная работа 1  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ  
СВОЙСТВ МОЧИ И ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННЫЙ  
АНАЛИЗ СОСТАВА МОЧИ**

Для определения показателей в моче используется анализатор мочи Uriscreeen и тест-полоски «Hospitex Diagnostics».

*Материал исследования*

Нормальная моча (№ 1) и образцы мочи № 2, 3, 4.

*Оборудование*

Анализатор мочи Uriscreeen.

*Определение рН*

*Принцип*

Основан на изменении цвета индикатора тест-полоски в соответствии с рН образца мочи.

*Нормальные величины*

Моча	5,5–7,5
------	---------

*Влияющие факторы*

При преимущественно белковом питании рН мочи кислая, при растительной диете – щелочная. Кислая рН мочи обусловлена, прежде всего, ионами  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  и  $\text{NH}_4^+$ , а щелочная – ионами  $\text{HCO}_3^-$ .

*Клинико-диагностическое значение*

Преобладание в пище животных белков определяет сдвиг рН мочи в кислую сторону, преобладание растительной пищи – в щелочную.

Резко кислая реакция мочи наблюдается при лихорадочных состояниях, сахарном диабете, голодании и т.д. Щелочная реакция мочи отмечается при циститах и пиелитах, сильной рвоте, диарее (поносе), введении бикарбоната натрия и употреблении щелочных минеральных вод.

рН мочи определяет возможность образования тех или иных типов мочевых камней. Мочекислые камни (уратные) чаще всего образуются при рН ниже 5,5, оксалатные – при рН 5,5–6,0, кальций-фосфатные – при рН 7,0–7,8.

## Определение относительной плотности

### Нормальные величины

Моча 1,010–1,025

### Клинико-диагностическое значение

Относительная плотность нормальной мочи прямо зависит от концентрации растворимых веществ и находится в обратной связи с количеством выделяемой мочи.

Увеличение относительной плотности мочи отмечается при сахарном диабете (глюкозурия), поражении гломерулярного фильтра (протеинурия).

Снижение плотности связано с полиурией любой этиологии.

## Определение содержания глюкозы

### Принцип

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

### Нормальные величины

#### Моча

Глюкоза тест-полоски  
«Hospitex Diagnostics» проба отрицательна

### Клинико-диагностическое значение

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

Глюкозурии могут быть физиологическими и патологическими.

К физиологическим относятся алиментарная глюкозурия, глюкозурия беременных и нейрогенная глюкозурия на почве стрессовых состояний.

Патологическая глюкозурия обнаруживается:

- при гипергликемии – сахарный диабет, тиреотоксикоз, акромегалия, гиперплазия коры надпочечников, инфаркт;

- при повреждениях почечных канальцев – пиело- и гломерулонефриты, токсические поражения почек, почечный диабет (семейная почечная глюкозурия), нефропатии.

### *Определение содержания белка*

#### *Принцип*

Тест основан на изменении цвета зоны индикации тест-полоски с желтого до зелено-голубого кислотно-основных индикаторов (тетрабромфенолового синего и эфира тетрабромфенолфталеина) под влиянием белков. Проба наиболее чувствительна к альбуминам, значительно менее чувствительна к глобулинам, мукопротеинам, гемоглобину. При сильно щелочном рН мочи проба может давать ложноположительные результаты.

#### *Нормальные величины*

##### Моча

Белок	тест-полоски «Hospitex Diagnostics»	проба отрицательна
-------	--	--------------------

#### *Клинико-диагностическое значение*

Небольшое количество белка в суточной моче обнаруживается и у практически здоровых лиц, однако в разовой порции мочи такие концентрации обычными методами не выявляются. Часть этих белков сывороточного происхождения, другая часть является продуктом клеток.

Принято подразделять протеинурию в зависимости от места возникновения:

- преренальную, связанную с усиленным распадом белка тканей или выраженным гемолизом;
- ренальную, обусловленную патологией клубочков или канальцев почек;
- постренальную, связанную с воспалением мочевыводящих путей.

### *Определение крови*

Кровь в моче может находиться в двух видах – в виде клеток крови (гематурия, эритроцитурия) или в виде гемоглобина (гемоглобинурия).

### *Принцип*

Зона индикации тест-полосок содержит органический гидропероксид (куменовый пероксид водорода) и индикатор тетраметилбензидин. Гемоглобин катализирует окисление индикатора гидропероксидом с образованием окрашенных в сине-зеленый цвет продуктов.

В присутствии свободного гемоглобина (гемоглобинурия или гемолиз присутствовавших первично эритроцитов) вся сенсорная зона окрашивается в гомогенный сине-зеленый цвет.

Неизмененные (целые) эритроциты (микрогематурия) проявляются интенсивно окрашенными сине-зелеными точками или пятнышками на неокрашенной реагентной зоне или равномерной сине-зеленой окраской всей зоны (макрогематурия).

При отрицательной реакции зона индикации остается желтой (без зеленого оттенка).

### *Нормальные величины*

#### Моча

Эритроциты и гемоглобин	дети	проба отрицательна
	взрослые	проба отрицательна

### *Клинико-диагностическое значение*

Единичные эритроциты могут обнаруживаться в моче здоровых людей. У практически здоровых людей в сутки выделяется до 1 миллиона эритроцитов, что соответствует содержанию в 1 мкл мочи 1 эритроцита.

Гематурия обнаруживается при поражении паренхимы почки (гломерулонефрит, пиелонефрит, опухоли), при тяжелой физической нагрузке, при поражении мочевыводящих путей.

### *Определение кетоновых тел*

### *Принцип*

Тест основан на индикации с помощью тест-полосок, содержащих щелочной буфер в смеси с нитропруссидом натрия, дающий с ацетоном и ацетоуксусной кислотой красное, вишневое или фиолетовое окрашивание. Проба более чувствительна к ацетоуксусной кислоте, чем к ацетону. С  $\beta$ -гидроксимасляной кислотой индикатор не реагирует. Таким образом, интенсивность окраски отражает только концентрацию ацетоуксусной кислоты в моче.

## *Нормальные величины*

### Моча

Кетоновые тела тест-полоски  
«Hospitex Diagnostics» проба отрицательна

### *Клинико-диагностическое значение*

Кетоновые тела в моче (кетонурия) появляются при кетонемии, которая возникает при голодании, сахарном диабете, при повышении концентрации адреналина и глюкагона в крови.

### *Определение билирубина*

#### *Принцип*

Тест основан на реакции сочетания билирубина со стабилизированным диазореактивом (тема 11.2). Реакционная зона тест-полоски содержит *n*-нитрофенилдиазониевый-*n*-толуолсульфонат, натриевый бикарбонат и сульфосалициловую кислоту. При контакте с конъюгированным (прямым) билирубином через 30 сек появляется сиреневато-бежевая (сиреневато-розовая) окраска, интенсивность которой зависит от количества определяемого билирубина.

## *Нормальные величины*

### Моча

Билирубин проба отрицательна

### *Клинико-диагностическое значение*

Появление билирубина в моче связано с механической и паренхиматозной желтухами, при которых из крови в мочу фильтруется прямой билирубин.

### *Определение уробилиногена*

#### *Принцип*

Определение уробилиногена основано на реакции азосочетания уробилиногена со стабилизированной солью диазония. Реакционная зона тест-полоски меняет цвет в присутствии уробилиногена на розовый или красный.

## *Нормальные величины*

### Моча

Уробилиноген до 17,0 мкмоль/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Повышение концентрации уробилиногена в моче наблюдается при паренхиматозных заболеваниях печени (гепатиты, циррозы), при гемолитических состояниях, кишечных заболеваниях, связанных с избыточным всасыванием стеркобилиногена слизистой оболочкой кишечника (энтероколиты, запоры).

### *Проведение анализа*

#### *1. Подготовительный этап*

а) включить анализатор с помощью тумблера на задней панели прибора. Дождаться окончания самопроверки прибора;

б) тест-полоску погрузить в пробирку с образцом мочи на 1–2 секунды. Излишки образца мочи удалить, промокнув край тест-полоски о фильтровальную бумагу.

#### *2. Количественное определение изучаемых показателей*

а) поместить тест-полоску в держатель на передней панели прибора;

б) нажать кнопку «Start», по истечению времени для прохождения реакции в реакционных зонах тест-полоски, прибор выполнит измерение и распечатает результат измерения.

### *Оформление работы*

Записывают принцип методов и результаты исследования. Делают выводы о возможной патологии организма.

Показатель	Исследуемый образец			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
рН				
Относительная плотность				
Глюкоза				
Белок				
Эритроциты и гемоглобин				
Кетоновые тела				
Билирубин				
Уробилиноген				

## **ТЕМА 12.2. УЧАСТИЕ ПЕЧЕНИ В МЕТАБОЛИЗМЕ ВЕЩЕСТВ. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ (СЕМИНАР)**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Печень является центральным звеном метаболизма человека, регулирующим углеводный, липидный, белковый и другие обмены веществ. Гепатоцит является лидирующим в биотрансформации ксенобиотиков и продуктов метаболизма. Участие печени в реализации указанных процессов важно для поддержания гомеостаза организма.

### **ЦЕЛЬ**

Обобщение участия печени в углеводном, липидном и белковом обменах и механизмах биотрансформации ксенобиотиков.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ**

1. Функции печени.
2. Участие печени в углеводном обмене. Процессы поддержания гомеостаза глюкозы крови, клинико-лабораторные показатели, нарушения.
3. Участие печени в липидном обмене. Роль печени в синтезе и транспорте эндогенных триацилглицеролов и холестерина, клинико-лабораторные показатели, нарушения. Какие липопротеины образуются в печени?
4. Роль печени в синтезе альбуминов и глобулинов крови, белков свертывающей системы, плазмоспецифичных ферментов, клинико-лабораторные показатели, нарушения.
5. Роль печени в синтезе биологически активных веществ на экспорт (креатин, 25-гидроксиколекальциферол), в образовании желчных кислот и желчных пигментов. Состав желчи и ее роль в пищеварении.
6. Ксенобиотики: свойства, пути поступления в организм.
7. Биотрансформация ксенобиотиков. Фазы биотрансформации. Факторы, влияющие на биотрансформацию.
8. Первая фаза биотрансформации – реакции микросомального окисления. Роль НАДФН, цитохрома P<sub>450</sub>, цитохрома b<sub>5</sub>.
9. Вторая фаза биотрансформации – реакции конъюгации. Строение УДФ-глюкуроновой кислоты (УДФГК) и фосфоаденозин-

фосфосульфата (ФАФС). Реакции образования прямого билирубина, животного индикана.

10. Причина усиления токсичных свойств соединений в результате биотрансформации.

11. Отличия микросомального от биологического окисления.

12. Примеры биотрансформации некоторых лекарственных средств.

## **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ИТОГОВОМУ ЗАНЯТИЮ (ПО РАЗДЕЛАМ 10, 11, 12)**

1. Иерархия регуляторных систем. Место гормонов в регуляции метаболизма и функции органов.

2. Отличия мембранного и цитозольного механизмов передачи гормонального сигнала в клетку.

3. Мембранные механизмы передачи гормонального сигнала в клетку. Три вида рецепторов: с ферментативной активностью, с ионопроводящей активностью и связанные с G-белками.

4. Охарактеризуйте рецепторы, связанные с G-белками:

- системы вторичных посредников и их взаимодействие,
- аденилатциклазный механизм действия гормонов,
- кальций-фосфолипидный механизм действия гормонов.

5. Общая характеристика гуанилатциклазного механизма действия гормонов.

6. Цитозольный механизм действия гормонов.

7. Классификация гормонов по химическому строению, биологическим функциям и принадлежности к эндокринным железам. Роль либеринов, статинов, тропных гормонов. В чем заключается обратная отрицательная связь в регуляции синтеза и действия гормонов?

8. Характеристика соматотропного гормона: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ и воды. Как регулируются синтез и секреция гормона? Состояния, связанные с нарушением действия гормона.

9. Характеристика антидиуретического гормона (вазопрессин): химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ и воды. Регуляция синтеза и секреции гормона. Состояния, обу-

словленные нарушением действия гормона.

10. Характеристика окситоцина: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, эффекты. Как регулируются синтез и секреция гормона?

11. Характеристика паратгормона и кальцитонина: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен кальция и фосфатов. Регуляция синтеза и секреции гормонов. Какова их роль в обмене кальция, фосфатов и кальцитриола?

12. Гормоны поджелудочной железы глюкагон и инсулин: их химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов (ферменты, регулируемые гормонами). Регуляция синтеза и секреции гормонов. Состояния, обусловленные недостатком (отсутствием) или избытком действия гормона.

13. Современные представления о механизмах развития инсулинзависимого и инсулиннезависимого сахарного диабета. Важнейшие изменения гормонального статуса и обмена веществ при сахарном диабете, биохимические механизмы развития осложнений сахарного диабета.

14. Характеристика тиреотропного гормона: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, эффекты. Как регулируются синтез и секреция гормона?

15. Гормоны щитовидной железы (тироксин и трийодтиронин): химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов. Как регулируется синтез и секреция гормонов? Состояния, обусловленные недостатком (отсутствием) или избытком действия гормона.

16. Адреналин: химическая природа, реакции синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов (ферменты, регулируемые гормоном). Регуляция синтеза и секреции гормона. Состояния, обусловленные нарушением действия гормона.

17. Характеристика адренокортикотропного гормона: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ. Как регулируются синтез и секреция гормона? Состояния, обусловленные от-

сутствием или избытком действия гормона.

18. Глюкокортикоиды: химическая природа, место и схема синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов (ферменты, регулируемые гормоном). Регуляция синтеза и секреции гормонов. Состояния, обусловленные недостатком (отсутствием) или избытком действия гормона.

19. Минералокортикоиды: их химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен электролитов и воды. Каким образом регулируются синтез и секреция гормонов? Роль ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Состояния, обусловленные недостатком (отсутствием) или избытком действия гормона.

20. Лактотропный гормон: химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен веществ. Как регулируются синтез и секреция гормона?

21. Характеристика гонадотропных гормонов: фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны: химическая природа, место синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия. Регуляция синтеза и секреции гормонов.

22. Андрогены и эстрогены: химическая природа, место и этапы синтеза, органы-мишени, локализация рецепторов и механизм действия, влияние на обмен углеводов, белков, липидов. Как регулируются синтез и секреция гормонов?

23. Понятие общего белка крови, фракции, входящие в его состав. Физиологические функции белков крови, нормальные показатели их концентрации. Причины изменения концентрации общего белка в крови.

24. Белковые фракции сыворотки крови. Характеристика альбуминов, причины гипо-, гипер- и аальбуминемий. Глобулины и их основные фракции. Основные представители глобулиновых фракций (прил. 1). Биологическая роль альбуминов и глобулинов. Диспротеинемии и парапротеинемии. Причины изменения концентрации белковых фракций в крови. Изменение соотношения белковых фракций при заболеваниях печени, почек, остром и хроническом воспалении, опухолях (типы протеинограмм).

25. Небелковые азотсодержащие компоненты крови – фракции остаточного азота, их характеристика. Роль и метаболизм моче-

вины, креатина, креатинина, мочевой кислоты. Клинико-диагностическое значение определения этих веществ в крови, их нормальные показатели. Причины и последствия гипераммониемий и азотемий.

26. Характеристика ферментов крови – плазмоспецифичные, индикаторные, экскреторные ферменты. Примеры. Использование ферментов крови для диагностики заболеваний.

27. Принцип разделения белков сыворотки крови методом электрофореза.

28. Особенности метаболизма эритроцита. Роль гликолиза и пентозофосфатного пути.

29. Метаболизм железа. Пищевые источники, нормы потребления, транспорт, депонирование и мобилизация, роль трансферрина и ферритина.

30. Строение молекулы гемоглобина. Строение гема. Нормальные и патологические формы гемоглобина. Механизм регуляции сродства гемоглобина к кислороду. Роль 2,3-дифосфоглицерата.

31. Реакции синтеза гема и гемоглобина. Регуляция процессов синтеза. Характеристика нарушений обмена гемоглобина – порфирии.

32. Реакции распада гема, образования билирубина и билирубин-глюкуронида, их локализация. Основные этапы превращения желчных пигментов в организме. Пути выведения билирубина и других желчных пигментов.

33. Нарушения обмена желчных пигментов. Лабораторные критерии различных видов желтух (гемолитические, паренхиматозные, обтурационные).

34. Нарушения пигментного обмена у детей: 1) гемолитические желтухи; 2) физиологические желтухи новорожденных и доношенных; 3) наследственные нарушения обмена билирубина – синдромы Жильбера–Мейленграхта, Дубина–Джонсона, Криггера–Найара.

35. Принцип метода обнаружения билирубина и уробилиногена в моче. Клинико-диагностическое значение.

36. Методы количественного определения общего билирубина и его фракций в сыворотке крови, клинико-диагностическое значение.

37. Дыхательная функция крови. Механизмы транспорта кислорода и углекислого газа.

38. Характеристика показателей кислотно-основного состояния (прил. 2). Химические и физиологические механизмы регуляции кислотно-основного состояния. Взаимосвязь транспорта кислорода и углекислого газа с механизмами поддержания кислотно-основного состояния.

39. Роль почек в регуляции кислотно-основного состояния: реабсорбция бикарбонатов, аммионогенез.

40. Нарушения кислотно-основного состояния, его причины, изменение показателей кислотно-основного состояния. Способы компенсации при различных нарушениях кислотно-основного состояния.

41. Характеристика биохимических процессов в нефроне. Особенности реабсорбции и секреции электролитов и воды в различных отделах нефрона. Роль гормонов в процессах реабсорбции.

42. Состав и физико-химические свойства мочи. Нормальные и патологические компоненты мочи, их клинико-диагностическое значение, нормальные показатели.

43. Принцип методов и ход определения физико-химических свойств мочи:

- определение относительной плотности мочи;
- определение рН мочи.

44. Принцип методов и ход определения патологических компонентов мочи:

- определение концентрации глюкозы, белка, крови, кетонных тел, билирубина, уробилиногена.

45. Биохимия печени: функции, роль в пищеварении и метаболизме. Участие печени в углеводном, липидном, белковом обменах, в синтезе биологически активных веществ.

46. Роль печени в обезвреживании чужеродных соединений (ксенобиотиков) и эндогенных метаболитов. Микросомальное окисление чужеродных соединений (ксенобиотиков). Ферменты. Отличие от биологического окисления.

47. Роль цитохрома P<sub>450</sub> в образовании гидроксильных групп при синтезе желчных кислот, стероидных гормонов, катаболизме ряда веществ.

48. Реакции конъюгации в печени. Примеры обезвреживания чужеродных веществ и продуктов гниения белков в кишечнике (фенол, бензол, крезол, скатол, индол).

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

### Основная

1. Биохимия: учебник для студентов медицинских вузов / под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 768 с.
2. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 1 т. – 696 с.
3. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 2 т. – 640 с.
4. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 3 т. – 448 с.

### Дополнительная

1. Березов Т.Т. Биологическая химия: учебник для студентов медицинских вузов / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – 3-е изд., стереотип. – Электрон. текстовые дан. – М.: Медицина, 2008. – 704 с.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Фракции белков	Основные представители белковых фракций	Белки острой фазы
Альбумины	Пре- и постальбумины. Альбумин	
	$\alpha_1$ -Липопротеин $\alpha_1$ -Кислый серомукоид $\alpha_1$ -Гликопротеин Транскортин	$\alpha_1$ -Гликопротеин
	$\alpha_1$ Протромбин Антиплазмин $\alpha_1$ -Антитрипсин Витамин В <sub>12</sub> -связывающий белок	$\alpha_1$ -Антитрипсин
	С-реактивный белок Гаптоглобин (Нр-1, Нр-1-2, Нр-2-2) Церулоплазмин	С-реактивный белок
Глобулины	$\alpha_2$ $\alpha_2$ -Липопротеин $\alpha_2$ -НС-гликопротеин $\alpha_2$ -Макроглобулин Холинэстераза Щелочная фосфатаза Проакцелерин Фактор Кристмаса	$\alpha_2$ -Макроглобулин Гаптоглобин Церулоплазмин
	$\beta_1$ А-глобулин $\beta$ -Липопротеин $\beta_1$ В-глобулин Трансферрин Плазминоген Проконвертин Фибриноген Компоненты комплемента С <sub>1</sub> -С <sub>4</sub> , С <sub>9</sub> Гемопексин	Трансферрин Компоненты комплемента С <sub>1</sub> -С <sub>4</sub> , С <sub>9</sub>
	$\gamma$ G-иммуноглобулин А-иммуноглобулин D-иммуноглобулин Е- иммуноглобулин	

## ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

### *Фибриноген*

Фибриноген синтезируется в печени. Является белком свертывания крови.

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови 2,0–4,0 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Повышение концентрации вызывают острые воспалительные процессы и сердечно-сосудистые заболевания (атеросклероз). Снижение – гиперфибринолиз (ДВС-синдром) или наследственная недостаточность.

## **$\alpha_1$ -ГЛОБУЛИНЫ**

### *Кислый $\alpha_1$ -гликопротеин*

Кислый  $\alpha_1$ -гликопротеин (орозомукоид) обладает кислыми свойствами и содержит высокие количества углеводов. Белок имеет высокое сродство к полианионам (например, к гепарину) и, вероятно, регулирует количество свободного гепарина в плазме.  $\alpha_1$ -Гликопротеин связывает лекарства (например, пропранолол и лидокаин), стероиды (прогестерон, тестостерон). Синтезируется в печени.

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови 0,55–1,40 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Повышение уровня белка в крови отмечается при острых и хронических воспалительных процессах, ревматоидном артрите, злокачественных опухолях, лихорадочных состояниях, травмах, инфаркте миокарда, физической нагрузке, беременности, нефротическом синдроме.

### *$\alpha_1$ -Антитрипсин*

$\alpha_1$ -Антитрипсин – гликопротеин, образуется в печени, белок острой фазы, является ингибитором протеиназ (трипсина, химот-

рипсина, калликреина, плазмина) и обуславливает 92–94% от общей антипротеолитической функции крови. Аутосомно-рецессивно наследуемый недостаток его в крови является одним из факторов патогенеза эмфиземы легких, бронхоэктазий и хронического бронхита, ранних циррозов печени. Очевидно, что отсутствие ингибитора приводит к неограниченному протеолизу клеток в зоне воспаления, что удлиняет и углубляет деструктивные процессы в тканях.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови 2,0–2,4 г/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Концентрация в крови возрастает при острых инфекциях, воспалительных процессах, злокачественных образованиях, действии гормонов (беременность, стероидная терапия), системной красной волчанке и злокачественных новообразованиях.

#### *$\alpha_1$ -Антихимотрипсин*

$\alpha_1$ -Антихимотрипсин является одним из реагирующих первыми белков острой фазы (уровень в сыворотке может удваиваться в течение нескольких часов), представляет собой слабый специфический ингибитор химотрипсина, вместе с тем отмечена его активность по отношению и к другим протеазам.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови 0,3–0,6 г/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Увеличение концентрации белка обусловлено острофазовыми реакциями: воспаление, травма после хирургической операции, инфаркт миокарда, бактериальные инфекции.

## **$\alpha_2$ -ГЛОБУЛИНЫ**

#### *C-реактивный белок*

C-реактивный белок (СРБ) по происхождению является мезенхимальным белком, который подвергся частичной денатурации вследствие распада тканей при воспалительных и деструктивных процессах. Он принимает участие в активации классического пути комплемента, иммунных реакций, является

ингибитором агрегации тромбоцитов, связывает липиды, углеводы, участвует в работе каталазы.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови до 6 мг/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Концентрация этого белка острой фазы быстро повышается в 15–25 раз при острых и хронических инфекциях, некрозе клеток, инфаркте миокарда, ревматоидном артрите, подагре.

#### *Гаптоглобин*

Гаптоглобин – белок острой фазы, синтезируется в печени. Обладает следующими функциями: связывает свободный гемоглобин плазмы и предохраняет организм от потери железа, данный комплекс разрушается в клетках РЭС и печени; выполняет неспецифическую защитную функцию, комплексируясь с белковыми и небелковыми веществами, появляющимися при распаде клеток; является естественным ингибитором катепсина В; участвует в транспорте витамина В<sub>12</sub>. Гаптоглобин в низких концентрациях присутствует во многих жидкостях организма: ликворе, лимфе, синовиальной жидкости, желчи.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови 0,8–2,7 г/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Концентрация белка неспецифически *повышается* в ответ на повреждение ткани, воспаление, опухолевый процесс (особенно с метастазами). Высокие показатели наблюдаются при сахарном диабете, нефротическом синдроме, пиелонефрите, ожогах, острых и хронических воспалительных состояниях, некрозе тканей, инфаркте миокарда, активных аутоиммунных заболеваниях, системных ревматоидных заболеваниях.

*Снижение* количества белка отмечено при поражении паренхимы печени, гемолитических анемиях. Уровень гаптоглобина считается чувствительным показателем гемолитических состояний: высвобождение гемоглобина вызывает снижение концентрации гаптоглобина.

### *α<sub>2</sub>-Макроглобулин*

α<sub>2</sub>-Макроглобулин – высокомолекулярный цинксодержащий белок, состоит из 4 идентичных субъединиц и включает углеводный компонент, синтезируется в печени. Является ингибитором протеиназ (как свертывающей системы крови, так и других) – плазмина, пепсина, трипсина, химотрипсина, эндопептидаз, катепсина D, тромбина, калликреина. Транспортирует ферменты и гормоны, рецептор лимфоцитов, оказывает иммуномодулирующее действие.

#### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	дети (1–3 года)	около 4,5 г/л
	мужчины	1,50–3,50 г/л
	женщины	1,75–4,20 г/л

#### *Клинико-диагностическое значение*

Белок контролирует развитие инфекций и воспалительных процессов. *Повышение* его уровня выявляется при циррозе печени, остром и хроническом гепатите, беременности, врожденных пороках сердца, эндокринных заболеваниях (сахарный диабет, микседема), бронхопневмонии, нефротическом синдроме. *Снижение* – при ревматическом полиартрите, потере белка или недостаточности его в питании, диссеминированном свертывании крови, фибринолитической терапии, остром панкреатите, инфаркте миокарда, язвах желудка и двенадцатиперстной кишки.

### *Церулоплазмин*

Церулоплазмин содержит 8 атомов меди. Это белок острой фазы, регулятор обмена меди в организме (комплексирует 90% всей меди плазмы) – транспортирует ионы меди из печени в другие органы. Церулоплазмин является оксидазой полифенолов и диаминов, способствует насыщению железом апотрансферрина, участвует в обмене биогенных аминов (адреналина, норадреналина, серотонина) и аскорбиновой кислоты, регулирует уровень симпатических медиаторов мозга, как сывороточный антиоксидант обезвреживает супероксидные радикалы кислорода, восстанавливает O<sub>2</sub> до воды и предотвращает окисление ненасыщенных жирных кислот.

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови 0,15–0,50 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

*Повышенные* результаты определяются при ревматоидном артрите, системной красной волчанке, хронических воспалительных процессах, холестазах, гепатите, циррозе печени, инфаркте миокарда, острых инфекциях, злокачественных новообразованиях с метастазами, при меланоме, шизофрении

*Уменьшение* показателя выявлено при снижении синтеза фермента (болезнь Вильсона-Коновалова), повышенной потере (заболевания ЖКТ, нефротический синдром), уменьшении абсорбции в кишечнике (нарушения всасывания, недостаточность питания).

## **β-ГЛОБУЛИНЫ**

### *Семейство трансферринов*

К белкам семейства трансферринов принадлежит собственно белок под названием трансферрин, также овотрансферрин, лактоферрин, меланотрансферрин и ряд других.

Белки этого семейства, связывая ионы железа (III) и препятствуя их восстановлению, представляют собой важный компонент антиоксидантной защиты организма. Кроме этого, связывание железа трансферринами препятствует его использованию микроорганизмами, что обуславливает бактериостатическую активность этих белков.

### *Трансферрин*

Трансферрин синтезируется в печени и ретикулоэндотелиальной системе. Трансферрин транспортирует трехвалентное железо вместе с анионом гидрокарбоната из двенадцатиперстной кишки и селезенки ко всем тканям.

В норме железом насыщено только 1/3 общего количества трансферрина.

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	дети	2,0–3,6 г/л
	мужчины	2,1–3,6 г/л
	женщины	2,5–3,8 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Концентрация повышается при недостатке железа в организме, беременности, приеме эстрогенов, липоидном нефрозе.

Снижение наблюдается при наследственной недостаточности синтеза, приеме тестостерона, нефрозах, малярии, гемохроматозе, недоедании, опухолях.

### *Лактоферрин*

Белок широко представлен в плазме крови, секреторных жидкостях: молоко, слюна, слеза, желчь, секреты носовых и бронхиальных желез.

Главной биологической функцией лактоферрина является связывание и транспорт ионов железа, но также белок обладает широкой антибактериальной, противовирусной и антигрибковой активностью.

### *Нормальные величины*

Сыворотка крови	0,2–0,6 мг/л
Женское молоко	до 7,0 г/л

### *Клинико-диагностическое значение*

Увеличение содержания белка в крови отмечается при беременности, гестозах, кожных заболеваниях, злокачественных новообразованиях ЖКТ.

**НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ ИЗУЧЕННЫХ  
БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ**

*Сыворотка крови*

Показатель	Пол, возраст, другое	Нормальные величины
Амилаза		16–30 г/л·ч
Активность АЛАТ		0,10–0,68 ммоль/л·ч
Активность АсАТ		0,10–0,45 ммоль/л·ч
Коэффициент де Ритиса		1,33±0,40
Остаточный азот		14,3–28,6 ммоль/л
Мочевина	Дети	1,8–6,4 ммоль/л
	Взрослые	2,5–8,3 ммоль/л
Креатинин	Дети	
	до 1 года	18–35 мкмоль/л
	от 1 года до 12 лет	27–62 мкмоль/л
	Взрослые	
	женщины	44–97 мкмоль/л
	мужчины	52–132 мкмоль/л
Мочевая кислота		0,12–0,32 ммоль/л
	Мясная диета	0,16–0,45 ммоль/л
Белок общий	Дети	
	новорожденные	51–60 г/л
	дети до 1 года	51–73 г/л
	дети от 1 года до 3 лет	54–85 г/л
	старшие	65–85 г/л
	Взрослые	65–85 г/л
Фракции белков		
альбумины		30–50 г/л 50–70%
α <sub>1</sub> -глобулины		1–3 г/л 3–6%
α <sub>2</sub> -глобулины		6–10 г/л 9–15%
β-глобулины		7–11 г/л 8–18%
γ-глобулины		8–16 г/л 15–25%
Коэффициент альбумины/глобулины		1,2–1,8
Коэффициент альбумины/α <sub>1</sub> +α <sub>2</sub> -глобулины		3,9–6,1
Тимоловая проба		0–4 ед. S-N
С-реактивный белок		до 6 мг/л
Глюкоза		
	Сыворотка крови	3,5–5,5 ммоль/л
	Капиллярная кровь	3,3–5,5 ммоль/л

Тест толерантности к глюкозе			
	Натошак	3,5–5,5 ммоль/л	100%
	Через 60 мин	5,3–9,6 ммоль/л	150–175%
	Через 120 мин	ниже 5,3 ммоль/л	около 100%

Триацилглицеролы	Дети		0,15–1,56 ммоль/л
		0–5 лет	0,2–1,1 ммоль/л
		6–11 лет	0,3–1,3 ммоль/л
		12–15 лет	0,4–1,6 ммоль/л
		16–19 лет	0,5–1,8 ммоль/л
	Взрослые	20–29 лет	0,5–2,1 ммоль/л
		30–39 лет	0,5–3,2 ммоль/л
		40–49 лет	0,6–3,4 ммоль/л
		50–59 лет	0,6–3,4 ммоль/л
Холестерол общий	Дети	новорожденные	1,2–2,7 ммоль/л
		впоследствии	2,9–5,2 ммоль/л
	Взрослые	20–29 лет	3,70–6,51 ммоль/л
		30–39 лет	4,25–7,04 ммоль/л
		40–49 лет	4,37–7,70 ммоль/л
		старше 50 лет	4,55–8,24 ммоль/л

Тестостерон	Взрослые	женщины старше 10 лет	0,45–3,75 нмоль/л
		мужчины старше 14 лет	5,76–28,14 нмоль/л
Гемоглобин	Дети		100–140 г/л
	Взрослые	женщины	120–140 г/л
		мужчины	130–160 г/л
Общий билирубин	Взрослые		8,5–20,5 мкмоль/л
		Дети доношенные	
	возраст до 5 дней	< 205,2 мкмоль/л	
	впоследствии	3,4–17,1 мкмоль/л	
	Дети недоношенные		
кровь из пуповины	< 34,2 мкмоль/л		
возраст до 5 дней	< 273,6 мкмоль/л		
Прямой билирубин	Дети		отсутствие
	Взрослые		2,2–5,1 мкмоль/л

Калий	Дети	новорожденные	3,7–5,9 ммоль/л
		до 2 лет	4,1–5,3 ммоль/л

	старше 2 лет	3,4–4,7 ммоль/л
	Взрослые	3,5–5,1 ммоль/л
Натрий	Дети	
	новорожденные	134–146 ммоль/л
	дети	138–146 ммоль/л
	Взрослые	136–146 ммоль/л
Железо	Дети	
	новорожденные	17,9–44,8 мкмоль/л
	до 2 лет	7,1–17,9 мкмоль/л
	старше 2 лет	8,9–21,4 мкмоль/л
	Взрослые	
	мужчины	8,9–28,6 мкмоль/л
	женщины	7,1–26,8 мкмоль/л
Фосфаты	Дети	
	новорожденные	1,13–2,78 ммоль/л
	младшего возраста	1,45–2,16 ммоль/л
	школьного возраста	1,46–1,76 ммоль/л
	Взрослые	0,81–1,48 ммоль/л
Кальций		2,0–2,6 ммоль/л
Хлориды		97–108 ммоль/л

рН	Новорожденные	7,21–7,38
	Дети и взрослые	
	артериальная кровь	7,37–7,45
	венозная кровь	7,35–7,43
рСО <sub>2</sub>	Новорожденные и дети	27–41 мм рт.ст.
	Взрослые	
	мужчины	35–48 мм рт.ст. или 4,66–6,38 кПа
	женщины	32–45 мм рт.ст. или 4,26–6,00 кПа
Буферные основания		44–48 ммоль/л
Бикарбонаты	Новорожденные	17–24 ммоль/л
	Дети	19–24 ммоль/л
	Взрослые	
	артериальная кровь	21–28 ммоль/л
	венозная кровь	22–29 ммоль/л
Остаточные анионы		12–16 ммоль/л
Избыток буферных оснований	Новорожденные	от –10 до –2 ммоль/л
	Дети до 2 лет	от –7 до +1 ммоль/л
	Дети	от –4 до –2 ммоль/л
	Взрослые	
		от –2 до +3 ммоль/л

pO <sub>2</sub>	Взрослые	83–108 мм рт.ст. или 11,04–14,36 кПа
Оксигемоглобин (HbO <sub>2</sub> )	Взрослые	94–97%
Насыщение гемогло- бина кислородом (HbO <sub>SAT</sub> , SO <sub>2</sub> )	Новорожденные	40–90%
	Взрослые	94–98%
Лактат		0,5–2,2 ммоль/л

*Моча*

Мочевина		330–580 ммоль/сут
Креатинин		4,4–17,7 ммоль/сут
Мочевая кислота	обычная диета	1,46–4,43 ммоль/сут
	мясная диета	2,36–5,90 ммоль/сут
pH		5,5–7,5
Относительная плотность		1,010–1,025
Глюкоза		проба отрицательна
Белок		проба отрицательна
Эритроциты и гемоглобин		проба отрицательна
Кетоновые тела		проба отрицательна
Билирубин		проба отрицательна
Уробилиноген		до 17,0 мкмоль/л

Учебное издание

НОСАРЕВА Ольга Леонидовна  
СТЕПОВАЯ Елена Алексеевна  
ШАХРИСТОВА Евгения Викторовна  
СПИРИНА Людмила Викторовна

# **ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ**

**ДЛЯ СТУДЕНТОВ БАКАЛАВРИАТА ПО  
НАПРАВЛЕНИЮ ПОДГОТОВКИ  
06.03.01 – БИОЛОГИЯ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Редактор А.Ю. Коломийцев  
Технический редактор О.В. Коломийцева  
Обложка Е.В. Шахристова

Издательство СибГМУ  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107  
тел. +7 (3822) 901–101, доб. 1760  
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

---

Подписано в печать 20.02.2026 г.  
Формат 60×84  $\frac{1}{16}$ . Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Гарнитура «Times New Roman». Печ. л. 9,7. Авт. л. 5,5.  
Тираж 30 экз. Заказ № 6

---

Отпечатано в Издательстве СибГМУ  
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2  
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru