

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ**  
**«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Кафедра биохимии**

**А. И. ГРИЦУК, В. Т. СВЕРГУН,**  
**А. Н. КОВАЛЬ**

# **БИОХИМИЯ.**

# **ПРАКТИКУМ**

*Допущено Министерством образования Республики Беларусь  
в качестве учебного пособия для студентов  
учреждений высшего образования по медицинским специальностям*

**Гомель**  
**ГомГМУ**  
**2014**

УДК 577.1(076.5)

ББК 52.57я73

Г 85

***Рецензенты:***

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой биологической химии  
Белорусского государственного медицинского университета

***А. Д. Таганович;***

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой биохимии  
Гродненского государственного медицинского университета

***В. В. Лелевич***

**Грицук, А. И.**

Г 85 Биохимия. Практикум: учеб. пособие для студентов учреждений высшего образования по медицинским специальностям / А. И. Грицук, В. Т. Свергун, А. Н. Коваль. — Гомель: ГомГМУ, 2014. — 208 с.  
ISBN 978-985-506-620-1

Пособие включает краткие теоретические сведения, задания для самостоятельной работы студентов, описание лабораторных работ и ситуационные задачи. Предназначено для студентов высших медицинских учебных заведений, а также может быть полезным для студентов медико-биологического профиля университетов.

Утверждено и рекомендовано к изданию Центральным учебным научно-методическим советом учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» 28 июня 2012 г., протокол № 5.

**УДК 577.1(076.5)**

**ББК 52.57я73**

**ISBN 978-985-506-620-1**

© Учреждение образования  
«Гомельский государственный  
медицинский университет», 2014

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>5</b>
<b>ПРЕДИСЛОВИЕ .....</b>	<b>8</b>
<b>РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ.....</b>	<b>9</b>
<i>Занятие 1.</i> Вводное занятие. Современные биохимические методы исследования .....	9
<i>Занятие 2.</i> Строение и функции белков .....	11
<b>РАЗДЕЛ 2. ЭНЗИМОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ .....</b>	<b>15</b>
<i>Занятие 3.</i> Ферменты-1. Строение и функции белков. Строение, свойства, номенклатура и классификация ферментов.....	15
<i>Занятие 4.</i> Ферменты-2. Механизм действия ферментов.....	22
<i>Занятие 5.</i> Ферменты-3. Медицинская энзимология .....	27
<i>Занятие 6.</i> Биологическое окисление-1. Цикл Кребса. Пути потребления кислорода в организме .....	31
<i>Занятие 7.</i> Биологическое окисление-2. Тканевое дыхание. Окислительное фосфорилирование. Микросомальное и перекисное окисление .....	35
<i>Занятие 8.</i> Контрольное занятие по разделам «Введение в биохимию», «Энзимология и биологическое окисление» .....	40
<b>РАЗДЕЛ 3. БИОХИМИЯ УГЛЕВОДОВ.....</b>	<b>42</b>
<i>Занятие 9.</i> Углеводы-1. Химия углеводов. Переваривание и всасывание. Метаболизм гликогена, фруктозы и галактозы.....	42
<i>Занятие 10.</i> Углеводы-2. Тканевой обмен углеводов. Анаэробный и аэробный гликолиз .....	46
<i>Занятие 11.</i> Углеводы-3. Тканевой обмен углеводов. Глюконеогенез. Пентозофосфатный путь. Регуляция уровня глюкозы в крови.....	51
<i>Занятие 12.</i> Углеводы-4. Патология углеводного обмена .....	55
<i>Занятие 13.</i> Контрольное занятие по разделу «Биохимия углеводов».....	60
<b>РАЗДЕЛ 4. БИОХИМИЯ ЛИПИДОВ .....</b>	<b>62</b>
<i>Занятие 14.</i> Липиды-1. Классификация, биологические функции. Переваривание и всасывание. Обмен липопротеидов.....	62
<i>Занятие 15.</i> Липиды-2. Тканевой обмен липидов. Катаболизм триацилглицеролов. Метаболизм кетоновых тел.....	67
<i>Занятие 16.</i> Липиды-3. Биосинтез липидов. Регуляция и патология липидного обмена .....	73
<i>Занятие 16-Д.</i> (для студентов МДФ). Липиды-4. Патология обмена липопротеидов.....	77

<i>Занятие 17.</i> Контрольное занятие по разделу «Биохимия липидов».....	80
<i>Занятие 18.</i> Итоговое (зачетное) занятие семестра.....	81
<b>РАЗДЕЛ 5. БИОХИМИЯ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ....</b>	<b>84</b>
<i>Занятие 19.</i> Белки-1. Переваривание и всасывание белков .....	84
<i>Занятие 20.</i> Белки-2. Тканевый обмен аминокислот. Обезвреживание продуктов обмена .....	91
<i>Занятие 21.</i> Белки-3. Особенности обмена отдельных аминокислот в норме и при патологии .....	96
<i>Занятие 22.</i> Белки-4. Нуклеопротеиды. Структура и функции информационных макромолекул.....	102
<i>Занятие 23.</i> Белки-5. Биосинтез белка. Регуляция биосинтеза. Патология белкового обмена .....	108
<b>РАЗДЕЛ 6. БИОХИМИЯ ВИТАМИНОВ И ГОРМОНОВ.....</b>	<b>112</b>
<i>Занятие 24.</i> Витамины.....	112
<i>Занятие 25.</i> Гормоны-1. Общая эндокринология. Механизм действия гормонов.....	121
<i>Занятие 26.</i> Гормоны-2. Частная эндокринология. Гормоны эндокринных желез .....	127
<i>Занятие 27.</i> Контрольное занятие по разделам «Биохимия белков и нуклеиновых кислот» и «Биохимия витаминов и гормонов» .....	132
<b>РАЗДЕЛ 7. БИОХИМИЯ ОРГАНОВ И СИСТЕМ .....</b>	<b>136</b>
<i>Занятие 28.</i> Кровь-1. Основы регуляции кислотно-основного состояния. Белки крови.....	136
<i>Занятие 29.</i> Кровь-2. Обмен гемоглобина .....	140
<i>Занятие 30.</i> Биохимия почек в норме и при патологии.....	145
<i>Занятие 31.</i> Биохимия печени. Обмен ксенобиотиков .....	160
<i>Занятие 32.</i> Биохимия мышечной ткани и миокарда.....	164
<i>Занятие 33.</i> Биохимия нервной системы (семинар).....	172
<i>Занятие 34.</i> Биохимия соединительной ткани.....	177
<i>Занятие 35.</i> Контрольное занятие по разделу «Биохимия органов и систем» .....	182
<i>Занятие 36.</i> Итоговое занятие семестра. Контроль по практическим навыкам.....	185
<b>ОТВЕТЫ К ЗАДАЧАМ .....</b>	<b>186</b>
<b>СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ.....</b>	<b>189</b>

## СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ААП	— 4-аминоантипирин
АДГ	— антидиуретический гормон
АКРР	— аминокислоты с разветвленным радикалом
АКТГ	— адренокортикотропный гормон
АлАТ	— аланинаминотрансфераза
АЛТ	— аланинтрансаминаза
АМФ	— аденозинмонофосфат
АОЗ	— антиоксидантная защита
АПБ	— ацилпереносящий белок
АРС-аза	— аминоксил-т-РНК синтетаза
АсАТ	— аспаратаминотрансфераза
АСТ	— аспартаттрансаминаза
АТФ	— аденозинтрифосфат
АХАТ	— ацил-холестерол-ацил трансфераза
БО	— биологическое окисление
ГАГ	— гликозаминогликаны
ГАМК	— $\gamma$ -аминомасляная кислота
ГТП	— $\gamma$ -глутамил-транспептидаза
ГДГ	— глутамат дегидрогеназа
ГДФ	— гуанозиндифосфат
ГНГ	— глюконеогенез
ГОМК	— $\gamma$ -оксимасляная кислота
ГТФ	— гуанозинтрифосфат
ГФО	— глицерил-3-фосфат оксидаза
ДАГ	— диацилглицерол
ДГ	— диглицерид
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДФГК	— 1,3-дифосфоглицериновая кислота
ДХФИФ	— 2,6-дихлорфенолиндофенол
ДХФС	— 3,5-дихлоро-2-фенолсульфонат
ДЦ	— дыхательная цепь
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт
ИБС	— ишемическая болезнь сердца
ИЛ	— интерлейкин
ИМФ	— инозинмонофосфат
ИТФ	— инозитолтрифосфат
ИФР	— инсулиноподобный фактор роста
КоА	— коэнзим А

КОС	— кислотно-основное состояние
КФК	— 1) креатинфосфокиназа; 2) концентрационный фотометр колориметрический
КЧ	— каталазное число
ЛАП	— лейцинаминопептидаза
ЛГ	— лютеинизирующий гормон
ЛДГ	— лактатдегидрогеназа
ЛП	— липопротеид
ЛПВП	— липопротеид высокой плотности
ЛПНП	— липопротеид низкой плотности
ЛПОНП	— липопротеид очень низкой плотности
ЛППП	— липопротеид промежуточной плотности
ЛСД	— диэтиламид лизергиновой кислоты
ЛХАТ	— лецитин-холестерол ацил-трансфераза
МЭОС	— микросомальная этанолюкисляющая система
НК	— нуклеиновая кислота
НС	— нервная система
ОФ	— окислительное фосфорилирование
ОЦК	— объем циркулирующей крови
ПФП	— пентозофосфатный путь
ПЦ	— пентозный цикл
РНК	— рибонуклеиновая кислота
РЭС	— ретикулоэндотелиальная система
СД	— сахарный диабет
СЖК	— свободные жирные кислоты
СОД	— супероксиддисмутаза
ССЗ	— сердечно-сосудистые заболевания
СТ	— соединительная ткань
СТГ	— соматотропный гормон
ТАГ	— триацилглицерол
ТГФК	— тетрагидрофолиевая кислота
ТПФ	— тиаминпирофосфат
ТТГ	— тиреотропный гормон
ТТФ	— тимидинтрифосфат
ТХУ	— трихлоруксусная кислота
УДФ	— уридиндифосфат
УДФГК	— УДФ-глюкуроновая кислота
УИРС	— учебно-исследовательская работа студентов
ФАФС	— фосфоаденозин-фосфосульфат
ФГА	— фосфоглицериновый альдегид

ФГД	— фосфоглицериновая кислота
ФДА	— фосфодиоксиацетон
ФЛ	— фосфолипид
ФР	— фактор роста
ФСГ	— фолликулостимулирующий гормон
ХМ	— хиломикрон
ХС	— холестерол, холестерин
ЦДФ	— цитидиндифосфат
ЦНС	— центральная нервная система
ЦСМ	— цикл синтеза мочевины
ЦТК	— цикл трикарбоновых кислот (Кребса)
ЦТФ	— цитидинтрифосфат
ЩФ	— щелочная фосфатаза
ЭДТА	— этилендиаминтетраацетат
ЭПР	— эндоплазматический ретикулум
ЯМР	— ядерный магнитный резонанс
$\alpha$ -КГ	— кетоглутарат
$\Delta\mu\text{H}^+$	— электрохимический потенциал, протонный градиент
CRIM1	— креатининиминогидролаза
EPS	— 4,6-этилиден (G <sub>7</sub> )-п-нитрофенил(G <sub>1</sub> )- $\alpha$ ,D-мальтогептаозид
FAD	— флавинадениндинуклеотидфосфат
FR	— флавопротеид
GSH	— глутатион окисленный
Hb	— гемоглобин
Ig	— иммуноглобулин
IP <sub>3</sub>	— инозитолтрифосфат
K <sub>M</sub>	— константа Михаэлиса
KoQ	— коэнзим Q
LT	— лейкотриен
NADP <sup>+</sup>	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат
P/O	— коэффициент окислительного фосфорилирования
PG	— простагландин
POD	— пероксидаза
SAM	— S-аденозил-метионин
SSB	— белки, связывающиеся с одиночной цепью ДНК
Tx	— тромбоксан

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Данное учебно-методическое пособие написано в соответствии с типовой программой по биохимии для студентов 2-го курса высших медицинских учебных заведений, утвержденной Минздравом Республики Беларусь.

Весь курс предполагает 36 занятий. **Теоретическая часть** включает перечень учебных элементов, рассматриваемых по данной теме, которые должен знать студент. В **практической части** приведены ситуационные задачи и дано подробное описание лабораторных работ, включающее такие необходимые элементы, как принцип метода, ход работы, в ряде случаев меры предосторожности, необходимые для выполнения работы, клинико-диагностическое значение определяемых показателей. Для проведения лабораторных работ предложены современные высокоэффективные ферментативные методы исследования, наиболее часто используемые в клинико-диагностических лабораториях.

В структуру пособия включены следующие разделы: введение в биохимию, энзимология, биоэнергетика, биохимия углеводов, липидов, белков и нуклеиновых кислот, биохимия витаминов и гормонов, а также биохимия отдельных тканей, органов и систем организма (крови, почек, печени, нервной, мышечной системы, миокарда и соединительной ткани).

В конце каждого раздела имеется перечень вопросов для контроля и самоконтроля, что поможет студенту в закреплении знаний по конкретной изучаемой теме и в подготовке к контрольным занятиям и экзаменам.

Авторы с благодарностью примут все конструктивные замечания, способствующие оптимизации процессу преподавания биохимии в медицинских высших учебных заведениях.



# РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ

## ЗАНЯТИЕ 1.

### ВВОДНОЕ ЗАНЯТИЕ. СОВРЕМЕННЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Цель занятия:** знакомство с правилами внутреннего распорядка на кафедре биохимии, с правилами работы в химической лаборатории и правилами техники безопасности. Знакомство с основными методами биохимических исследований.

#### *Структура занятия*

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Ознакомление с правилами внутреннего распорядка на кафедре биохимии и правилами работы в химической лаборатории. Проведение инструктажа по технике безопасности. Знакомство со структурой курса биохимии.

1.2. Биохимия как фундаментальная медико-биологическая наука. Значение биохимии в подготовке врача.

1.3. Характеристика основных биохимических методов, используемых в эксперименте и клинике.

1.3.1. На уровне целого организма:

— наблюдение за организмом:

- при удалении органа;
- изменении диеты (голодание или усиленное питание);
- приеме лекарств;
- введении специфических ядов и токсинов;

— наблюдения за человеком и животными со специфическими заболеваниями;

— использование ЯМР-спектроскопии и др.

1.3.2. Перфузия изолированного органа.

1.3.3. Использование тканевых срезов.

1.3.4. Использование целых клеток.

1.3.5. Использование гомогенатов.

1.3.6. Выделение изолированных клеточных органелл.

1.3.7. Метод субфракционирования клеточных органелл.

1.3.8. Выделение метаболитов и ферментов.

1.3.9. Клонирование генов, кодирующих ферменты и другие белки.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Применение Международной системы единиц (СИ) в международной лабораторной практике.

2.2. Особенности работы в биохимической лаборатории.

2.3. Инструктаж по технике безопасности.

2.4. Решение задач.

2.5. Лабораторная работа.

### **Особенности работы в биохимической лаборатории**

Студенты знакомятся с правилами проведения занятий и правилами работы в биохимической лаборатории.

### **Применение Международной системы единиц (СИ) в международной лабораторной практике**

Для усвоения данного материала используются учебные пособия и таблицы единиц СИ.

### **Инструктаж по технике безопасности**

Студенты знакомятся с инструкциями по технике безопасности и пожаробезопасности, получают дополнительный инструктаж от преподавателя и расписываются в журнале техники безопасности.

### **Задачи**

1. Согласно термина «биохимия», в живых организмах изучается:

*Варианты ответа:*

- а) переход количества в качество;
- б) взаимодействие живых организмов с веществом;
- в) превращения вещества и энергии;
- г) количественный состав;
- д) качественный состав.

2. Для изучения остаточного азота в плазме крови необходимо избавиться от белков, осаждением их ТХУ. К какому этапу исследования относится эта процедура?

*Варианты ответа:*

- а) выделение изолированных клеточных органелл;
- б) метод субфракционирования клеточных органелл;
- в) выделение метаболитов и ферментов;
- г) клонирование генов, кодирующих ферменты и другие белки.

3. Катаболизм белков сопровождается синтезом в печени мочевины  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Среднее содержание азота в белке 16 %. Какое количество мочевины (моль) может образоваться при катаболизме 175 г белка?

4. Большинство биохимических показателей концентрации веществ выражается в единицах СИ моль/л. Почему для концентрации белка в сыворотке крови (65–85 г/л) не используются эти единицы?

## **Лабораторная работа. Устройства и приборы, применяемые в биохимической лаборатории. Правила работы с ними**

Студенты под руководством преподавателя знакомятся с проведением исследований в биохимической лаборатории, а также с правилами пользования пипетками, центрифугой, термостатом, фотоэлектроколориметром и рефрактометром.

Работа с микропипетками включает ряд навыков и умений: сменять наконечник, правильно использовать 2 упора хода поршня (1-й упор — для точного отмеривания заданного количества, 2-й упор — для внесения образца в пробирку или колбу). Перед внесением пробы убедиться, что в отобранном образце нет пузырьков воздуха. В пипетках с переменным объемом требуемый объем устанавливается путем вращения лимба с цифровым индикатором.

### ***Рекомендуемая литература***

#### *Основная*

1. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. *Е. С. Северина*. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 69–73.
2. *Филиппович, Ю. Б.* Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 15–22.
3. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 16–20.

## **ЗАНЯТИЕ 2. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ**

**Цель занятия:** изучить структуру и физико-химические свойства белков. Научиться определять содержание общего белка в плазме крови биуретовым методом.

### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Основные правила техники безопасности при работе в химической лаборатории.
2. Строение и классификацию альфа-аминокислот.
3. Кислотно-основные свойства аминокислот. Реакции на их функциональные группы.
4. Уровни структурной организации белка.
5. Особенности строения пептидной связи.
6. Качественные реакции на белки и пептиды.
7. Комплексные соединения (комплекс меди в биуретовой реакции).

Студент должен уметь:

1. Проводить качественные реакции на белки и пептиды.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Введение в биохимию. Краткая история биохимии. История отечественной биохимии. Общая характеристика обмена веществ. Понятие об анаболизме, катаболизме и метаболизме.

1.2. Белки — важнейшие компоненты организма. Функции белков, строение, классификация и свойства аминокислот. Обзор уровней структурной организации белковой молекулы. Молекулярная масса белков. Форма и размеры белковой молекулы.

1.3. Принципы определения структуры белка.

1.3.1. Кислотный гидролиз белка:

— разделение аминокислот с помощью ионообменной хроматографии;

— количественный анализ полученных фракций;

1.3.2. Определение аминокислотной последовательности в белках и олигопептидах:

— ферментативное расщепление пептидов (пепсином, трипсином, химотрипсином, папаином);

— химическое расщепление пептидов (бромцианом);

— определение С-концевых аминокислот (карбоксипептидазами);

— определение N-концевых аминокислот (дансил-хлоридом, динитрофторбензолом, фенилизотиоцианатом);

— определение первичной структуры белка (аминокислотной последовательности);

— методы пептидных карт («метод отпечатков пальцев»).

1.3.3. Изучение пространственной структуры белковой молекулы (вторичная, третичная, четвертичная структуры):

— рентгеноструктурный анализ;

— изучение трехмерных моделей белка (Protein Data Bank).

1.3.4. Представление о нативно-развернутых белках — функционально-активной форме белков в клетке.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

#### **Задачи**

1. Рассмотрите указанные группы аминокислот и отметьте, какие из них являются гидрофобными?

*Варианты ответа:*

а) тир, асп, глу;

в) иле, лей, лиз;

д) арг, гли, цис.

б) ала, лиз, сер;

г) вал, лей, ала;

2. Многие белки, содержащие два и более доменов, обнаруживают гомологию аминокислот. Эти белки образуются путем:

*Варианты ответа:*

- а) посттрансляционной модификации (процессинга);
- б) генетических изменений;
- в) дупликации генов и их слияния;
- г) аллостерической кооперации;
- д) транспептидных образований.

3. Остатки каких аминокислот в белках-гликопротеидах ковалентно связывают углеводы? Напишите пентапептид с этими аминокислотами (-ала-Х-трп-У-гли), где Х и У — названные аминокислоты.

4. Остатки каких аминокислот в белках-гистонах обладают положительным зарядом? Напишите пентапептид с этими аминокислотами (-ала-Х-мет-У-гли), где Х и У — названные аминокислоты.

5. К фибриллярным белкам относятся:

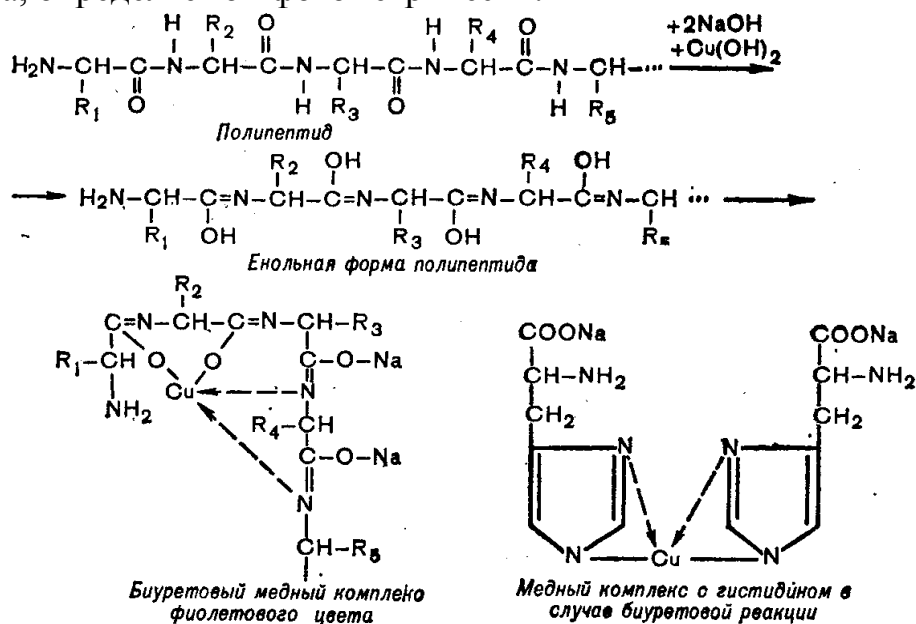
*Варианты ответа:*

- а) альбумины;
- б) гистоны;
- в) коллагены;
- г) глобулины.

**Лабораторная работа. Количественное определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом (УИРС).**

**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с раствором гидроксида натрия.**

*Принцип метода.* В щелочной среде пептидные связи белка образуют с ионами двухвалентной меди комплекс фиолетового цвета (см. уравнение). Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка, определяемой фотометрически.



*Ход работы.* В пробирку наливают 0,05 мл сыворотки крови, затем добавляют 2,5 мл биуретового реактива. Содержимое пробирки осторожно перемешивают, избегая пенообразования, и через 30 мин фотометрируют в кюветах 5 мм при 540 нм (зеленый светофильтр) против контрольного раствора (дистиллированная вода). Измерив экстинкцию исследуемого раствора, по калибровочной кривой определяют концентрацию белка.

*Клинико-диагностическое значение.* Нормальное содержание белка в сыворотке крови у взрослых людей — 65–85 г/л, у детей — 58–85 г/л.

Повышенное содержание белка в сыворотке крови (гиперпротеинемия) встречается сравнительно редко. Прежде всего, при сгущении крови из-за значительных потерь внеклеточной жидкости, например, при усиленном потоотделении, неукротимой рвоте, профузных поносах (диарее), несахарном диабете, холере, обширных ожогах. Кратковременная относительная гиперпротеинемия отмечается также при ревматизме и миеломной болезни.

Снижение уровня белка в крови (гипопротеинемия) наблюдается при длительном голодании, нефритах, злокачественных опухолях, тяжелых гнойных процессах, обширных ожогах и др.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### ***Рекомендуемая литература***

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 3–4, 7–40.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 9–69.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 5–14, 23–78.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 24–60.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 16–19, 42–51.
6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 19–77.

#### *Дополнительная*

7. Ленинджер, А. Л. Основы биохимии: в 2 т. / А. Л. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 1. — С. 107–225.
8. Тюкавкина, Н. А. Биоорганическая химия / Н. А. Тюкавкина, Ю. И. Бауков. — М.: Медицина, 1991. — С. 313–376.
9. Молекулярная биология клетки: в 2 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 1. — С. 113–171.

## РАЗДЕЛ 2. ЭНЗИМОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

### ЗАНЯТИЕ 3.

#### ФЕРМЕНТЫ-1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ. СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА, НОМЕНКЛАТУРА И КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

**Цель занятия:** закрепить знания по структуре белков, сформировать представления о строении и свойствах, номенклатуре и классификации ферментов. Научиться выполнять качественные реакции на аминокислоты и пептиды.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

*Студент должен знать:*

1. Характеристику уровней структурной организации белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная, четвертичная структуры).
2. Незаменимые микроэлементы.
3. Витамины В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, РР.
4. Строение коферментов NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>.
5. Понятия: коагуляция, порог коагуляции, коллоидная защита.
6. Принципы и методы измерения скорости химических реакций.

*Студент должен уметь:*

1. Проводить качественные реакции на белки и пептиды.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Понятие о ферментах. История энзимологии. Особенности ферментативного катализа. Строение ферментов. Доказательства белковой природы ферментов.

1.2. Характеристика уровней структурной организации белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная, четвертичная структуры) и связей, удерживающих ее. Высаливание, денатурация, причины, признаки и механизм.

1.3. Кофакторы ферментов: ионы металлов и коферменты. Участие витаминов в построении коферментов. Роль микроэлементов в ферментативном катализе (Fe, Cu, Co, I, Mg, Zn, Mn, F, Se).

1.4. Структурно-функциональная организация ферментов: активный (субстратный) центр, каталитический, аллостерический участки.

1.5. Локализация ферментов в клетке (клеточная мембрана, цитоплазма, митохондрии, ядро, лизосома, рибосомы). Маркерные ферменты. Органо-специфические ферменты. Выделение и очистка ферментов.

1.6. Качественное обнаружение и количественное определение. Единицы измерения количества и активности ферментов.

1.7. Номенклатура и классификация ферментов.

## **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### **Задачи**

1. Напишите формулу пептида глутир-про-гис-сер. Какие из перечисленных цветных реакций будут положительными с данным пептидом?

*Варианты ответа:*

- а) биуретовая;                      в) ксантопротеиновая;  
б) Фоля;                                г) Милона.

2. О чем свидетельствуют цветные реакции на белки?

*Варианты ответа:*

- а) о наличии белка в биологической жидкости;  
б) о первичной структуре белка;  
в) о конформации белка;  
г) о наличии некоторых аминокислот в структуре белка;  
д) о функции белка;  
е) о наличии числа уровней структурной организации.

3. Зимогены превращаются в ферменты путем реакций:

*Варианты ответа:*

- а) аденилирования;                      в) метилирования;  
б) фосфорилирования;                      г) ограниченного протеолиза?

4. Активный центр фермента:

*Варианты ответа:*

- а) содержит каталитические и вспомогательные аминокислоты;  
б) создает благоприятное окружение для взаимодействия фермента и субстрата;  
в) является основным в формировании свойств третичной структуры фермента;  
г) может содержать дополнительные сайты небелкового строения, необходимые для каталитического действия;  
д) обязательно содержит SH-группы.

5. Простетическая группа фермента представляет собой:

*Варианты ответа:*

- а) альфа-спираль молекулы фермента;  
б) апофермент;  
в) небелковую часть фермента;  
г) холофермент;  
д) аллостерический центр фермента.



6. Функция якорного участка фермента:

*Варианты ответа:*

- а) превращение субстрата;
- б) связывание субстрата;
- в) временное связывание регулятора с последующим отщеплением;
- г) поддержание конформации активного центра.

7. Катал — это единица, отражающая:

*Варианты ответа:*

- а) активность фермента;
- б) константу Михаэлиса–Ментен;
- в) концентрацию фермента;
- г) концентрацию ингибитора;
- д) коэффициент молекулярного погашения?

8. Активность фермента, выраженная в каталах, имеет размерность:

*Варианты ответа:*

- а) моль/мин;                      в) мкмоль/с;                      д) моль/ч.
- б) моль/с;                      г) мкмоль/мин;

9. Ферменты разделяются на 6 классов в соответствии с:

*Варианты ответа:*

- а) типом катализируемой реакции;
- б) структурой;
- в) субстратной специфичностью;
- г) активностью;
- д) органной специфичностью.

## **Лабораторные работы**

### **Лабораторная работа № 1. Цветные реакции на белки и аминокислоты.**

#### Биуретовая реакция

*Принцип метода.* См. в занятии «Строение и функции белков».

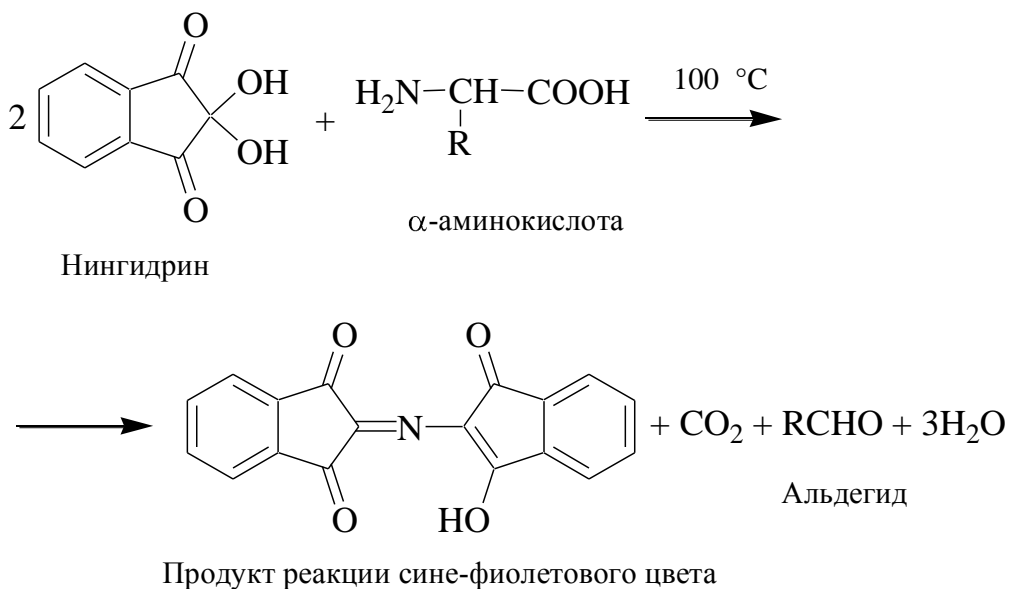
**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с гидроксидом натрия.**

*Ход работы.* В 3 пробирки наливают по 5 капель растворов: в 1-ю — яичного белка, во 2-ю — желатина, в 3-ю — миозина. В каждую пробирку добавляют по 5 капель 10 %-ного раствора гидроксида натрия и по 1 капле 1 %-ного раствора медного купороса. Во всех пробирках наблюдают устойчивое сине-фиолетовое окрашивание.

*Выводы по результатам работы*

#### Нингидриновая реакция

*Принцип метода.* Основан на образовании димера нингидрина и азота аминокислотной группы сине-фиолетового цвета (комплекс Руэмана — см. уравнение).

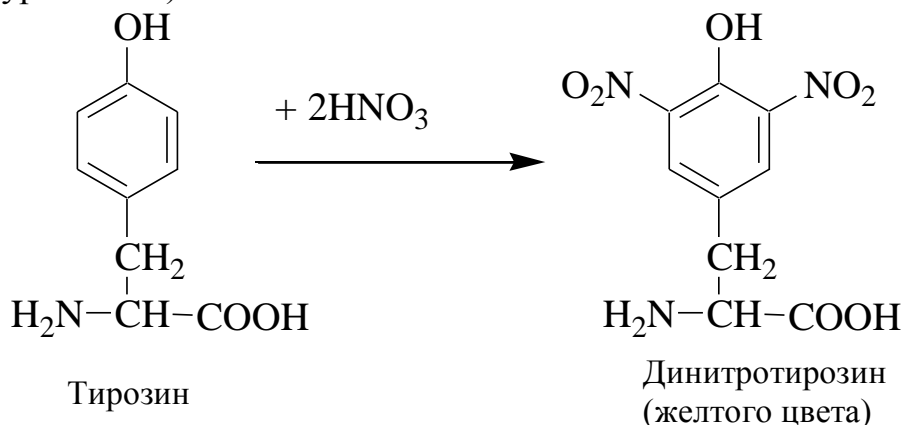


*Ход работы.* К 5 каплям раствора белка прибавить 5 капель раствора нингидрина и прокипятить 1–2 мин. Появляется сине-фиолетовое окрашивание.

*Выводы по результатам работы*

### Ксантопротеиновая реакция (Мульдера)

*Принцип метода.* Основан на образовании нитросоединений ароматических и гетероциклических аминокислот, окрашенных в ярко-желтый цвет (см. уравнение).



**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с концентрированной азотной кислотой.

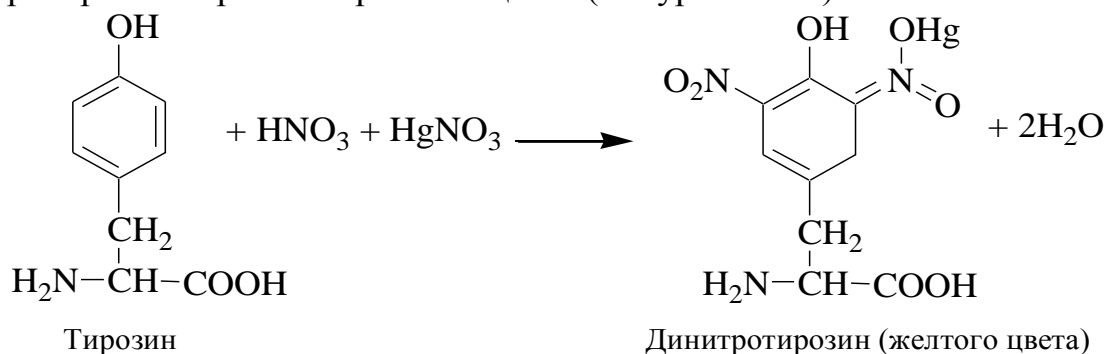
*Ход работы.* В 3 пробирки наливают по 5 капель растворов: в 1-ю — яичного белка, во 2-ю — желатина, в 3-ю — миозина. В каждую пробирку добавляют по 3 капли концентрированной азотной кислоты и осторожно кипятят. В 1-й пробирке образуется осадок желтого цвета, а во второй — слабое окрашивание, т. к. желатин не содержит циклических аминокислот. В 3-й пробирке образуется осадок белого цвета, переходящий в желтый цвет.

Пробирки охлаждают и добавляют в каждую по 10–15 капель 20 %-ного едкого натра до изменения окраски растворов вследствие образования натриевой соли динитротирозина.

*Выводы по результатам работы*

Реакция на тирозин (Миллона)

*Принцип метода.* Основан на образовании осадка ртутной соли динитротирозина кроваво-красного цвета (см. уравнение).



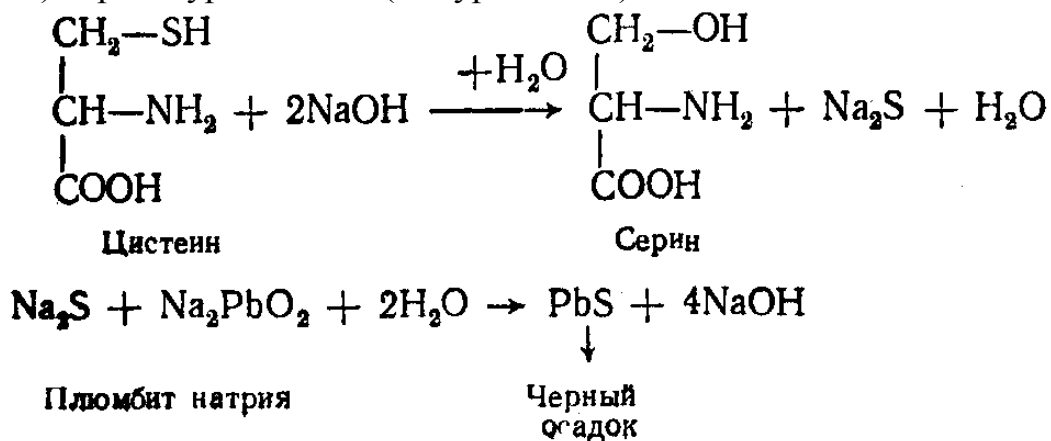
**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с реактивом Миллона (содержит Hg и HNO<sub>3</sub>).

*Ход работы.* В 3 пробирки наливают по 5 капель растворов: в 1-ю — яичного белка, во 2-ю — желатина, в 3-ю — миозина. В каждую пробирку добавляют по 3 капли реактива Миллона (раствор ртути в азотной кислоте) и осторожно нагревают. Отмечают изменение цвета в пробирках, характеризующее наличие в указанных белках тирозина.

*Выводы по результатам работы*

Реакция Фолья (на аминокислоты, содержащие слабо-связанную серу)

*Принцип метода.* Основан на щелочном гидролизе сульфгидрильных групп SH белка с последующим отщеплением серы в виде сульфида свинца (PbS) черно-бурого цвета (см. уравнение).



**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с реактивом Фоля (содержит NaOH и Na<sub>2</sub>PbO<sub>2</sub>).**

*Ход работы.* В 3 пробирки наливают по 5 капель растворов: в 1-ю — яичного белка, во 2-ю — желатина, в 3-ю — миозина. В каждую пробирку добавляют по 5 капель реактива Фоля. Затем интенсивно кипятят и дают постоять 1–2 мин. При этом в 1-й и в 3-й пробирках образуется черный или бурый осадок сульфида свинца. Желатин осадка не образует, т. к. в нем нет серосодержащих аминокислот.

*Выводы по результатам работы*

## **Лабораторная работа № 2. Реакции осаждения белков.**

### Осаждение белков при кипячении

**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с нагреванием пробирок.**

*Ход работы.* В 5 пробирок наливают по 5 капель раствора белка. Первую пробирку нагреть до кипения. Жидкость мутнеет, т. к. разрушаются водные оболочки вокруг молекулы белка, и происходит укрупнение его частиц. Мицеллы белка несут заряд и удерживаются во взвешенном состоянии.

Во 2-й пробирке нагреть раствор до кипения и добавить 2 капли 1 %-ного раствора уксусной кислоты до слабого подкисления. При отстаивании выпадает осадок белка. Частицы белка теряют заряд и приближаются к изоэлектрическому состоянию.

В 3-ю пробирку добавить 5 капель уксусной кислоты для сильноокислой реакции среды. При кипячении жидкости осадка не образуется, поскольку белковые мицеллы перезаряжаются и несут положительный заряд, что повышает их устойчивость.

В 4-ю пробирку налить 5 капель раствора уксусной кислоты, 2 капли насыщенного раствора хлористого натрия и нагреть. Выпадает белый хлопьевидный осадок, т. е. частицы белка теряют заряд.

В 5-ю пробирку добавить 2 капли раствора гидроксида натрия. При кипячении осадок не образуется, т. к. в щелочной среде отрицательный заряд на частицах белка увеличивается.

*Выводы по результатам работы*

### Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с концентрированными азотной и серной кислотами.**

*Ход работы.* В 2 пробирки наливают по 10 капель концентрированных кислот: азотной и серной. Наклонив пробирки под углом  $45^\circ$ , осторожно по стенке пробирки приливают равный объем раствора белка так, чтобы обе жидкости не смешивались. На границе двух жидкостей образуется осадок в виде небольшого белого кольца. При добавлении избытка азотной кислоты осадок не исчезает, а при добавлении серной кислоты осадок растворяется.

*Выводы по результатам работы*

#### Осаждение белков органическими растворителями

*Ход работы.* В 2 пробирки вносят по 5 капель раствора белка и приливают по 15–20 капель этилового спирта и ацетона.

*Выводы по результатам работы*

#### Осаждение белков органическими кислотами

**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с ТХУ.**

*Ход работы.* В 2 пробирки наливают по 5 капель раствора белка и добавляют по 2 капли раствора ТХУ в одну и 2 капли сульфосалициловой — в другую. Следят за изменением растворов.

*Выводы по результатам работы*

### **Лабораторная работа № 3. Разделение альбуминов и глобулинов методом высаливания (УИРС).**

*Принцип метода.* Основан на обратимой реакции осаждения белков из растворов с помощью высоких концентраций нейтральных солей (NaCl,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{MgSO}_4$  и др.).

*Ход работы.* К 1 мл неразведенного яичного белка добавляют 1 мл насыщенного раствора сульфата аммония и перемешивают. Получается полунасыщенный раствор сульфата аммония, в котором выпадает осадок яичного глобулина. Через 5 мин осадок отфильтровывают, в фильтрате остается яичный альбумин. Для высаливания альбуминов к фильтрату добавляют порошок сульфата аммония до полного насыщения, т. е. пока новая порция порошка остается нерастворенной. Выпавший осадок альбумина отфильтровывают. С фильтратом проделывают биуретовую реакцию. Отрицательная реакция указывает на отсутствие белка.

*Выводы по результатам работы*

#### **Рекомендуемая литература**

##### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 45–46, 54–60.

2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 9–73, 75–80, 83–92.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 49–78, 95–105.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 61–63, 68–78.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 47–51, 63–66, 79–81.

*Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 114–143.
7. Ленинджер, А. Л. Основы биохимии: в 2 т. / А. Л. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 1. — С. 226–302.
8. Тюкавкина, Н. А. Биоорганическая химия / Н. А. Тюкавкина, Ю. И. Бауков. — М.: Медицина, 1991. — С. 313–376.
9. Молекулярная биология клетки: в 2 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 1. — С. 113–171.

## ЗАНЯТИЕ 4.

### ФЕРМЕНТЫ-2. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

**Цель занятия:** закрепить знания по структуре ферментов, сформировать представления о механизме действия ферментов. Научиться выполнять качественные реакции на активность некоторых гидролитических ферментов.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Теоретические основы химической кинетики.
2. Строение моносахаридов. Качественные реакции на альдегидные и спиртовые группы.
3. Строение полисахаридов. Свойство и качественные реакции.
4. Механизм образования шиффовых оснований.
5. Строение и механизм катализа коферментами  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NADP}^+$ .

Студент должен уметь:

1. Проводить качественные реакции на продукты ферментативного гидролиза.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Свойства ферментов (термолабильность, специфичность и др.). Механизм действия ферментов. Этапы взаимодействия фермента и субстрата. Гипотезы Э. Фишера, Д. Кошланда и современные взгляды.

1.2. Теория промежуточных соединений. Основы термодинамики катализа. Энергия активации. Энергетический барьер.

1.3. Кинетика ферментативных реакций (факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций: природа фермента и субстрата, их концентрация, pH, температура, лекарственные препараты и др.). Константа Михаэлиса ( $K_m$ ) – определение, физическое значение.

1.4. Регуляция активности ферментов. Роль гормонов, цАМФ, активаторов, ингибиторов.

1.4.1. Регуляция активности путем химической модификации ферментов (ограниченный протеолиз, фосфорилирование, метилирование и др.).

1.5. Виды ингибирования.

1.6. Аллостерическая регуляция. Свойства аллостерических ферментов.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач и проведение контроля конечного уровня знаний.

2.2. Лабораторные работы.

### Задачи

1. При увеличении концентрации субстрата скорость ферментативной реакции:

*Варианты ответа:*

- а) сначала возрастает, затем падает;
- б) не изменяется;
- в) сначала возрастает, затем стабилизируется на постоянном уровне;
- г) непрерывно возрастает пропорционально концентрации субстрата;
- д) сначала убывает, затем возрастает.

2. Температурный оптимум для большинства ферментов находится в диапазоне:

*Варианты ответа:*

- а) от 36 до 38 °С;
- б) от 40 до 44 °С;
- в) от 30 до 34 °С;
- г) от 0 до 8 °С.

3. Энергия активации — это...

*Варианты ответа:*

а) энергия, необходимая для перевода всех молекул фермента в активированное состояние;

б) энергия, необходимая для перевода всех молекул субстрата в активированное состояние;

в) разница величин энергий субстратов и продуктов реакции;

г) общая энергия системы.

4. Взаимодействие, описываемое выражением «как рука к перчатке»:

*Варианты ответа:*

а) субстрат + активный центр;

- б) ингибитор + активный центр;
- в) регулятор + аллостерический центр;
- г) якорная площадка + каталитическая площадка.

5. Активность ЛДГ при увеличении температуры с 30 до 40 °С:

*Варианты ответа:*

- а) не изменится;
- б) станет равной нулю;
- в) уменьшится в 2–4 раза;
- г) увеличится в 2–4 раза;
- д) возрастет в 10 раз.

6. Активность АсАТ при постепенном изменении температуры с 30 до 70 °С:

*Варианты ответа:*

- а) сначала увеличится, затем резко снизится;
- б) не изменится;
- в) увеличится в среднем в 32 раза;
- г) немедленно упадет до нуля;
- д) будет постепенно нарастать.

7. Константа Михаэлиса — это...

*Варианты ответа:*

- а) молярный коэффициент экстинкции фермента;
- б) коэффициент, отражающий зависимость скорости реакции от температуры;
- в) концентрация субстрата, при которой достигается максимальная скорость реакции;
- г) концентрация субстрата, при которой скорость ферментативной реакции составляет половину максимальной?

8. Величина константы Михаэлиса отражает:

*Варианты ответа:*

- а) сродство фермента к субстрату;
- б) зависимость скорости реакции от концентрации фермента;
- в) зависимость скорости реакции от температуры;
- г) сродство фермента к ингибитору;
- д) эффекты коферментов и ингибиторов.

## Лабораторные работы

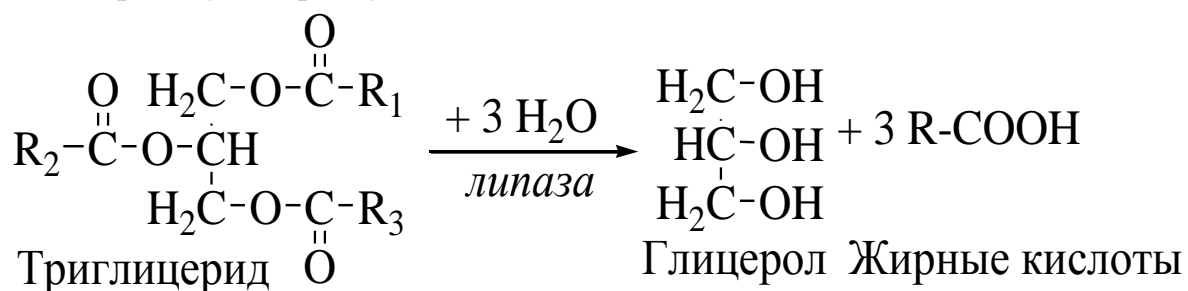
### Лабораторная работа № 1. Изучение действия ферментов.

#### Действие липазы

Липаза входит в состав сока поджелудочной железы. В желудочном соке она содержится в небольшом количестве и действует только на предварительно эмульгированные жиры. В кишечнике желчные кислоты и белки способствуют эмульгированию липидов. Действие липазы можно обна-



ружить, добавив ее раствор к молоку, предварительно слабо подщелоченному раствором карбоната натрия в присутствии фенолфталеина, дающего бледно-розовую окраску.



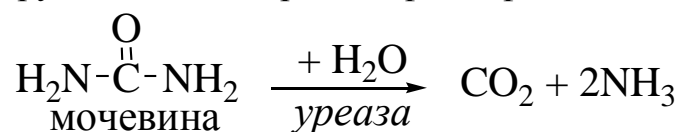
*Принцип метода.* Липаза ускоряет гидролиз нейтрального жира на глицерин и жирные кислоты (см. уравнение), что приводит к снижению pH и исчезновению розовой окраски индикатора — фенолфталеина.

*Ход работы.* В 2 пробирки наливают по 10 капель молока. В 1-ю пробирку добавляют 5 капель панкреатина, содержащего липазу, во 2-ю — 5 капель воды. В обе пробирки наливают по 1 капле 0,5 %-ного раствора фенолфталеина и по каплям 1 %-ного раствора карбоната натрия до появления бледно-розовой окраски при pH 8,0 (нельзя приливать избыток раствора карбоната натрия). Пробирки помещают в термостат при температуре 38 °C на 30 мин. Наблюдают обесцвечивание раствора в пробирке, содержащей липазу.

*Выводы по результатам работы*

#### Действие уреазы

*Принцип метода.* Уреаза катализирует гидролиз мочевины на двуокись углерода и аммиак (см. уравнение), что приводит к увеличению pH, которое регистрируется индикатором — фенолфталеином.



*Ход работы.* Берут 2 пробирки. В 1-ю отмеривают 1мл 1 %-ного раствора мочевины, а во 2-ю — 1мл 1 %-ного раствора тиомочевины. В каждую пробирку добавляют по 2 капли фенолфталеина и по 1 мл раствора уреазы. Содержимое обеих пробирок встряхивают, оставляют на несколько минут при комнатной температуре и наблюдают за появлением розовой окраски в пробирке с мочевиной и отсутствием окраски в пробирке с тиомочевиной. Содержимое 1-й пробирки приобретает розовую окраску вследствие смещения pH раствора в щелочную сторону за счет образования аммиака.

*Выводы по результатам работы*

## **Лабораторная работа № 2. Изучение влияния различных факторов на скорость ферментативных реакций (УИРС).**

### Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы

#### *Ход работы*

1. В одну пробирку вносят 10 капель дистиллированной воды, а во 2-ю — 8 капель воды и 2 капли 1 %-ного раствора хлорида натрия, в 3-ю — 8 капель воды и 2 капли раствора сульфата меди.

2. В каждую пробирку добавляют по 20 капель разведенной слюны (1 : 10), пробирки перемешивают, добавляют по 5 капель раствора крахмала и оставляют стоять при комнатной температуре 5 мин.

3. Тем временем готовят 3 пробирки с водой (по 1 мл), подкрашенной каплей раствора йода, и добавляют в них по 3 капли содержимого опытных проб. Наблюдают окрашивание в зависимости от степени расщепления крахмала амилазой. В 1-й пробирке появляется фиолетовая или красно-бурая окраска, во 2-й пробирке, где ионы хлора играют роль активатора, появляется желтая окраска, а в 3-й, где ионы меди тормозят действие амилазы, — окраска остается синей. Если описанная картина не наблюдается, то опыт повторяют через 10–15 мин.

#### *Выводы по результатам работы*

### Влияние рН на активность амилазы слюны

Оптimum рН для действия амилазы слюны можно определить при взаимодействии ее с крахмалом при различных значениях рН среды. О степени расщепления крахмала можно судить по реакции крахмала с йодом в течение времени. При оптимальном значении рН расщепление крахмала произойдет полностью (окраска с йодом отсутствует). По мере удаления от точки рН в кислую или щелочную сторону произойдет лишь частичное расщепление крахмала до стадии декстринов (красно-бурая или фиолетовая окраска) или крахмал вообще расщепляться не будет (синяя окраска).

#### *Ход работы*

1. В четыре пронумерованные пробирки отмеривают отдельными пипетками по 2 мл фосфатного буфера с различным значением рН (6,0; 6,4; 6,8; 7,4).

2. В каждую пробирку добавляют по 1 мл раствора крахмала и по 0,5 мл разбавленной (1 : 10) слюны, затем помещают в термостат на 10 мин при 38 °С.

3. Из каждой пробирки каплю жидкости смешивают с каплей раствора йода на предметном стекле и сравнивают окрашивание в каждой пробирке. Повторяют эту пробу через 1–2 мин до тех пор, пока проба из 5-й пробирки даст с йодом на стекле красно-бурое окрашивание. Через 1–2 мин после этого во все пробирки добавляют по 2–3 капли раствора йода (начинать с 1-й пробирки). Содержимое пробирок хорошо взбалтывают. Сравнивают между собой окрашивание во всех пробирках и делают вывод о степени расщепления крахмала, а, следовательно, об активности фермента при этом значении рН среды.

#### *Выводы по результатам работы*

## **Рекомендуемая литература**

### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 57–82.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 92–118.
3. *Филиппович, Ю. Б.* Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 102–114.
4. *Николаев, А. Я.* Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 63–66, 80–97.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 67–68, 76–90, 98–110.
6. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 143–156.

### *Дополнительная*

7. *Ленинджер, А. Л.* Основы биохимии: в 2 т. / А. Л. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 1. — С. 226–302.
8. Молекулярная биология клетки: в 2 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 1. — С. 113–171.

## **ЗАНЯТИЕ 5.**

### **ФЕРМЕНТЫ-3. МЕДИЦИНСКАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ**

**Цель занятия:** сформировать представления об основных аспектах и проблемах медицинской энзимологии. Научиться определять активность амилазы в моче и оценивать ее диагностическую значимость.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение клетки и основных органелл.
2. Понятие о мутациях и механизмах мутагенеза. Основные этапы биосинтеза белка.
3. Принципы и методы измерения скорости химических реакций.

Студент должен уметь:

1. Выполнять качественные реакции на активность ферментов биологических жидкостей.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

- 1.1. Изоферменты, их биологическая роль. Полиферментные комплексы. Понятие о метаболоне.

1.2. Изменение активности ферментов в онтогенезе.

1.3. Основные направления клинической энзимологии.

1.3.1. Энзимопатии. Определение. Классификация. Степень клинических проявлений энзимопатий. Первичные (наследственные) энзимопатии. Причины возникновения. Механизм развития первичных и вторичных метаболических нарушений при энзимопатиях. Вторичные (приобретенные) — токсические и алиментарные энзимопатии. Причины возникновения. Механизм развития метаболических нарушений. Клинические проявления.

1.3.2. Энзимодиагностика, принципы и объекты энзимодиагностики (кровь, моча, слюна, ликвор, пот и др.). Характеристика основных ферментов сыворотки крови (клеточные, секреторные и экскреторные). Типы изменения активности ферментов при патологии (гипо-, гипер- и дисферментемия). Задачи энзимодиагностики.

1.3.3. Энзимотерапия. Использование ферментов для заместительной терапии. Лечение хирургических, сердечно-сосудистых, онкологических и др. заболеваний. Имобилизованные ферменты. Липосомы, вирусные векторы, их применение.

1.3.4. Использование ферментов в лабораторной практике для определения концентрации субстратов и активности ферментов.

1.3.5. Использование ферментов в промышленности и производстве.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### Задачи

1. Активность какого фермента повышается при болезнях костной ткани?

*Варианты ответа:*

- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| а) холинэстеразы;      | г) АлАТ;             |
| б) щелочной фосфатазы; | д) ЛДГ;              |
| в) амилазы;            | е) кислой фосфатазы. |

2. Активность какого фермента изменяется при болезнях печени и отравлении фосфорорганическими веществами?

*Варианты ответа:*

- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| а) холинэстеразы;      | г) АлАТ;             |
| б) щелочной фосфатазы; | д) ЛДГ;              |
| в) амилазы;            | е) кислой фосфатазы. |

3. Активность какого фермента повышается при раке предстательной железы?

*Варианты ответа:*

- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| а) холинэстеразы;      | г) АлАТ;             |
| б) щелочной фосфатазы; | д) ЛДГ;              |
| в) амилазы;            | е) кислой фосфатазы. |

4. Ингибиторы протеаз (контрикал, трасилол, гордокс) подавляют активность трипсина, калликреина, плазмина, образуя с ними неактивные комплексы. При каком заболевании можно применять эти лекарственные средства?

*Варианты ответа:*

- а) инфаркт миокарда; г) острый аппендицит;  
 б) язва желудка; д) фенилкетонурия;  
 в) острый панкреатит; е) СД.

5. Наибольшая активность АлАТ обнаруживается:

*Варианты ответа:*

- а) в миокарде; г) в крови;  
 б) в скелетных мышцах; д) в печени;  
 в) в почках; е) в головном мозге.

6. Молекула ЛДГ состоит из субъединиц типа:

*Варианты ответа:*

- а) М и В; г) только В;  
 б) М, В и Н; д) Н и М.  
 в) В и Н;

7. При инфаркте миокарда повышается преимущественно активность:

*Варианты ответа:*

- а) креатинкиназы; в) альфа-амилазы;  
 б) холинэстеразы; г) щелочной фосфатазы.

### **Лабораторная работа. Количественное определение активности амилазы мочи по Вольгемуту.**

*Принцип метода.* Определение активности амилазы в биологических жидкостях (моча, сыворотка крови, слюна) основано на определении минимальной активности (количества) фермента, катализирующего в стандартных условиях гидролиз добавленного крахмала. Амилазная активность мочи выражается количеством миллилитров раствора крахмала, которое расщепляется ферментом, содержащимся в 1 мл неразведенной мочи, при температуре 45 °С за 15 мин.

*Ход работы.* Берут десять пронумерованных пробирок и приливают в каждую по 1 мл физиологического раствора. Затем в 1-ю пробирку добавляют 1 мл исследуемой мочи. Содержимое этой пробирки перемешивают, несколько раз втягивая и выпуская жидкость из пипетки. Набирают в пипетку 1 мл смеси и переносят во 2-ю пробирку, процедуру повторяют вплоть до 10-й пробирки. Из 10-й пробирки 1 мл смеси отбрасывают. При этом получается следующее разведение мочи (таблица 1):

Таблица 1 — Гидролиз крахмала в пробирках

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Разведение	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
Гидролиз крахмала										

В каждую пробирку добавляют по 1 мл физраствора и по 2 мл 0,1 %-ного раствора крахмала. После перемешивания содержимого пробирки термостатируют 15 мин при температуре 45 °С. После инкубации пробирки охлаждают водопроводной водой и ставят в штатив по порядку. Прибавляют в каждую пробирку по 1 капле раствора йода и перемешивают. Отмечают пробирку с наибольшим разведением мочи, при котором произошло полное расщепление крахмала с йодом. Полученные данные заносят в таблицу 1.

*Расчет.* Активность амилазы можно рассчитать по формуле 1:

$$2^{(n+1)}, \quad (1)$$

где  $n$  — количество светлых пробирок (в которых произошел гидролиз крахмала).

Так, если первые 3 пробирки обесцветились, активность амилазы мочи равна  $2^{(3+1)} = 2^4 = 32$  единицам.

*Клинико-диагностическое значение.* В норме активность амилазы мочи равна 16–64 единицам.

Определение активности амилазы мочи и сыворотки крови широко используется в клинической практике для диагностики заболеваний поджелудочной железы. При острых панкреатитах амилазная активность мочи и сыворотки крови увеличивается в десятки раз, особенно в первые сутки заболевания, а затем, при благоприятном исходе, постепенно возвращается к норме. При тотальном панкреонекрозе активность фермента исчезает. При почечной недостаточности амилаза в моче отсутствует. В детском возрасте увеличение активности амилазы наблюдается при эндемическом паротите, что указывает на одновременное поражение поджелудочной железы вирусом паротита.

*Вывод.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## ***Рекомендуемая литература***

### ***Основная***

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 46–49, 82–86.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 80–83, 118–123.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 114–146.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 78–80, 97–100.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 13–16, 63–65.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 157–168.

*Дополнительная*

7. Руководство по клинической лабораторной диагностике / под ред. М.А. Базарновой. — Киев: Выща школа, 1990. — С. 167–186.

8. Зилва, Ф. Клиническая химия в диагностике и лечении / Ф. Зилва, Дж. Пеннел. — М.: Медицина, 1986. — С. 372–388.

## **ЗАНЯТИЕ 6.**

### **БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ-1. ЦИКЛ КРЕБСА. ПУТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА В ОРГАНИЗМЕ**

**Цель занятия:** сформировать современные представления о путях и механизмах получения, депонирования и утилизации энергии в живых организмах.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Элементы химической термодинамики. Первый и второй законы термодинамики. Понятие об энергии Гиббса.

2. Суть и механизм окислительно-восстановительных реакций.

3. Строение коферментов  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ,  $\text{FAD}$ ,  $\text{FMN}$ , их роль и механизм участия в окислительно-восстановительных реакциях.

Студент должен уметь:

1. Выполнять качественные реакции на субстраты энергетического обмена.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. История развития учения о БО. Взгляды А. Лавуазье, М. В. Ломоносова, Ф. Шёнбайна, А. Н. Баха, К. Энглера, В. И. Палладина, Г. Виланда.

1.2. Теория перекисных соединений Баха-Энглера, ее суть и критический анализ.

1.3. Теория Палладина–Виланда, ее суть и критический анализ.

1.4. Дальнейшее развитие учения о БО. Современные представления о БО. Принципы преобразования и передачи энергии в живых системах. Окислительно-восстановительные реакции, окислительно-восстановительный потенциал. Макроэргические соединения, строение АТФ, причины макроэргичности.

1.5. Субстраты БО. Схема образования субстратов из углеводов, липидов, белков. Этапы БО — цитоплазматический и митохондриальный.

1.6. Ферменты, коферменты БО. Витамины РР,  $\text{B}_2$ . Строение и роль в энергетическом обмене.

1.7. Строение и функции митохондрии. Сравнительная характеристика мембран митохондрий. Ферментный состав различных компартментов.

1.8. ЦТК — цикл трикарбоновых кислот (Кребса) как общий конечный пункт утилизации субстратов БО. Последовательность реакций, ферменты, коферменты. Субстратное фосфорилирование. Регуляция ЦТК. Значение ЦТК (энергетическая, пластическая, интеграционная и регуляторная роль).

1.9. Пути утилизации кислорода в организме (митохондриальный, микросомальный и перекисный).

1.10. Связь ДЦ с ЦТК.

1.11. **Митохондриальное окисление.** Структура и функция ДЦ митохондрий. Комплексы ДЦ. Основные принципы и механизм функционирования ДЦ митохондрий. Ферменты тканевого дыхания:  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , FAD-зависимые дегидрогеназы, убихинон, цитохромы, их строение и роль.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

## Задачи

1. Реакция гидролиза глюкозо-1-фосфата ( $\Delta G = -20,9$  кДж/моль):

*Варианты ответа:*

а) экзэргоническая;                      б) эндэргоническая.

2. Окислительно-восстановительные свойства  $\text{NAD}^+$  определяются наличием в его структуре:

*Варианты ответа:*

а) аденина;                      б) рибозофосфата;                      в) катиона пиридиния.

3. При гидролизе макроэргической связи выделяется энергии:

*Варианты ответа:*

а) не менее 32 кДж/моль;                      в) более 50 кДж/моль;  
б) 12 кДж/моль;                      г) не менее 23 кДж/моль.

4. Окислительно-восстановительные свойства FAD определяются наличием в его структуре:

*Варианты ответа:*

а) рибитола;                      в) рибозофосфата;  
б) изоаллоксазина;                      г) аденина.

5. Фермент субстратного фосфорилирования в ЦТК:

*Варианты ответа:*

а) изоцитратдегидрогеназа;                      г) цитратсинтаза;  
б) сукцинатдегидрогеназа;                      д) сукцинил-КоА-синтетаза.  
в) малатдегидрогеназа;



6. ЦТК является кислородзависимым процессом, потому что...

*Варианты ответа:*

- а) кислород необходим для синтеза оксалоацетата;
- б) кислород необходим для регенерации ацетил-КоА;
- в) кислород необходим для регенерации  $\text{NAD}^+$  и FAD;
- г) кислород активирует цитратсинтазу.

7. Условием ингибирования ЦТК, является:

*Варианты ответа:*

- а) высокое содержание АТФ;
- б) низкая концентрация NADH;
- в) высокое содержание АДФ,
- г) высокая концентрация NADH.

8. Столько молекул NADH может образоваться за один оборот ЦТК?

*Варианты ответа:*

- а) четыре;      б) три;      в) две;      г) одна;      д) ни одной.

9. Выбрать правильную последовательность превращения углеводов в ходе унификации энергетических субстратов:

*Варианты ответа:*

- а) полисахариды  $\rightarrow$  моносахариды  $\rightarrow$  ацетил-КоА  $\rightarrow$  пируват  $\rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ ;
- б) полисахариды  $\rightarrow$  пируват  $\rightarrow$  моносахариды  $\rightarrow$  ацетил-КоА  $\rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ ;
- в) моносахариды  $\rightarrow$  полисахариды  $\rightarrow$  ацетил-КоА  $\rightarrow$  пируват  $\rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ ;
- г) моносахариды  $\rightarrow$  полисахариды  $\rightarrow$  пируват  $\rightarrow$  ацетил-КоА  $\rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ ;
- д) полисахариды  $\rightarrow$  моносахариды  $\rightarrow$  пируват  $\rightarrow$  ацетил-КоА  $\rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ .

10. Теоретически энергетический выход одного «оборота» ЦТК составляет:

*Варианты ответа:*

- а) 3 АТФ;      б) 6 АТФ;      в) 9 АТФ;      г) 12 АТФ;      д) 15 АТФ.

### **Лабораторные работы**

**Лабораторная работа № 1. Открытие некоторых субстратов ЦТК (лимонной и янтарной кислот).**

*Принцип метода.* Ди- и трикарбоновые кислоты, карбоксильные группы которых расположены рядом, при взаимодействии с резорцином и концентрированной серной кислотой образуют флюоресцирующие в ультрафиолетовом свете продукты.

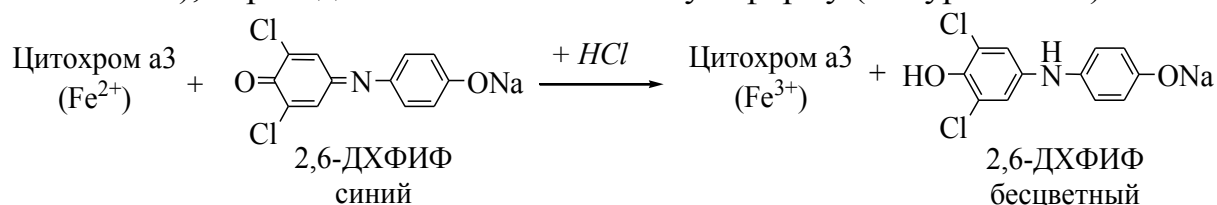
**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с источником ультрафиолетового излучения, концентрированной серной кислотой и нагреванием на спиртовке.

*Ход работы.* В 2 пробирки добавляют по 1 капле воды (избыток воды мешает реакции) и растворяют: в 1-й — несколько кристаллов цитрата, а во 2-й — янтарной кислоты. Затем в обе пробирки вносят по 10–12 капель концентрированной серной кислоты и несколько кристаллов резорцина. Содержимое пробирок осторожно нагревают (но НЕ КИПЯТЯТ!) до появления окраски желтого цвета. К охлажденным пробиркам добавляют по 20 капель дистиллированной воды и наблюдают в ультрафиолетовом свете флюоресценцию: голубую – в пробирке с цитратом и зеленую — с сукцинатом.

*Выводы по результатам работы*

## Лабораторная работа № 2. Качественное обнаружение цитохромоксидазы.

*Принцип метода.* Цитохромоксидаза, содержащаяся в скелетной мышце, обесцвечивает 2,6-дихлорфенолиндофенол (2,6-ДХФИФ, краска Тильманса), переводя его в восстановленную форму (см. уравнение):



*Ход работы.* 1 г свежих скелетных мышц, освобожденных от жировой ткани, тщательно растирают в ступке в течение 10 мин. Мышечную кашицу фильтруют через слой марли и многократно промывают твердый осадок дистиллированной водой до обесцвечивания промывных вод.

На мышечную кашицу, отжатую между листами фильтровальной бумаги, капают 2–3 капли раствора 2,6-ДХФИФ и наблюдают его обесцвечивание, связанное с активностью цитохромоксидазы мышечной ткани (восстановление краски Тильманса в лейкоформу).

*Выводы по результатам работы*

### Рекомендуемая литература

#### Основная

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 96–97, 99–101, 131–139, 178–182.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 126–127, 264–274, 281–294.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 161–164, 355–357, 423, 411–417.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 66–68, 128, 172–177, 235–247.

5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 111–124, 172–180, 278–280.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 345–353.

*Дополнительная*

7. Ленинджер, А. Л. Основы биохимии: в 2 т. / А. Л. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 1. — С. 477–507.

## **ЗАНЯТИЕ 7.**

### **БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ-2. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ. МИКРОСОМАЛЬНОЕ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ**

**Цель занятия:** сформировать современные представления о механизмах получения, депонирования и утилизации энергии в живых организмах, путях потребления кислорода в организме в норме и при патологии.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Понятие об электродвижущей силе окислительно-восстановительных реакций.
2. Строение  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , FAD, FMN, кофермента Q, цитохромов и их роль в окислительно-восстановительных процессах.
3. Строение ДЦ и принципы ее функционирования.
4. Электронное строение атома кислорода и его активных форм.
5. Сущность свободнорадикальных процессов.

Студент должен уметь:

1. Проводить титрационный анализ.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Окислительное фосфорилирование. Пункты фосфорилирования. Коэффициент P/O — показатель степени сопряжения ОФ. Механизмы сопряжения окисления и фосфорилирования. Хемиосмотическая теория сопряжения ОФ П. Митчелла. Разобщение окисления и фосфорилирования. Разобщители, виды, их механизм действия. Биологическое значение разобщения ОФ.

1.2. Значение тканевого дыхания в биоэнергетике клетки и организма. Энергетический баланс одного оборота ЦТК.

1.3. **Микросомальное окисление.** Понятие о микросомах. Характеристика ЭПС. Микросомальная ДЦ. Основные переносчики:  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , FAD и FMN-зависимые дегидрогеназы, цитохромы  $b_5$ ,  $P_{450}$ , их функции. Субстраты и косубстраты микросомального окисления (метаболизм ксенобиотиков).

1.4. Сходство и отличие микросомальной и митохондриальной ДЦ. Связь ЦТК, ДЦ митохондрии с микросомальной ДЦ. Биологическое значение и органное распределение микросомального окисления.

1.5. **Перекисное окисление.** Электронное строение атома кислорода. Механизмы образования активных форм кислорода. Перекисное окисление в норме и при патологии. Субстраты перекисного окисления. АОЗ: ферментная (СОД, каталаза, пероксидаза и др.) и неферментная (глутатион, витамины А, С, Е, метаболиты и др.). Витамины А, С, Е, их строение и роль в обмене.

1.6. Окислительный стресс как результат нарушения баланса между реакциями перекисного окисления и системой АОЗ.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### Задачи

1. Фермент, который осуществляет перенос электронов непосредственно на кислород:

*Варианты ответа:*

а) гексокиназа;

в) пероксидаза;

б) супероксиддисмутаза;

г) цитохромоксидаза.

2. Компонент цепи переноса электронов и протонов, который собирает электроны от разных субстратов окисления:

*Варианты ответа:*

а) NADH-дегидрогеназа;

б) цитохром с;

в) убихинон (CoQ).

3. Разобщение дыхания и фосфорилирования достигается при:

*Варианты ответа:*

а) повышении проницаемости внутренней мембраны митохондрий для протонов;

б) снижении активности  $H^+$  зависимой АТФ-азы;

в) ингибировании АДФ-АТФ транслоказы?

4. Атомы и железа, и меди входят в активный центр фермента:

*Варианты ответа:*

а) цитохрома с;

д) убихинолдегидрогеназы;

б) цитохромоксидазы;

е) сукцинатдегидрогеназы.

г) NADH-дегидрогеназы;

5. Убихинон легко диффундирует в мембране митохондрий, потому что является...

*Варианты ответа:*

а) небольшой гидрофильной молекулой;

б) небольшой липофильной молекулой;

- в) крупной липофильной молекулой;
- г) крупной гидрофильной молекулой.

6. Коэффициентом фосфорилирования называется:

*Варианты ответа:*

- а) отношение количества связанной  $H_3PO_4$  к количеству поглощенного  $O_2$ ;
- б) отношение объемов образующегося  $CO_2$  и поглощаемого  $O_2$ ;
- в) отношение количества энергии, аккумулированного АТФ, к энергии, высвободившейся при окислении.

7. Разобшиитель ОФ — это...

*Варианты ответа:*

- а) токоферол;
- б) динитрофенол;
- в) цианистый калий;
- г) амитал.

8. Согласно хемиосмотической теории протоны «возвращаются» из межмембранного пространства в матрикс митохондрий:

*Варианты ответа:*

- а) при помощи ферментов ДЦ;
- б) в любом месте мембраны по градиенту концентрации;
- в) через протонную АТФ-синтазу.

9. В метаболизме чужеродных соединений участвует фермент:

*Варианты ответа:*

- а) супероксиддисмутаза;
- б) цитохром b;
- в) цитохром c1;
- г) цитохром P450;
- д) сукцинатдегидрогеназа.

10. Протонная АТФ-синтаза для образования АТФ использует энергию:

*Варианты ответа:*

- а) трансмембранного протонного градиента;
- б) макроэргической связи промежуточного соединения;
- в) заключенную в NADPH.

11. Фермент микросомального окисления цитохром P<sub>450</sub> локализован в:

*Варианты ответа:*

- а) митохондриях;
- б) рибосомах;
- в) лизосомах;
- г) эндоплазматической сети.

12. Фермент, защищающий клетку от токсического действия кислорода:

*Варианты ответа:*

- а) NADH-дегидрогеназа;
- б) моноаминоксидаза;
- в) цитохромоксидаза;
- г) супероксиддисмутаза.

13. Ингибитор перекисного окисления липидов:

*Варианты ответа:*

- а) токоферол;
- б) цианистый калий;
- в) тироксин;
- г) арахидоновая кислота;
- д) пируват.

14. Угарный газ (CO) нарушает биоэнергетические процессы, потому что блокирует:

*Варианты ответа:*

- а) АТФ-синтазу;    в) цитохром b;  
б) цитохромоксидазу;                                      г) сукцинатдегидрогеназу.

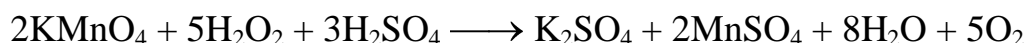
15. Разобщители нарушают синтез АТФ, потому что:

*Варианты ответа:*

- а) блокируют АТФ-синтазу;  
б) уменьшают трансмембранный потенциал;  
в) ингибируют цитохромоксидазу;  
г) разрушают митохондрии.

### **Лабораторная работа. Количественное определение каталазы по Баху и Зубковой.**

*Принцип метода.* Основан на титриметрическом определении количества перекиси водорода, расщепленной ферментом за определенный промежуток времени, по следующему уравнению:



О количестве расщепленной перекиси водорода судят по разности количества  $\text{KMnO}_4$ , израсходованного на титрование до и после действия каталазы.

Активность каталазы выражают с помощью КЧ и показателя каталазы. КЧ называют количество миллиграммов перекиси водорода, которое разлагается в 1 мкл крови.

*Ход работы.* Разведенную кровь (1 : 1000) взбалтывают и добавляют по 1 мл в 2 колбы, приливают по 7 мл дистиллированной воды; в опытную пробу добавляют 2 мл 1 %-ного раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$ , а в контрольную — 5 мл 10 %-ного раствора  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Действие каталазы в кислой среде (в контрольной пробе) прекращается, т. к. оптимум рН = 7,4.

Колбы оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Затем приливают в опытную колбу 5 мл 10 %-ного  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , а в контрольную — 2 мл 1 %-ного  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Содержимое каждой колбы титруют 0,1н раствором  $\text{KMnO}_4$  до появления бледно-розовой окраски.

Рассчитывают КЧ по формуле 2:

$$\text{КЧ} = (\text{A} - \text{B}) \times 1,7, \quad (2)$$

где А — количество 0,1н раствора  $\text{KMnO}_4$ , пошедшее на титрование контрольной пробы, где каталаза разрушена, мл;

В — количество 0,1н раствора  $\text{KMnO}_4$ , пошедшее на титрование опытной пробы, мл.

На титрование контрольной пробы, где каталаза разрушена, пойдет больше раствора  $\text{KMnO}_4$ , чем на титрование опытной пробы. Полученную

разность умножают на 1,7 (коэффициент пересчета) и получают КЧ для исследуемой крови.

В норме КЧ составляет 10–15 единиц.

*Клинико-диагностическое значение.* Определение активности каталазы крови имеет значение для диагностики рака, анемии, туберкулеза. При этих заболеваниях активность каталазы в крови снижается.

*Примечание.* Показателем каталазы служит дробь, в которой числителем является КЧ, а знаменателем — число миллионов эритроцитов в 1 мкл исследуемой крови.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 135–154, 110–120, 424–426.

2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 274–281, 294–296, 130–137, 428–432, 618–621.

3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 118–123, 151–159, 170–172, 417–430, 71.

4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 224–235, 452–459.

5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 118–139, 281–282.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 305–317.

#### *Дополнительная*

7. Ленинджер, А. Л. Основы биохимии: в 2 т. / А. Л. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 1. — С. 403–438, 508–550.

8. Молекулярная биология клетки: в 2 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 1. — С. 430–459.

9. Скулачев, В. П. Энергетика биологических мембран / В. П. Скулачев. — М.: Наука, 1989.

**ЗАНЯТИЕ 8.**  
**КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ ПО РАЗДЕЛАМ**  
**«ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ»,**  
**«ЭНЗИМОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ»**

**Цель занятия:** контроль усвоения тем раздела.

**Контрольные вопросы:**

1. Краткая история биохимии. Значение биохимии для врача.
2. Характеристика основных биохимических методов.
3. Строение, свойства, классификация и биологическая роль аминокислот.
4. Структура, физико-химические свойства пептидов, их значение для организма.
5. Физико-химические свойства и функции белков.
6. Уровни структурной организации, форма и размеры белковых молекул.
7. Качественные реакции на белки и аминокислоты.
8. Высаливание и денатурация: механизмы, применение в лечебной и лабораторной практике.
9. Количественное определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом (принцип метода, диагностическое значение).
10. История энзимологии. Свойства ферментов. Сходство и отличие ферментативного и неферментативного катализа.
11. Доказательства белковой природы фермента. Выделение и очистка ферментов.
12. Структурно-функциональная организация ферментов. Кофакторы и коферменты.
13. Механизм действия ферментов. Теория промежуточных соединений. Термодинамика ферментативного катализа.
14. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций.
15. Кинетика ферментативных реакций.  $K_m$  — определение, физиологическое значение.
16. Механизмы регуляции активности ферментов. Виды ингибирования.
17. Аллостерические ферменты. Особенности строения и функционирования, свойства и биологическая роль.
18. Качественное обнаружение и количественное определение активности ферментов. Единицы измерения количества и активности ферментов.
19. Номенклатура и классификация ферментов.
20. Локализация ферментов в клетке. Органоспецифические и маркерные ферменты. Изменения ферментативного спектра в онтогенезе.
21. Изоферменты, их биологическая роль и происхождение. Использование изоферментов в диагностике.
22. Энзимопатии, их классификация, причины возникновения. Степень клинических проявлений энзимопатий.
23. Механизм развития нарушений при энзимопатиях (первичные и вторичные метаболические блоки).



24. Энзимодиагностика. Принципы, задачи и объекты исследования.
25. Количественное определение активности амилазы по Вольгемуту (принцип метода, диагностическое значение).
26. Количественное определение активности каталазы по Баху и Зубковой (принцип метода, диагностическое значение).
27. Применение ферментов в лабораторной диагностике.
28. Энзимотерапия, способы и цели применения. Иммуобилизованные ферменты, липосомы.
29. История развития учения о БО.
30. Основная роль БО в процессах жизнедеятельности. Пути утилизации кислорода в организме.
31. Принципы преобразования и передачи энергии в живых системах. Окислительно-восстановительный потенциал.
32. Этапы БО. Схема образования и превращения основных энергетических субстратов.
33. Макроэргические соединения, причины макроэргичности. Строение, способы образования и роль АТФ.
34. Строение и функции митохондрий. Сравнительная характеристика мембран митохондрий. Локализация митохондриальных ферментов.
35. ЦТК как общий конечный пункт утилизации субстратов БО. История открытия ЦТК. Последовательность реакций, ферменты, коферменты ЦТК. Регуляция и биологическая роль ЦТК. Энергетический баланс одного оборота ЦТК.
36. Ферменты, коферменты БО.
37. Строение и роль в энергетическом обмене витаминов РР(В<sub>5</sub>), В<sub>2</sub>, С.
38. Строение и роль в процессах БО витаминов А, Е, С.
39. Митохондриальная ДЦ. Основные принципы и механизмы функционирования. Комплексы ДЦ.
40. Механизмы сопряжения ОФ. Строение и функции протонной АТФ-азы. Коэффициент Р/О.
41. Хемосмотическая теория Митчелла.  $\Delta\mu\text{H}^+$ , его структура, механизм генерации и пути утилизации.
42. Разобщение окисления и фосфорилирования. Разобщители ОФ, их природа и механизм действия. Ингибиторы ДЦ.
43. Особенности митохондриального окисления в бурой жировой ткани, ее биологическая роль.
44. Микросомальная ДЦ. Механизм и биологическая роль микросомального окисления.
45. Сходство и отличие микросомального и митохондриального окисления. Связь ЦТК, ДЦ митохондрии с микросомальной ДЦ.
46. Механизмы образования активных форм кислорода, их биологическая роль.
47. Перекисное окисление в норме и при патологии.
48. Ферментативная и неферментативная АОЗ. Механизмы действия и биологическая роль. Анти- и прооксиданты.

## РАЗДЕЛ 3. БИОХИМИЯ УГЛЕВОДОВ

### ЗАНЯТИЕ 9.

#### УГЛЕВОДЫ-1. ХИМИЯ УГЛЕВОДОВ.

#### ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ.

#### МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА, ФРУКТОЗЫ И ГАЛАКТОЗЫ

**Цель занятия:** сформировать представления о биологической роли, молекулярных механизмах переваривания и всасывания углеводов, путях метаболизма углеводов в живых организмах.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение, классификацию и свойства углеводов.
2. Механизмы переваривания компонентов пищи в ЖКТ.
3. Молекулярные механизмы транспорта веществ через биологические мембраны.

Студент должен уметь:

1. Выполнять качественные реакции на углеводы.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Строение, классификация углеводов. Характеристика моно-, ди- и полисахаридов. Гомополисахариды: крахмал, гликоген, клетчатка. Гетерополисахариды: кислые (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин) и нейтральные (нейраминовая и сиаловая кислоты). Функции углеводов в организме. Роль клетчатки в процессе пищеварения.

1.2. Переваривание и всасывание углеводов в ЖКТ. Виды пищеварения (полостное, пристеночное и внутриклеточное), их характеристика.

1.3. Механизмы транспорта углеводов через мембрану (простая, облегченная диффузии, активный транспорт). Роль Na/K-АТФ-азы в транспорте глюкозы.

1.4. Превращение галактозы и фруктозы в глюкозу в норме и при патологии.

1.5. Значение фосфорилирования глюкозы. Пути обмена (образование и утилизация) глюкозо-6-фосфата. Схема углеводного обмена в организме.

1.6. Метаболизм гликогена (синтез и мобилизация), реакции, ферменты, регуляция.

1.7. Гликогенозы. Основные формы, их клиническая манифестация.

##### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

## Задачи

1. Какой представитель углеводов не усваивается организмом, но необходим для нормального пищеварения?

*Варианты ответа:*

- а) гликоген;
- б) крахмал;
- в) лактоза;
- г) мальтоза;
- д) целлюлоза.

2. В состав гиалуроновой кислоты входят:

*Варианты ответа:*

- а) глюкоза и фруктоза;
- б) глюкуроновая кислота и N-ацетилгалактозамин-6-сульфат;
- в) глюкуроновая кислота и N-ацетилглюкозамин;
- г) галактоза и глюкозамин.

3. Какой из углеводов стимулирует перистальтику кишечника?

*Варианты ответа:*

- а) целлюлоза;
- б) гликоген;
- в) крахмал;
- г) лактоза;
- д) мальтоза;
- е) фруктоза.

4. Фермент, фосфорилирующий глюкозу:

*Варианты ответа:*

- а) гексокиназа;
- б) альдолаза;
- в) фосфофруктокиназа;
- г) фосфоорилаза;
- д) ЛФГ.

5. Выбрать правильное утверждение:

*Варианты ответа:*

- а) глюкоза относится к кетозам;
- б) лактоза является моносахаридом;
- в) фруктоза является пентозой;
- г) сахароза состоит из фруктозы и галактозы;
- д) крахмал содержит альфа-1,4-гликозидные связи.

6. Гликоген — это...

*Варианты ответа:*

- а) неразветвленный полисахарид, состоящий из остатков глюкозы, связанных альфа-1,6-гликозидной связью;
- б) линейный полисахарид, состоящий из остатков глюкозы, связанных альфа-1,4-гликозидной связью;
- в) разветвленный полисахарид, состоящий из остатков глюкозы, связанных альфа-1,4-и альфа-1,6-гликозидной связью;
- г) линейный полисахарид, состоящий из остатков глюкозы, связанных бета-1,4-гликозидной связью.

7. Правильно расставьте последовательность включения каскада реакций гликогенолиза в скелетной мышце:

*Варианты ответа:*

- а) аденилатциклаза;
- б) киназа фосфоорилазы;
- в) протеинкиназа (киназа киназы фосфоорилазы);
- г) адреналин;
- д) G-белок;
- е) фосфоорилаза;
- ж) рецептор.

## Лабораторные работы

**Лабораторная работа № 1. Определение активности  $\alpha$ -амилазы в моче энзиматическим кинетическим методом.**

*Принцип метода.* Под действием  $\alpha$ -амилазы защищенный синтетический субстрат EPS (4,6-этилиден (G<sub>7</sub>)-п-нитрофенил(G<sub>1</sub>)- $\alpha$ ,D-мальтогептаозид) гидролизуется с образованием бесцветных нитрофенилмальтоозидов. Под действием  $\alpha$ -глюкозидазы нитрофенилмальтоозиды гидролизуются до глюкозы и окрашенного п-нитрофенола. Скорость нарастания концентрации п-нитрофенола пропорциональна активности фермента.

*Ход работы.* В пробирку налить 8 мл рабочего реагента и 0,16 мл свежей мочи, тщательно перемешать и инкубировать в термостате при температуре 37 °С в течение 2 мин.

Не доставая пробирку из термостата, отобрать 2 мл исследуемого раствора в кювету с толщиной слоя 0,5 см и измерить начальную экстинкцию на ФЭКе ( $\lambda = 405$  нм) против дистиллированной воды.

Далее определять изменения экстинкции за 1 мин ( $\Delta E/\text{мин}$ ) в течение последующих 3 мин.

*Расчет.* Расчет активности (А)  $\alpha$ -амилазы проводят по формуле 3:

$$A \text{ (ед/л)} = 6\,067 \times 2 \times \Delta E/\text{мин}, \quad \text{или} \quad (3)$$

$$A \text{ (нмоль/с} \times \text{л)} = 101\,137 \times 2 \times \Delta E/\text{мин}.$$

$$A_1 = \Delta E_1 / \Delta t_1 = E_1 - E_0 / t_1 - t_0$$

$$A_2 = \Delta E_2 / \Delta t_2 = E_2 - E_0 / t_2 - t_0$$

$$A_3 = \Delta E_3 / \Delta t_3 = E_3 - E_0 / t_3 - t_0$$

$$A_{\text{ср.}} = A_1 + A_2 + A_3 / 3$$

*Нормальные величины:* до 1000 ед/л или 16 670 нмоль / с  $\times$  л

*Клинико-диагностическое значение.* Определение активности амилазы мочи и сыворотки крови широко используется в клинической практике для диагностики заболеваний поджелудочной железы. При острых панкреатитах амилазная активность мочи и сыворотки крови увеличивается в десят-

ки раз, особенно в первые сутки заболевания, а затем постепенно возвращается к норме. При почечной недостаточности амилаза в моче отсутствует. В детском возрасте увеличение активности амилазы наблюдается при эндемическом паротите, что указывает на одновременное поражение поджелудочной железы вирусом паротита.

*Выводы.* Записать полученные результаты, построить график зависимости активности фермента от времени и дать клинико-диагностическую оценку.

## Лабораторная работа № 2. Переваривание углеводов в ЖКТ

*Принцип метода.* Основан на специфическом гидролизе крахмала амилазой слюны. При этом гидролиз крахмала ферментами желудочного сока и панкреатина (ферментного препарата — экстракта поджелудочной железы) не происходит. Другой полисахарид пищи — целлюлоза — не подвергается гидролизу ни одним из названных ферментов.

**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с нагреванием на спиртовке.

*Ход работы.* Готовят пробы в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 — Приготовление проб

№	Раствор крахмала	Суспензия	Слюна	Желудочный сок	Панкреатин
1	1,0	–	1,0	–	–
2	–	1,0	1,0	–	–
3	1,0	–	–	1,0	–
4	–	1,0	–	1,0	–
5	1,0	–	1,0	1,0	–
6	–	1,0	1,0	1,0	–
7	1,0	–	–	–	2,0
8	–	1,0	–	–	2,0

Пробирки инкубируют в термостате при 37 °С 30 мин. Затем содержимое каждой пробы анализируют с помощью реакции Троммера на наличие продуктов расщепления полисахарида. Для этого в каждую из 8 пробирок добавляют по 1 мл 10 %-ного едкого натра и по 5 капель 1 %-ного сульфата меди. Осторожно нагревают верхнюю часть раствора в пробирке до закипания и кипятят в течение 1 мин. Появление красного осадка закиси меди указывает на положительную реакцию Троммера и присутствие глюкозы и мальтозы.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Лабораторная работа № 3. Выделение муцина из слюны**

*Принцип метода.* Основан на кислотной денатурации муцина слюны.

**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с концентрированной серной кислотой.

*Ход работы.* В пробирку собирают 1–2 мл слюны и по каплям добавляют уксусную кислоту. Выпадает осадок гликопротеида — муцин.

Жидкость из пробирки осторожно сливают, а сгусток слегка высушивают фильтровальной бумагой.

На сгусток наносят 3 капли 0,2 %-ного раствора  $\alpha$ -нафтола и 20 капель концентрированной серной кислоты. Появление фиолетово-розового окрашивания свидетельствует о наличии углеводов в белке.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

#### ***Рекомендуемая литература***

##### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 155–166.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 297–312, 315–332.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 306–328.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 248–254.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 140–150, 189–194.

##### *Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 319–326, 335–338, 665–670.

## **ЗАНЯТИЕ 10.**

### **УГЛЕВОДЫ-2. ТКАНЕВОЙ ОБМЕН УГЛЕВОДОВ. АНАЭРОБНЫЙ И АЭРОБНЫЙ ГЛИКОЛИЗ**

**Цель занятия:** сформировать у студентов знания о путях и механизмах обмена глюкозы в организме. Научиться определять концентрацию глюкозы в крови.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Цикл Кребса — реакции, ферменты, энергетический баланс, регуляция.

2. Молекулярные механизмы транспорта веществ через биологические мембраны.

Студент должен уметь:

1. Выполнять колориметрический анализ.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Пути обмена глюкозо 6-фосфата в тканях (схема углеводного обмена в организме).

1.2. Анаэробное расщепление углеводов — гликолиз, гликогенолиз (ферменты, реакции). Киназные реакции гликолиза. Субстратное фосфорилирование. Гликолитическая оксидоредукция.

1.2.1. Молочнокислое и спиртовое брожение — ферменты, реакции, сходство и отличие.

1.3. Метаболизм этанола в организме. Механизм токсического действия этанола и пути детоксикации (алкоголь ДГ, МЭОС, каталаза).

1.4. Аэробный гликолиз. Окислительное декарбоксилирование пирувической кислоты (ферменты, реакции). Строение пируватдегидрогеназного комплекса.

1.5. Витамин В<sub>1</sub>. Строение, роль в обмене, картина гипо- и авитаминоза.

1.6. Регуляция гликолиза и гликогенолиза. Эффект Пастера (сущность и механизм).

1.7. Энергетический баланс окисления углеводов.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

#### **Задачи**

1. Пируватдегидрогеназный комплекс является мультиэнзимной системой, в его состав входят:

*Варианты ответа:*

- а) 3 фермента и 5 коферментов;
- б) 5 ферментов и 5 коферментов;
- в) 5 ферментов и 3 кофермента.

2. Функцией пируватдегидрогеназного комплекса является образование:

*Варианты ответа:*

- а) щавелеуксусной кислоты;
- б) пирувата;
- в) ацетил-КоА;
- г) лактата.

3. Фермент субстратного фосфорилирования в гликолизе:

*Варианты ответа:*

- а) ЛДГ;
- б) гексозофосфатизомераза;
- в) альдолаза;
- г) фосфоглицератмутаза;
- д) пируваткиназа.





Образующаяся перекись водорода под действием пероксидазы окисляет субстрат с образованием окрашенного продукта определяемого фотометрически.

*Ход работы.* Компоненты в реакционной смеси отбираются в количествах согласно таблице 3:

Таблица 3 — Приготовление реакционной смеси

Компоненты	Опытная проба (мл)
Слюна	0,01
Рабочий реагент	2,00

Реакционную смесь перемешивают и инкубируют 10 мин при 37 °С в термостате при предварительно прогревом рабочем реагенте. Измеряют оптическую плотность опытной пробы ( $E_{пр.}$ ) на КФК против дистиллированной воды при длине волны 510 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 0,5 см. Стабильность окраски опытной пробы 15 мин.

*Расчет.* Концентрацию глюкозы в исследуемой жидкости в ммоль/л определяют по формуле 4:

$$C_{оп.} = E_{оп.}/E_{ст.} \times C_{ст.}, \quad (4)$$

где  $C_{ст.}$  — концентрация глюкозы в калибровочном растворе ( $C_{ст.} = 10$  ммоль/л);

$C_{оп.}$  — концентрация глюкозы в исследуемой слюне;

$E_{оп.}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{ст.}$  — экстинкция калибровочного раствора ( $E_{ст.} = 0,216$ ).

*Норма.* Концентрация глюкозы в слюне 0,5–1,5 ммоль/л.

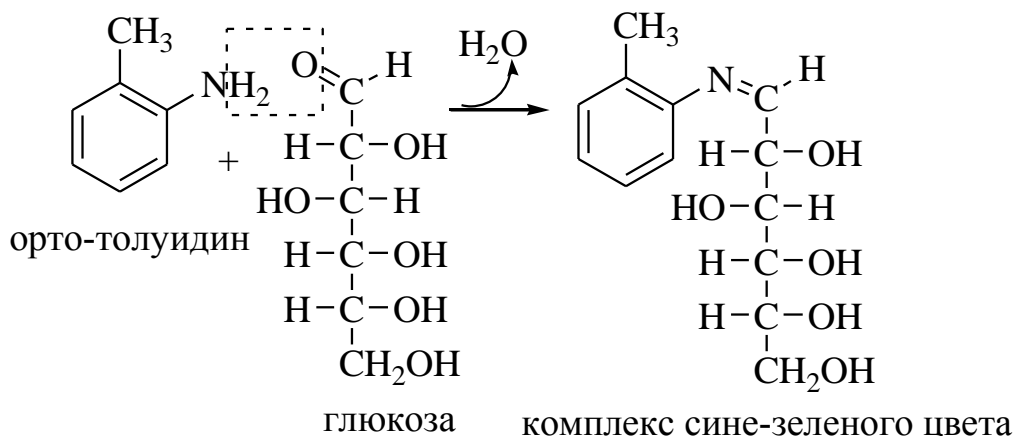
*Клинико-диагностическое значение.* Увеличение концентрации глюкозы в крови (гипергликемия) наблюдается при СД, остром панкреатите, панкреатических циррозах, эмоциональных стрессах, после эфирного наркоза, обильного приема углеводов с пищей, а также при повышении гормональной активности ряда желез (щитовидной, гипофиза, коркового и мозгового слоя надпочечников).

Снижение уровня глюкозы в крови (гипогликемия) отмечается при поражении паренхимы печени, нарушении ферментативной активности при распаде гликогена; гипофункции щитовидной железы, надпочечников, гипофиза, передозировке инсулина при лечении СД, нарушении всасывания углеводов, отравлениях фосфором, бензолом, хлороформом, при недостатке приема с пищей углеводов, после больших потерь крови.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## Лабораторная работа № 2. Определение концентрации глюкозы в крови по цветной реакции с орто-толуидином.

*Принцип метода.* Глюкоза при нагревании с о-толуидином в кислой среде дает сине-зеленое окрашивание, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации глюкозы и определяется на фотоэлектроколориметре (см. уравнение):



С о-толуидином реагируют все альдегиды, однако их содержание в крови невелико, поэтому метод позволяет определить практически одну глюкозу.

**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с орто-толуидином и кипячением на водяной бане.

*Ход работы.* В две центрифужные пробирки наливают по 0,9 мл 3 %-ного раствора ТХУ, затем в одну из них вносят 0,1 мл крови, взятой из пальца (или сыворотки), а в другую — 0,1 мл стандартного раствора глюкозы (5,5 ммоль/л). Содержимое пробирок перемешивают и центрифугируют 10 мин при 3000 об/мин.

Полученный супернатант (надосадочную жидкость) переливают в чистую сухую пробирку, из которой по 0,5 мл надосадочной жидкости из каждой пробирки вносят в обычные сухие пробирки, добавляют по 4,5 мл ортотолуидинового реактива.

Пробирки закрывают фольгой и помещают в кипящую водяную баню точно на 8 мин. Необходимо следить, чтобы вода в бане непрерывно кипела. Вынимают пробирки и охлаждают их водопроводной водой до комнатной температуры. Затем на фотометре измеряют оптическую плотность проб в кюветах на 10 мм против воды с красным светофильтром (620 нм).

*Расчет.* Концентрацию глюкозы в опытной пробе рассчитывают по формуле 5:

$$C_{\text{оп}} = C_{\text{ст}} (E_{\text{оп}}/E_{\text{ст}}), \quad (5)$$

где  $C_{\text{оп}}$  — концентрация глюкозы в крови в пробе, ммоль/л;

$C_{\text{ст}}$  — концентрация глюкозы в стандартной пробе (5,5 ммоль/л);

$E_{\text{оп}}$  — оптическая плотность пробы;

$E_{\text{ст}}$  — оптическая плотность стандарта глюкозы.

*Норма.* Нормальная концентрация глюкозы в крови человека колеблется в пределах 3,33–5,55 ммоль/л (60–100 мг %).

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 167–172, 92–96.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 333–343, 124–139.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 328–357.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 252–260, 267–268.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 181–188.

#### *Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 327–335, 343–353.

## **ЗАНЯТИЕ 11. УГЛЕВОДЫ-3. ТКАНЕВОЙ ОБМЕН УГЛЕВОДОВ. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ. РЕГУЛЯЦИЯ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ**

**Цель занятия:** сформировать представления о путях метаболизма глюкозы, молекулярных и физиологических механизмах регуляции уровня глюкозы в крови.

### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Механизмы переваривания углеводов.
2. Механизмы транспорта глюкозы в клетку.
3. Гликолиз.
4. Цикл Кребса.
5. ДЦ митохондрий.
6. Механизмы действия гормонов.

Студент должен уметь:

1. Выполнять качественные реакции на наличие кетоновых тел.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Пути обмена глюкозо-6-Ф в ткани.

1.2. ПФП: внутриклеточная и тканевая локализация реакций и ферментов. Биологическое значение и регуляция ПФП.

1.3. ГНГ. Внутриклеточная и тканевая локализация реакций и ферментов. Субстратное обеспечение ГНГ. Глюкозо-лактатный (цикл Кори) и глюкозо-аланиновый (цикл Фелига) межорганные циклы. Субстратная и гормональная регуляция ГНГ. «Футильные» циклы, их роль в регуляции. Биологическое значение ГНГ.

1.4. Путь глюкуроновой кислоты. Схема биосинтеза основных классов ГАГ, его регуляция.

1.5. Регуляция уровня глюкозы в крови. Нормо-, гипо- и гипергликемии. Характеристика, причины, механизм возникновения, их клинические проявления. Роль инсулина в тканевом метаболизме глюкозы. Роль гомеостаза глюкозы в жизнедеятельности организма.

1.6. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови. Срочный механизм, пути его реализации, роль ЦНС, гормонов, субстратов. Биологическое значение срочного механизма. Постоянный механизм, роль гипоталамо-гипофизарной регуляции, гормонов и субстратов в его реализации. Значение ГНГ в его реализации. Биологическое значение этого механизма.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

#### **Задачи**

1. В каком из метаболических путей образуются углеводы, используемые для биосинтеза нуклеиновых кислот?

*Варианты ответа:*

- |               |                           |
|---------------|---------------------------|
| а) гликолиз;  | г) цикл лимонной кислоты; |
| б) ГНГ;       | д) пентозофосфатный путь; |
| в) цикл Кори; | е) цикл Фелига.           |

2. Главными продуктами пентозофосфатного цикла являются:

*Варианты ответа:*

- |             |                  |
|-------------|------------------|
| а) NADPH;   | д) NADH;         |
| б) гексозы; | е) $\alpha$ -КГ; |
| в) пентозы; | ж) лактат;       |
| г) АТФ;     | з) цитрат.       |

3. Субстрат ГНГ — это...

*Варианты ответа:*

- |             |                 |
|-------------|-----------------|
| а) пируват; | г) ацетоацетат; |
| б) этанол;  | д) ацетил-КоА.  |
| в) ХС;      |                 |

4. Укажите правильную последовательность метаболитов при превращении аланина в глюкозу:

*Варианты ответа:*

- |            |              |
|------------|--------------|
| а) Ала;    | е) ФДА;      |
| б) ФЕП;    | ж) ПВК;      |
| в) ОА;     | з) 1,3-ДФГК; |
| г) 3-ФГА;  | и) глюкоза.  |
| д) ФР-6-Ф; |              |

5. Какие из реакций являются общими для гликолиза и ГНГ?

*Варианты ответа:*

- а) Ф-6-Ф → Г-6-Ф;
- б) пируват → оксалоацетат;
- в) Г-6-Ф → глюкоза;
- г) Ф-1,6-диФ → Ф-6-Ф;
- д) оксалоацетат → фосфоенолпируват;
- е) сукцинат → фумарат;
- ж) 3-ФГК → 2-ФГК.

6. Укажите условия и механизмы активации ГНГ:

*Варианты ответа:*

- а) высоким уровнем  $\text{CH}_3\text{-CO}\sim\text{SKoA}$ ;
- б) высоким уровнем жирных кислот;
- в) низким уровнем жирных кислот;
- г) низким уровнем АТФ;
- д) высоким уровнем АТФ.

7. Метаболит цикла Кори:

*Варианты ответа:*

- |            |                 |
|------------|-----------------|
| а) этанол; | г) ацетоацетат; |
| б) лактат; | д) ацетил-КоА.  |
| в) ХС;     |                 |

8. Лактат, циркулирующий в крови, может превращаться в глюкозу:

*Варианты ответа:*

- |                       |                      |
|-----------------------|----------------------|
| а) в печени;          | г) в жировой ткани;  |
| б) в сердечной мышце; | д) в головном мозге; |
| в) в эритроцитах;     | е) в кишечнике.      |

9. При полном гидролизе гликопротеидов образуются:

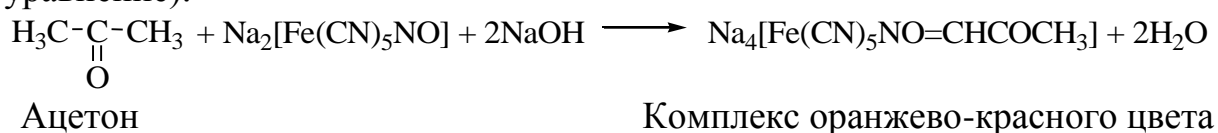
*Варианты ответа:*

- а) аминокислоты и аминсахара;
- б) аминсахара и глицерин;
- в) сахароза и рафиноза;
- г) аминокислоты и жирные кислоты.

**Лабораторная работа. Качественные реакции на ацетон (проба Легалья) и ацетоуксусную кислоту (реакция Герхардта).**

Проба Легалья на ацетон

*Принцип метода.* Ацетон и ацетоуксусная кислота в щелочной среде образуют с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание (см. уравнение):



После подкисления ледяной уксусной кислотой образуется соединение вишневого цвета.

**ВНИМАНИЕ! Соблюдать меры безопасности при работе с гидроксидом натрия.**

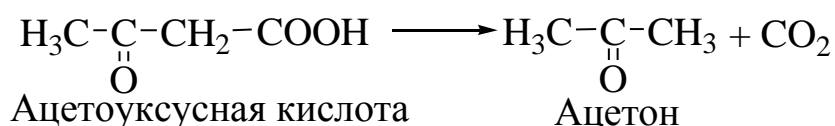
*Ход работы.* В пробирку наливают 1 каплю мочи, 1 каплю 10 %-ного раствора NaOH и 1 каплю свежеприготовленного нитропрусида натрия. Появляется оранжево-красное окрашивание.

Реакция Герхардта на ацетоуксусную кислоту

*Принцип метода.* Основан на образовании ацетоацетата железа вишнево-красного цвета.

*Ход работы.* К 5 каплям мочи прибавляют по каплям 5 %-ный раствор хлорного железа, при этом выпадает осадок фосфатов в форме FePO<sub>4</sub>.

При наличии ацетоуксусной кислоты от дальнейшего прибавления хлорного железа появляется вишнево-красное окрашивание. При стоянии окраска бледнеет вследствие самопроизвольного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты (см. уравнение):



При кипячении процесс протекает очень быстро.

*Клинико-диагностическое значение.* Образование кетоновых тел происходит в печени, откуда они доставляются другим тканям в качестве

энергетического материала. В норме их содержание в крови очень невелико — 13,4–185,2 мкмоль/л (0,14–1,9 мг%). В моче они содержатся в следовых количествах и не выявляются обычными реакциями.

Повышенная концентрация кетоновых тел в крови (кетонемия) и в моче (кетонурия) наблюдается при нарушении жирового или углеводного обмена — СД, голодании (дефицит углеводов), гиперпродукции гормонов (антагонистов инсулина), кортикостероидов, болезней Гирке. Гипокетонемия не имеет клинического значения.

*Выводы. Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.*

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 172–176, 182–185, 189–192.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 343–350, 355–362.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 357–368.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 264–267, 278–283, 399–409.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 196–204, 221–224.

#### *Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 338–343, 353–362.

## **ЗАНЯТИЕ 12.**

### **УГЛЕВОДЫ-4. ПАТОЛОГИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА**

**Цель занятия:** сформировать представления о молекулярных механизмах основных нарушений углеводного обмена, методах их лабораторной диагностики.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Механизмы переваривания углеводов.
2. Механизмы транспорта глюкозы в клетку.
3. Пути метаболизма глюкозы в тканях.
4. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови.
5. Общую схему энергетического обмена.

Студент должен уметь:

1. Определять концентрацию глюкозы в биологических жидкостях.

### ***Структура занятия***

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови (срочный и постоянный). Роль гомеостаза глюкозы в жизнедеятельности организма.

1.2. СД I типа (инсулинодефицитный диабет молодых). Причины его возникновения (абсолютный или относительный дефицит инсулярных эффектов). Биохимические сдвиги при инсулярной недостаточности, механизм их возникновения и метаболические последствия:

- а) активация гликогенолиза и ГНГ, гипергликемия, глюкозурия;
- б) активация липолиза — гиперлипемия, кетонемия, кетонурия, кетоацидоз, гиперхолестеринемия, дислиппротеидемия;
- в) активация протеолиза — гипераминоацидемия, гипераммонемия;
- г) гиперосмолярность — нарушение водно-электролитного и кислотно-основного состояния.

1.3. Основные клинические проявления диабета и их связь с нарушением метаболизма (полидипсия, полиурия, полифагия), осложнения диабета (нарушение регенерации тканей, снижение барьерных функций кожи и слизистых, кариес, атеросклероз, ангиопатии, нейропатии, слепота и др.).

1.4. Диагностика СД:

- а) клиническая диагностика — изменение водно-электролитного баланса, аппетита, множественный кариес и др.;
- б) лабораторная диагностика:
  - определение уровня глюкозы, кетоновых тел в крови и моче натощак;
  - анализ гликемических кривых, техника построения и интерпретация;
  - определение содержания в крови глюкозилированного гемоглобина, инсулина, С-пептида.

1.5. Гиперинсулинизм — причины, метаболические последствия, клинические проявления (гипогликемия, ожирение, диабет II типа).

1.6. Нарушение переваривания и всасывания углеводов в ЖКТ, дисахаридная недостаточность, механизм развития диареи, кетоацидоза и гиперосмолярности, основные клинические проявления.

1.7. Галактоземия, фруктозурия. Причины возникновения. Механизмы развития осложнений. Основные клинические проявления.

1.8. Гликогенозы — основные типы, причины и клинические проявления.

1.9. Мукополисахаридозы — причины и основные клинические проявления.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.



## Задачи

1. Метаболический процесс, который ингибируется при СД:

*Варианты ответа:*

- а) липолиз; г) ГНГ;
- б) кетогенез; д) орнитинный цикл.
- в) гликолиз;

2. Это вещество определяется в моче при СД:

*Варианты ответа:*

- а) белок; г) гемоглобин;
- б) уробилин; д) билирубин;
- в) креатин; е) глюкоза.

3. Эти вещества определяются в моче при голодании:

*Варианты ответа:*

- а) белок; д) глюкоза;
- б) гемоглобин; е) креатин;
- в) уробилин; ж) кетоновые тела.
- г) билирубин;

4. Фермент, недостаточность которого вызывает галактоземию:

*Варианты ответа:*

- а) галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза;
- б) кетогексокиназа;
- в) эпимераза УДФ-галактозы;
- г) галактозо-1-фосфатаза.

5. Реакция, катализируемая фосфофруктокиназой:

*Варианты ответа:*

- а) фруктозо-6-фосфат + АТФ  $\rightarrow$  фруктозо-1,6-дифосфат + АДФ;
- б) фосфоенолпируват + АДФ  $\rightarrow$  пируват + АТФ;
- в) фруктозо-1,6-дифосфат  $\leftrightarrow$  3-ФГА + ФДА;
- г) пируват  $\leftrightarrow$  лактат;
- д) 2-фосфоглицерат  $\leftrightarrow$  3-фосфоглицерат.

6. При дефиците этого фермента развивается болезнь Гирке:

*Варианты ответа:*

- а) фосфоорилазы мышц;
- б) амило-1,6-глюкозидазы;
- в) галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы;
- г) кислой альфа-глюкозидазы;
- д) глюкозо-6-фосфатазы.

7. При дефиците этого фермента развивается агликогеноз:

*Варианты ответа:*

- а) глюкозо-6-фосфатазы;
- б) гликогенсинтетазы;

- в) фосфоорилазы мышщ;
- г) амило-1,6-глюкозидазы;
- д) галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы;
- е) кислой альфа-глюкозидазы.

8. При дефиците этого фермента развивается болезнь Кори (Форбса):

*Варианты ответа:*

- а) глюкозо-6-фосфатазы;
- б) фосфоорилазы мышщ;
- в) гликогенсинтетазы;
- г) галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы;
- д) кислой альфа-глюкозидазы;
- е) амило-1,6-глюкозидазы.

9. Мукополисахаридозы — это группа наследственных заболеваний, обусловленных...

*Варианты ответа:*

- а) избытком ферментов расщепляющих протеогликаны;
- б) отсутствием инсулина;
- в) отсутствием глюкагона;
- г) недостатком ферментов, расщепляющих протеогликаны.

10. При дефиците этого фермента развивается болезнь Мак-Ардля:

*Варианты ответа:*

- а) гликогенсинтазы;
- б) гликогенфосфоорилазы;
- в) глюкозо-6-фосфатаз;
- г) амило-1,6-глюкозидазы;
- д) галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы;
- е) кислой альфа-глюкозидазы.

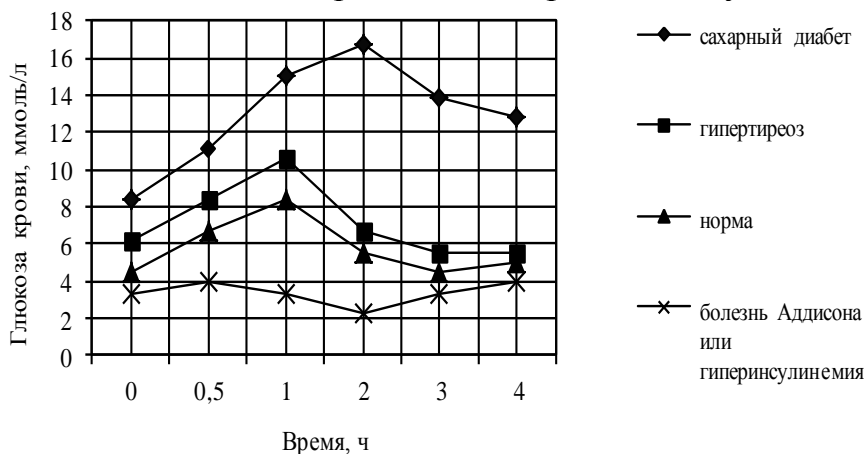
### **Лабораторная работа. Построение гликемической кривой.**

*Принцип метода.* Основан на том, что уровень глюкозы в крови (гликемия) обычно характеризует инсулярную функцию. Пероральная нагрузка глюкозой влечет за собой увеличение уровня глюкозы в крови — гипергликемию, которая стимулирует инсулярную активность, что приводит к снижению концентрации глюкозы в крови. Анализ графического изображения гликемической кривой позволяет выявить скрытые формы диабета и нарушение гликогенообразующей функции печени.

Изменения концентрации глюкозы в крови отражаются и на содержании глюкозы в слюне, что дает возможность в учебных целях построить гликемическую кривую по концентрации глюкозы в слюне.

*Ход работы.* Утром натощак у обследуемого берут слюну и определяют в ней содержание глюкозы глюкозооксидазным методом (см. занятие «Углеводы-2»). После чего он принимает (в течение не более 5 мин) 50–100 г

глюкозы в 200 мл теплой кипяченой воды (из расчета 1 г глюкозы на 1 кг массы тела). Глюкозу можно заменить сахарозой (из расчета 1,5 г сахара на 1 кг массы тела). Затем повторно исследуют содержание глюкозы в слюне, собирая слюну каждые 30 мин (иногда через 15 мин) в течение 2,5 ч (если было принято 50 г глюкозы) и в течение 3 ч (если было принято 100 г глюкозы). У детей сахарную нагрузку проводят так же, как и у взрослых, изменяя только дозы вводимой глюкозы. На основании полученных данных строят график (рисунок 1), откладывая на оси ординат содержание глюкозы в крови (ммоль/л), а на оси абсцисс — время взятия пробы в минутах или часах.



**Рисунок 1 — Графическое изображение гликемических кривых**

Анализ гликемических кривых: у здорового человека уже через 15 мин после приема глюкозы наблюдается увеличение ее содержания в слюне, которое между 30-й и 60-й мин достигает максимальной величины. Затем начинается снижение и к 120-й мин содержание глюкозы достигает исходного уровня, отмечавшегося натощак, или с небольшими отклонениями в сторону как повышения, так и снижения. Через 3 ч содержание глюкозы в слюне достигает исходной величины.

При СД гликемические кривые имеют чрезвычайно высокую вершину и повышенный уровень глюкозы остается спустя 3 ч после нагрузки. При заболеваниях сопровождающихся гипофункцией «контринсулярных» гормонов (болезнь Аддисона, гипотиреоз), а также при поражении паренхимы печени, тяжелых анемиях, заболеваниях ЦНС, инфекционных болезнях, токсических состояниях, отмечают уположение кривой в виде небольшого пика и низкой гипогликемической кривой до и после нагрузки.

*Выводы. Записать полученный результат и дать его клинко-диагностическую оценку.*

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 189–192.

2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 355–358, 365–369.

3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 399–421.

4. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 194–195, 221–224.

*Дополнительная*

5. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 359–364.

### **ЗАНЯТИЕ 13. КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ ПО РАЗДЕЛУ «БИОХИМИЯ УГЛЕВОДОВ»**

**Цель занятия:** контроль усвоения тем раздела.

**Контрольные вопросы:**

1. Строение, классификация и биологическая роль углеводов.
2. Переваривание и всасывание углеводов в ЖКТ. Виды переваривания, понятие о пищеварительно-транспортном конвейере.
3. Строение и роль клетчатки в пищеварении.
4. Нарушение переваривания и всасывания углеводов. Мальабсорбция. Причины, клинические проявления.
5. Механизм транспорта моносахаридов в клетку: роль гормонов, переносчиков и Na/K-АТФазы.
6. Метаболизм галактозы в норме и при патологии.
7. Метаболизм фруктозы в норме и при патологии.
8. Значение фосфорилирования глюкозы. Характеристика глюкокиназы и гексокиназы. Пути обмена Г6Ф в тканях.
9. Строение и метаболизм гликогена (гликогенез и гликогенолиз). Гормональная регуляция метаболизма гликогена (роль гормонов, цАМФ, ионов  $Ca^{2+}$ ).
10. Баланс гликогена в организме. Наследственные нарушения обмена гликогена (гликогенозы).
11. Анаэробный гликолиз: молочнокислое брожение. Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, энергетический баланс, биологическая роль.
12. Анаэробный гликолиз: спиртовое брожение. Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, и энергетический баланс. Сходство и отличие от молочнокислого брожения.

13. Гликолитическая оксидоредукция и субстратное фосфорилирование в гликолизе. Физиологическое значение.
14. Метаболизм этанола в организме (характеристика АДГ, МЭОС и каталазного путей).
15. Повреждающее действие этанола на организм. Механизмы развития этанольной интоксикации и формирования привыкания.
16. Механизм окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Строение полиферментного комплекса. Физиологическое значение.
17. Аэробный гликолиз: схема, локализация, регуляция и биологическая роль, энергетический баланс.
18. ГНГ. Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, биологическая роль и энергетический баланс.
19. Субстратное и энергетическое обеспечение ГНГ. Межорганный обмен субстратами (циклы Кори и Фелига).
20. Характеристика ПФП (ПЦ). Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, биологическая роль.
21. Строение, биологическая роль и схема биосинтеза ГАГ.
22. Нормо-, гипо- и гипергликемия. Причины, механизм возникновения и клинические проявления.
23. Механизм действия и биологическая роль инсулина.
24. Срочный механизм регуляции уровня глюкозы в крови (роль НС и гормонов).
25. Постоянный механизм регуляции уровня глюкозы в крови. Основные гормоны, субстраты.
26. Механизм развития биохимических изменений и осложнений при недостаточности инсулярных эффектов (гипергликемия, глюкозурия, кетоацидоз, гиперосмолярность и др.), их клиническое проявление.
27. СД, виды, принципиальное отличие СД I и II типа.
28. Диагностика СД. Техника построения гликемической кривой.
29. Мукополисахаридозы.
30. Роль витаминов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, РР, липоевой кислоты, HS-КоА и др.) в углеводном обмене.

## РАЗДЕЛ 4. БИОХИМИЯ ЛИПИДОВ

### ЗАНЯТИЕ 14.

#### ЛИПИДЫ-1. КЛАССИФИКАЦИЯ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ. ОБМЕН ЛИПОПРОТЕИДОВ

**Цель занятия:** сформировать представления о строении, классификации основных липидов, их биологической функции, о молекулярных механизмах переваривания и всасывания липидов в ЖКТ. Изучить строение, химический состав, метаболизм и функциональную роль основных классов ЛП.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и свойства основных классов липидов (жирные кислоты, их производные, производные изопрена).
2. Строение мембран, модели мембран.

Студент должен уметь:

1. Проводить качественные реакции на продукты гидролиза липидов.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Липиды — их строение, классификации и биологическая роль.

1.1.1. Жирные кислоты и их производные (PG, LT, TxA), а также:

— простые липиды: воска, диолы, ТАГ;  
— сложные липиды: фосфоглицериды — ФЛ (фосфатиды: кефалины, лецитины, серинфосфатиды, инозитолфосфатиды, кардиолипины, плазмалогены); сфинголипиды (сфингомиелины, цереброзиды и ганглиозиды); гликолипиды, сульфоллипиды, ЛП.

1.1.2. Производные изопрена:

— стероиды (стерины и стериды);  
— каротиноиды (растительные пигменты, витамины);  
— терпены.

1.2. Роль липидов в построении мембран. Современные модели мембран, их биологическая роль.

1.3. Переваривание и всасывание липидов в ЖКТ. Строение и функции желчных кислот. Механизм эмульгирования жира. Печеночно-кишечный цикл желчных кислот. Значение липаз. Особенности переваривания липидов у грудных детей.

1.4. Ресинтез ТАГ и ФЛ в энтероцитах.

1.5. ЛП — строение, классификация, химический состав, функциональная роль ХМ, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП, ЛПВП. Метаболизм ЛП в норме. Экзогенный и эндогенный пути транспорта липидов в организме.

1.6. Роль рецепторов ЛП в метаболизме липидов.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

### Задачи

1. Желчные кислоты у человека представлены главным образом в виде:

*Варианты ответа:*

- |                             |                                |
|-----------------------------|--------------------------------|
| а) конъюгатов с глицином;   | г) конъюгатов с сульфатом;     |
| б) конъюгатов с ацетил-КоА; | д) метилированных производных; |
| в) конъюгатов с таурином;   | е) свободных желчных кислот.   |

2. Роль холестерина в структуре мембраны связана с превращением ее в:

*Варианты ответа:*

- |                                |                             |
|--------------------------------|-----------------------------|
| а) более «жидкую» — текучую;   | г) несущественна;           |
| б) более «твердую» — инертную; | д) менее упругую и прочную; |
| в) более упругую и прочную;    | е) более проницаемую.       |

3. ЛП-липаза обеспечивает гидролиз:

*Варианты ответа:*

- а) пристеночных липидов пищи в кишечнике;
- б) липидов пищи в полости кишечника;
- в) внутриклеточных ЛП;
- г) ТАГ, входящих в состав ХМ;
- д) ТАГ, входящих в состав ЛПНП;
- е) ФЛ, входящих в состав ЛПВП.

4. ХМ:

*Варианты ответа:*

- а) синтезируются энтероцитами;
- б) являются транспортной формой экзогенных ТАГ;
- в) являются транспортной формой эндогенных ТАГ;
- г) транспортируют ХС из периферических тканей в печень;
- д) транспортируют ТАГ из печени в периферические ткани;
- е) являются атерогенными;
- ж) не являются атерогенными.

5. Превращение насцентных ХМ в ремнантные связано с действием:

*Варианты ответа:*

- |                   |                     |
|-------------------|---------------------|
| а) фосфолипазы А; | г) ЛХАТ;            |
| б) ЛП-липазы;     | д) фосфолипазы С;   |
| в) ТАГ-липазы;    | е) аденилатциклазы. |

6. ЛПОНП:

*Варианты ответа:*

- а) синтезируются в жировой ткани;
- б) синтезируются в печени;
- в) являются транспортной формой эндогенных ТАГ;
- г) являются транспортной формой экзогенных ТАГ;
- д) являются транспортной формой ХС;
- е) являются атерогенным;
- ж) не являются атерогенным.

7. ЛППП:

*Варианты ответа:*

- а) синтезируются в печени;
- б) образуются в кровяном русле;
- в) синтезируются энтероцитами;
- г) имеют несколько фракций;
- д) являются транспортной формой эндогенных ТАГ;
- е) являются атерогенными;
- ж) не являются атерогенными.

8. ЛПНП:

*Варианты ответа:*

- а) синтезируются в печени;
- б) образуются в кровяном русле;
- в) являются транспортной формой ХС;
- г) являются транспортной формой экзогенных ТАГ;
- д) являются атерогенными;
- е) не являются атерогенными.

9. Превращение насцентных ЛПВП в ремнантные обусловлено действием:

*Варианты ответа:*

- а) фосфолипазы А;
- б) ЛП-липазы;
- в) ТАГ-липазы;
- г) ЛХАТ;
- д) насыщением эфирами ХС;
- е) аденилатциклазы.

10. Апо В-100:

*Варианты ответа:*

- а) образуется в печени;
- б) образуется в энтероцитах;
- в) является маркером ЛПНП;
- г) является маркером ЛПВП;
- д) активирует ЛХАТ;
- е) активирует ЛП-липазу.

11. Апо В-48:

*Варианты ответа:*

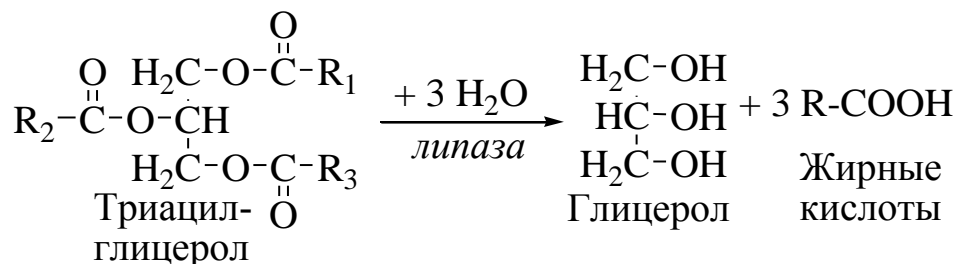
- а) образуется в печени;
- б) образуется в энтероцитах;
- в) активирует ЛХАТ;
- г) является маркером ЛПВП;
- д) является маркером ЛПНП;
- е) является маркером ХМ.



## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Влияние желчи на активность липазы.

*Принцип метода.* Липаза ускоряет гидролиз нейтрального жира на глицерин и жирные кислоты (см. уравнение), что приводит к снижению pH и исчезновению розовой окраски индикатора — фенолфталеина. Активность панкреатических липаз, определяемых титрометрически, резко возрастает при действии желчных кислот (см. уравнение).



*Ход работы.* Готовят 3 колбы — две опытные и одну контрольную. В них смешивают препарат липазы и субстрат (молоко или подсолнечное масло), как указано в таблице 4.

Таблица 4 — Приготовление проб

Состав инкубационной смеси, мл	Опытные пробы		Контроль
	без желчи	с желчью	
Молоко разведенное (1:10)	10	10	10
Глицериновый экстракт поджелудочной железы	1	1	1*
Раствор желчи	—	1	1
Вода	1	—	1

\* Экстракт предварительно кипятят 10 мин для инактивации липаз.

Приготовленные инкубационные смеси тщательно перемешивают. Затем из каждой колбы отбирают по 1 мл смеси в заранее приготовленные стаканчики для титрования. Добавляют в каждый стаканчик по 1–2 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,01М раствором NaOH до слабо-розового окрашивания. При первом титровании нейтрализуются органические кислоты — молочная и другие, которые присутствовали в молоке до начала действия липазы.

Оставшуюся в колбах смесь помещают в термостат (при  $t = 40 \text{ }^\circ\text{C}$ ) и через определенные интервалы времени (15, 30, 90 мин) отбирают из каждой колбы (не извлекая их из термостата) по 2 мл смеси и титруют 0,01М раствором NaOH. Время титрования и объем израсходованного NaOH фиксируют в таблице 5.

Результаты первого титрования, полученные до начала действия липаз, вычитают из результата последующих титрований.

Таблица 5 — Результаты титрования

Время инкубации, мин	Объем (мл) 0,01М NaOH, пошедшего на титрование		
	Опытные пробы		Контроль
	без желчи	с желчью	
0			
15			
30			
90			

На основании полученных данных строят график, где по оси абсцисс откладывают время (в минутах), а по оси ординат — активность липазы, выраженную объемом (мл) 0,01 М раствора NaOH, пошедшего на нейтрализацию жирных кислот, образовавшихся за данный отрезок времени. Сравнивают активность липазы в присутствии желчи и без нее.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Лабораторная работа № 2. Эмульгирование жира.**

*Принцип метода.* Эмульгирование жира различными амфифильными веществами происходит благодаря их адсорбции на границе раздела 2 фаз — гидрофобной и гидрофильной.

*Ход работы.* В 5 пробирок вносят по 1 капле растительного масла. Затем в каждую пробирку соответственно приливают по 1–2 капли растворов NaOH, NaHCO<sub>3</sub>, яичного белка, моющего средства и желчи. Содержимое пробирок тщательно перемешивают и наблюдают образование эмульсии жира. Объясните механизм образования эмульсии жира в этих растворах и значение процесса эмульгирования.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Лабораторная работа № 3. Качественная реакция на желчные кислоты.**

*Принцип метода.* При взаимодействии желчной кислоты с оксиметилфурфуролом, образующимся из тростникового сахара под действием концентрированной серной кислоты, появляется красно-фиолетовое окрашивание (реакция Петтенкофера).

**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с концентрированной серной кислотой.

*Ход работы.* В сухую пробирку (под которую подложен лист белой бумаги) вносят 2 капли желчи, 2 капли 20 %-ного раствора сахарозы и тщательно перемешивают стеклянной палочкой, а затем приливают 7 капель концентрированной серной кислоты и перемешивают этой же стек-

лянной палочкой. Через 2–3 мин появляется красная окраска, переходящая при стоянии в красно-фиолетовую.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 193–213.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 370–391.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 370–390.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 287–289, 297–307.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 151–164, 256–262.

#### *Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 363–372, 574–577.

## **ЗАНЯТИЕ 15. ЛИПИДЫ-2. ТКАНЕВОЙ ОБМЕН ЛИПИДОВ. КАТАБОЛИЗМ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ. МЕТАБОЛИЗМ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ**

**Цель занятия:** изучить главные метаболические пути основных классов липидов (ТАГ, ФЛ, жирных кислот, кетонových тел, ХЛ). Научиться определять содержание общих липидов крови.

### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Характеристику основных классов ЛП.
2. Метаболизм ЛП в норме.
3. Пути передачи гормонального сигнала на клетку (аденилатциклазный, инозитолтрифосфатный).
4. ЦТК, его энергетический баланс.
5. Структуру и функцию полиферментных комплексов (на примере пируват-ДГ).

Студент должен уметь:

1. Проводить исследование на колориметре.

## **Структура занятия**

### **1. Теоретическая часть**

- 1.1. Механизм мобилизации жира (роль гормонов, цАМФ и  $\text{Ca}^{2+}$ ).
- 1.2. Свойства и физиологическая роль СЖК. Транспорт СЖК в крови.
- 1.3. Окисление ТАГ в тканях, окисление глицерина, его энергетический баланс.
- 1.4. Этапы  $\beta$ -окисления насыщенных жирных кислот. Механизм активации и транспорта жирных кислот через митохондриальную мембрану. Роль карнитина. Особенности  $\beta$ -окисления ненасыщенных жирных кислот и жирных кислот с нечетным числом атомов. Энергетический баланс окисления  $\text{C}_{16}$ ,  $\text{C}_{15}$ ,  $\text{C}_{18:2}$ .
- 1.5. Энергетический баланс окисления тристеарата. Физиологическая роль СЖК при стрессе.
- 1.6. Обмен ацетил-КоА (пути образования и утилизации).
- 1.7. Кетоновые тела — биосинтез, утилизация, физиологическая роль.

### **2. Практическая часть**

- 2.1. Решение задач.
- 2.2. Лабораторные работы.

### **Задачи**

1 Жирная кислота  $\text{C}_{15}$  будет вступать в ЦТК в виде:

*Варианты ответа:*

- |                  |                             |
|------------------|-----------------------------|
| а) цитрата;      | г) $\alpha$ -кетоглутарата; |
| б) сукцинил КоА; | д) сукцината;               |
| в) ацетил КоА;   | е) малонил КоА.             |

2. К кетоновым телам относится:

*Варианты ответа:*

- |                        |                            |
|------------------------|----------------------------|
| а) ацетоацетат;        | в) оксалоацетат;           |
| б) диоксиацетонфосфат; | г) $\gamma$ -аминобутират. |

3. Фермент, катализирующий реакцию  $\text{R-COOH} + \text{АТФ} + \text{НСКоА} \rightarrow \text{R-CO-SКоА} + \text{АМФ} + \text{PP}_i$ :

*Варианты ответа:*

- |                        |   |
|------------------------|---|
| а) тиолаза;            | г) ацетил-КоА-карбоксилаза;             |
| б) ацил-КоА-синтетаза; | д) гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза; |
| в) ЛХАТ;               | е) холестеролэстераза.                  |

4. Фермент, катализирующий реакцию: Глицерин + АТФ  $\rightarrow$   $\alpha$ -глицеролфосфат + АДФ:

*Варианты ответа:*

- а) глицерол-3-фосфатдегидрогеназа;
- б) глицеральдегидфосфатдегидрогеназа;

- в) глицеролкиназа;
- г) фосфоглицераткиназа;
- д) фосфоглицератмутаза.

5. Ключевой метаболит липидного обмена:

*Варианты ответа:*

- а) ацетил-КоА;
- б) ацетоацетил-КоА;
- в)  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА;
- г) малонил-КоА;
- д) сукцинил-КоА;
- е) ацетоацетат;
- ж)  $\beta$ -оксибутират.

6. Биологическая роль кетоновых тел:

*Варианты ответа:*

- а) пластический материал;
- б) источник энергии;
- в) структурный компонент клетки;
- г) транспорт ХС.

7. Первая реакция на пути метаболических превращений глицерина:

*Варианты ответа:*

- а) восстановление;
- б) окисление;
- в) ацилирование;
- г) фосфорилирование;
- д) метилирование.

8. Количество циклов при бета-окислении жирной кислоты с 20 углеродными атомами:

*Варианты ответа:*

- а) 8;
- б) 9;
- в) 10;
- г) 11;
- д) 12;
- е) 20.

9. Мобилизация липидов из депо происходит при:

*Варианты ответа:*

- а) уменьшении концентрации цАМФ;
- б) увеличении концентрации цАМФ;
- в) увеличении концентрации инсулина;
- г) уменьшении концентрации инсулина;
- д) увеличении концентрации адреналина.

### Лабораторные работы

**Лабораторная работа № 1. Определение концентрации триацилглицеролов в сыворотке (плазме) крови энзиматическим колориметрическим методом.**

*Принцип метода.*

Триацилглицеролы  $\rightarrow$  глицерин + жирные кислоты (липаза);  
Глицерин + АТФ  $\rightarrow$  глицерил-3-фосфат + АДФ (глицерокиназа);  
глицерил-3-фосфат +  $O_2 \rightarrow$  диоксиацетон фосфат +  $2 H_2O_2$  (ГФО);  
 $H_2O_2 + 4\text{-ААР} + 4\text{-хлорфенол} \rightarrow$  хинонимин +  $4 H_2O$  (пероксидаза).

Концентрация хинонимина, определяемая фотометрически, пропорциональна концентрации ТАГ в пробе.

*Ход работы.* Готовят опытную пробу по таблице 6.

Таблица 6 — Приготовление пробы

	Опытная проба, мл
Сыворотка (плазма) крови	0,02
Рабочий реагент	2,0

Реакционную смесь тщательно перемешивают и инкубируют в течение 5 мин в термостате при температуре 37 °С, измеряют оптическую плотность опытной пробы против дистиллированной воды в кюветах с толщиной поглощающего слоя 5 мм при длине волны 490 нм.

*Примечание.* Окраска стабильна не менее часа после окончания инкубации при предохранения от прямого солнечного света.

*Расчет* концентрации ТАГ (С) производят по формуле 5:

$$C = E_{\text{оп.}}/E_{\text{ст.}} \times 250 - 10 \text{ мг/100 мл}$$

или

$$C = E_{\text{оп.}}/E_{\text{ст.}} \times 2,85 - 0,11 \text{ ммоль/л,} \quad (5)$$

где  $E_{\text{оп.}}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{ст.}}$  — экстинкция стандартной пробы;

10 мг/100 мл (0,11 ммоль/л) — поправка на содержание свободного глицерина в сыворотке (плазме) крови.

*Нормы*

Нормальные величины: 13–160 мг/100 мл (0,14–1,82 ммоль/л).

Группы риска: 160–200 мг/100 мл (1,82–2,29 ммоль/л).

Патологические показатели: выше 200 мг/100 мл (более 2,29 ммоль/л).

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## **Лабораторная работа № 2. Определение общих липидов в сыворотке крови сульфифосфованилиновым методом.**

*Принцип метода.* Продукты распада ненасыщенных липидов образуют с реактивом, состоящим из серной, ортофосфорной кислот и ванилина, соединение, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию общих липидов в сыворотке крови.

**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с концентрированной серной кислотой и кипячением на водяной бане. (Проводится дополнительный инструктаж по технике безопасности.)

*Ход работы.* Готовят опытную и контрольную пробы (таблица 7).

Таблица 1 — Приготовление проб

Проба	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Сыворотка крови	Вода дистиллированная
Опытная	5 мл	0,1 мл	—
Контрольная	5 мл	—	0,1 мл

Пробы тщательно перемешивают и помещают в кипящую водяную баню на 10 мин. Затем охлаждают водопроводной водой до комнатной температуры. Отбирают пипеткой из опытной и контрольной проб по 0,2 мл гидролизата и переносят в сухие пробирки. Добавляют в каждую пробирку по 3 мл фосфорно-ванилиновой смеси, тщательно перемешивают и оставляют стоять 45 мин при комнатной температуре.

Интенсивность окраски измеряют на фотометре против контроля при зеленом светофильтре (длина волны 500–560 нм) в кювете шириной 5 мм. Расчет производят по калибровочному графику. Результат выражают в миллиграммах на 100 мл сыворотки крови (мг%) или граммах на литр (г/л).

*Норма.* Содержание общих липидов в сыворотке крови здоровых людей составляет 4–8 г/л, или 400–800 мг%.

*Клинико-диагностическое значение.* Как физиологическое явление гиперлипемия наступает через 1–4 часа после приема пищи.

Патологическая гиперлипемия наблюдается при СД (иногда до 10–20 г/л), при липоидном нефрозе (до 50 г/л), билиарном циррозе печени, остром гепатите (особенно в период желтухи), остром или хроническом нефрите.

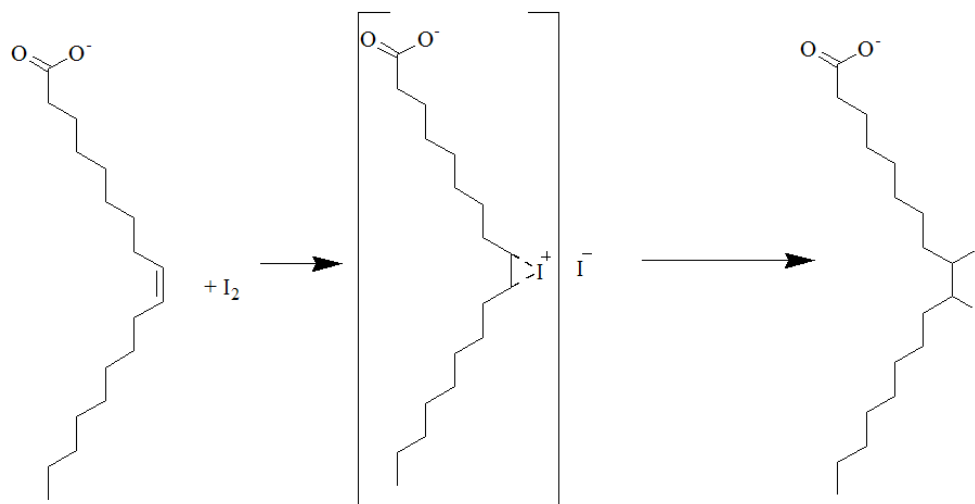
Содержание общих липидов в крови возрастает также при эссенциальной гиперлипидемии, ожирении, атеросклерозе (часто у больных ИБС), гипотиреозе, панкреатите, злоупотреблении алкоголем.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### Лабораторная работа № 3. Определение насыщенности жиров.

*Принцип метода.* Насыщенность жира зависит от присутствия в его составе непредельных жирных кислот. Ненасыщенные соединения легко присоединяют по 2 атома галогена по месту каждой двойной связи. Обычно степень ненасыщенности определяют иодным числом. Йодное число измеряется количеством граммов йода, которое присоединяется к 100 г жира.

Механизм реакции взаимодействия ненасыщенных жирных кислот (например, олеиновой) с йодом таков (см. уравнение):



*Ход работы.* В сухую коническую колбу емкостью 100 мл с пришлифованной стеклянной пробкой помещают 2 капли исследуемого масла. В колбу добавляют 12,5 мл спирта для растворения навески. Если масло плохо растворяется, можно подогреть колбу на водяной бане. Во 2-й колбе ставят «слепой опыт» (контроль), т.е. берут в нее 12,5 мл спирта. В каждую колбу (опыт и контроль) прибавляют по 6,25 мл 0,2 н. спиртового раствора йода (из бюретки), смешивают, приливают по 50 мл дистиллированной воды и хорошо встряхивают, закрыв пробкой. Через 5 мин содержимое колб оттитровывают 0,1 н. раствором тиосульфата ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) сначала до появления слабо-желтого окрашивания, а потом, прибавив 0,5 мл раствора крахмала, титруют до исчезновения синего окрашивания.

Провести параллель с прогорклым (старым) и облученным маслом (таблица 8).

Таблица 8 — Приготовление проб

Компоненты	Контрольная	Опытные с маслом		
		свежим	старым	облученным
Масло свежее	—	2 капли	—	—
Масло старое	—	—	2 капли	—
Масло облученное	—	—	—	2 капли
Спирт	12,5 мл	12,5 мл	12,5 мл	12,5 мл
Раствор йода	6,25 мл	6,25 мл	6,25 мл	6,25 мл
Дистиллированная вода	50 мл	50 мл	50 мл	50 мл
<i>Закрывают пробкой и встряхивают 5 мин</i>				
Раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Первое титрование			
Раствор крахмала	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Второе титрование			

Разность между количеством 0,1 н. раствора тиосульфата, затраченного на титрование опыта и контроля, является показателем количества йода, связанного навеской масла. Йодное число (в г) вычисляют по формуле 6:

$$\text{Йодное число} = \frac{(V_1 - V_2) \times 0,0127 \times 100}{a}, \quad (6)$$

где  $V_1$  — количество 0,1 н. раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , пошедшее на титрование контроля (в мл);

$V_2$  — количество 0,1 н. раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , пошедшее на титрование в опыте (в мл);

0,0127 — титр тиосульфата по йоду;

$a$  — навеска жира (в г).

Расхождения в параллельных опытах допускается лишь в десятых долях получаемых йодных чисел.

*Клинико-диагностическое значение.* Данный метод позволяет оценить степень ненасыщенности пищевых липидов, что может быть использовано



для качественной оценки продуктов питания, а также для определения степени ненасыщенности жирных кислот ФЛ ткани, что может быть использовано для количественной оценки интенсивности пероксидных процессов, протекающих в тканях.

*Выводы. Записать полученный результат и дать его клинко-диагностическую оценку.*

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 229–241, 258–260.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 392–395, 399–409.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 387–410.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 289–291, 305–310.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 262–273, 286–294.

#### *Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 373–381, 388–398, 574–577.

## **ЗАНЯТИЕ 16.**

### **ЛИПИДЫ-3. БИОСИНТЕЗ ЛИПИДОВ.**

### **РЕГУЛЯЦИЯ И ПАТОЛОГИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА**

**Цель занятия:** изучить биосинтез основных классов липидов. Изучить основные типы и механизмы нарушений липидного обмена. Научиться определять уровень общего холестерина в крови.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Механизмы регуляции углеводного обмена.
2. Механизмы нарушения обмена веществ при СД.
3. Строение и биологическую роль желчных кислот.
4. Характеристику основных классов ЛП.
5. Метаболизм ЛП в норме.
6. Пути передачи гормонального сигнала на клетку (аденилатциклазный, инозитолтрифосфатный).

7. ЦТК, его энергетический баланс.
8. Структуру и функцию полиферментных комплексов (на примере пируват-ДГ).

Студент должен уметь:

1. Проводить исследование на фотоэлектроколориметре.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Биосинтез насыщенных жирных кислот. Роль ацилпереносящего белка (АПБ), пантотеновой кислоты, биотина, NADPH + H<sup>+</sup> и ферментов. Источники ацетил-КоА для биосинтеза жирных кислот. Регуляция биосинтеза жирных кислот.

1.2. Биосинтез ТАГ и ФЛ.

1.3. Биосинтез ХС, его регуляция, биологическая роль ХС. Пул ХС в клетке, его регуляция.

1.4. Механизм регуляции липидного обмена. Гормоны, регулирующие липолиз и липогенез. Интеграция липидного и углеводного обменов.

Цикл Рэндла. Цикл ТАГ — жирные кислоты. Их механизмы и физиологическое значение. Взаимоотношения кетоновых тел, СЖК и глюкозы.

1.6. Нарушение переваривания и всасывания липидов, его проявления.

1.7. Жировая инфильтрация и дегенерация печени. Механизмы развития и профилактика.

1.8. Ожирение — виды, механизмы развития и осложнения. Понятие о метаболическом синдроме.

1.9. Дислиппротеидемии. Классификация по Фридриксону, биохимическая и клинико-диагностическая характеристика основных групп.

1.10. Липидозы — наследственные нарушения липидного обмена.

1.11. Перекисное окисление липидов мембран. Реакции, метаболиты. Биологическое значение в норме и при патологии.

1.12. АОЗ (см. тему «Биологическое окисление»).

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

#### **Задачи**

1. Фермент, катализирующий реакцию  $\text{CH}_3\text{-CO-SKoa} + \text{CO}_2 + \text{АДФ} \rightarrow \text{HOOC-CH}_2\text{-CO-SKoa} + \text{АДФ} + \text{P}_n$ :

*Варианты ответа:*

- а) гидроксиметил-глутарил-КоА-редуктаза;
- б) тиолаза;
- в) тиокиназа;
- г) ацетил-КоА-карбоксилаза;

- д) холестеролэстераза;  
е) ЛХАТ.

2. Низкомолекулярное азотистое соединение, препятствующее жировой инфильтрации печени:

*Варианты ответа:*

- а) карнитин; б) холин; в) креатин; г) карнозин; д) биотин.

3. Кофермент — поставщик водорода для биосинтеза жирных кислот и ХС:

*Варианты ответа:*

- а) NADH; б) FADH<sub>2</sub>; в) NADPH; г) глутатион-SH; д) FMNH<sub>2</sub>.

4. Малонил-КоА синтезируется из:

*Варианты ответа:*

- а) АТФ; г) серина;  
б) ЦТФ; д) холина;  
в) ацетил-КоА; е) фосфатидной кислоты.

5. Общий промежуточный метаболит при синтезе нейтрального жира и ФЛ:

*Варианты ответа:*

- а) ДАГ;  
б) 1,3-дифосфоглицериновая кислота;  
в) мевалоновая кислота;  
г) фосфатидная кислота.

6. Кетоз является состоянием, когда в крови повышен уровень:

*Варианты ответа:*

- а) ацетил КоА; г) лактата;  
б) ацетоацетил-КоА; д) ацетона;  
в) β-оксибутирата; е) ацетоацетата.

7. У пациента со сниженной активностью ЛП-липазы можно ожидать:

*Варианты ответа:*

- а) увеличение плазменных ХМ и ЛПОНП;  
б) увеличение содержания только ХМ;  
в) увеличение концентрации ЛПНП;  
г) увеличение концентрации ЛПВП;  
д) увеличение концентрации ЛПВП и ЛПНП.

8. При каких условиях будет увеличиваться синтез жирных кислот?

*Варианты ответа:*

- а) при повышении концентрации глюкозы в крови после еды;  
б) при дефосфорилировании ацетил-КоА карбоксилазы;  
в) при снижении секреции инсулина;  
г) при избыточном поступлении жиров с пищей.

## Лабораторная работа. Определение концентрации общего холестерина в сыворотке (плазме) крови энзиматическим колориметрическим методом.

*Принцип метода.* При гидролизе эфиров ХС холестеролэстеразой образуется свободный ХС. Образовавшийся и имеющийся в пробе ХС окисляется кислородом воздуха под действием холестеролоксидазы с образованием эквимольного количества перекиси водорода. Под действием пероксидазы (POD) перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации ХС в пробе.

*Ход работы.* Готовят опытную и стандартную пробы по таблице 9.

Таблица 9 — Приготовление проб

Реагенты	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
Сыворотка (плазма)	0,02	—
Рабочий реагент	2,0	2,0
Стандартный раствор ХС	—	0,02

Реакционную смесь тщательно перемешивают и инкубируют не менее 5 мин при комнатной температуре (20–25 °С) или в термостате при температуре 37 °С. Измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб против дистиллированной воды в кюветах с толщиной поглощающего слоя 5 мм при длине волны 490 нм. Окраска стабильна не менее 2 ч после окончания инкубации при предохранении от прямого солнечного света.

*Примечание.* При хранении в холодильнике стандартный раствор ХС может мутнеть. В этом случае следует нагреть раствор при 35–40 °С до исчезновения мутности.

*Расчет* концентрации (С) ХС проводят по формуле 7:

$$C = E_{\text{оп.}}/E_{\text{ст.}} \times 5,17 \text{ (ммоль/л)}$$

или

$$C = E_{\text{оп.}}/E_{\text{ст.}} \times 200 \text{ (мг/100 мл)}, \tag{7}$$

где  $E_{\text{оп.}}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{ст.}}$  — экстинкция стандартной пробы.

*Норма:*

идеальное содержание — < 5,2 ммоль/л;

допустимое содержание — 5,2–6,5 ммоль/л;

патологическое содержание — > 6,5 ммоль/л.

*Клинико-диагностическое значение.* Увеличение содержания ХС в плазме крови (гиперхолестеринемия) наблюдается при избыточном потреблении продуктов, богатых ХС, механической (обтурационной) желтухе, нефрите, микседеме (гипотиреоз), диабете, атеросклерозе, сифилисе,

менингитах, некоторых заболеваниях печени, а также при наследственных гиперхолестеринемиях.

Снижение содержания ХС в плазме (гипохолестеринемия) отмечается при голодании, анемии, туберкулезе, острых панкреатитах, паренхиматозной желтухе, лихорадочных состояниях, острых инфекционных заболеваниях, хронической сердечной недостаточности, хронической пневмонии, гипертиреозе, раковой кахексии и др.

*Выводы. Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.*

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Материал лекций.
2. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 240–253.
3. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 396–399, 409–417, 428–436.
4. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 387–410.
5. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 291–297, 305–307.
6. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 239–242, 287–290.

#### *Дополнительная*

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 381–388, 392–406.

## **ЗАНЯТИЕ 16-Д (ДЛЯ СТУДЕНТОВ МДФ). ЛИПИДЫ-4. ПАТОЛОГИЯ ОБМЕНА ЛИПОПРОТЕИДОВ**

**Цель занятия:** закрепить знания по метаболизму ЛП в норме и при патологических состояниях.

### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и свойства основных классов липидов (жирные кислоты, их производные, производные изопрена).
2. Главные метаболические пути основных классов липидов.
3. Строение, классификация, химический состав, функциональная роль различных классов ЛП. Метаболизм ЛП в норме.

Студент должен уметь:

1. Проводить фотометрический анализ.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. ЛП — строение, классификация, химический состав, функциональная роль и метаболизм в норме.

1.2. Роль рецепторов ЛП в метаболизме липидов в норме и при патологии.

1.3. Дислипотеидемии. Классификация по Фридриксону, биохимическая и клинико-диагностическая характеристика основных групп.

1.4. Понятие о метаболическом синдроме, его биохимическая и клинико-диагностическая характеристика.

1.5. Липидозы (ганглиозидозы, сфинголипидозы), их биохимическая и клинико-диагностическая характеристика.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Лабораторная работа.

### **Лабораторная работа. Определение концентрации липопротеидов высокой и низкой плотности в сыворотке (плазме) крови.**

*Принцип метода.* ХМ, ЛПОНП и ЛПНП осаждаются при добавлении к образцу фосфорновольфрамовой кислоты и  $Mg^{2+}$ . После центрифугирования в супернатанте остаются только ЛПВП.

*Ход работы (таблица 10).*

Таблица 10 — Приготовление проб

Реагенты	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
Сыворотка (плазма)	0,15	—
Осаждающий реагент	0,3	0,3
Стандартный раствор	—	0,15

Хорошо перемешать и оставить на 10 мин при комнатной температуре. Опытную пробу отцентрифугировать в течение 10 мин при 4 000 об/мин. Прозрачный супернатант используют для определения концентрации ЛПВП. Определить ХС в опытной и стандартной пробах в течение часа (таблица 11).

Таблица 11 — Определение холестерина в пробах

Реагенты	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
Супернатант	0,2	—
Рабочий реагент	2,0	2,0
Стандартный раствор + осаждающий реагент	—	0,2

Реакционную смесь тщательно перемешивают и инкубируют не менее 10 мин при комнатной температуре (18–25 °С) и измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб против дистиллированной воды в кюветах с толщиной поглощающего слоя 5 мм при длине волны 490 нм. Окраска стабильна не менее 2 ч после окончания инкубации при предохранении от прямого солнечного света.

*Примечание.* Для анализа использовать только прозрачный супернатант. В случае мутного супернатанта (неполное осаждение) или при содержании ТАГ в пробе более 4,0 ммоль/л следует провести повторное осаждение, увеличив объем осаждающего реагента в 2 раза. Полученный результат умножить на 2.

*Расчет* концентрации (С) холестерина ЛПВП проводят по формуле 8:

$$C = E_{\text{оп.}}/E_{\text{ст.}} \times 1,29 \text{ (ммоль/л)}$$

или

$$C = E_{\text{оп.}}/E_{\text{ст.}} \times 50 \text{ (мг/100мл)},$$
(8)

где  $E_{\text{оп.}}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{ст.}}$  — экстинкция стандартной пробы.

*Расчет* концентрации (С) ЛПНП проводят по формуле 9:

$$C = [\text{общий холестерин}] - [\text{ЛПВП холестерин}] - [\text{триацилглицеролы}/5] \text{ мг/100 мл}$$

или

$$C = [\text{общий холестерин}] - [\text{холестерин}] - [\text{триацилглицеролы}/2,2] \text{ ммоль/л.}$$
(9)

Интерпретация результатов анализа проводится в соответствии с таблицей 11.

Таблица 11 — Клинико-диагностическое значение определения концентрации ЛПНП и ЛПВП в сыворотке крови

ЛПВП	Мужчины	Женщины
Нормальные величины:	> 55 мг/100 мл	> 65 мг/100 мл
	(1,42 ммоль/л)	(1,68 ммоль/л)
Группа риска:	35–55 мг/100 мл	45–65 мг/100 мл
	(0,9–1,42 ммоль/л)	(1,16–1,68 ммоль/л)
Патологическое нарушение липидного обмена:	< 35 мг/100 мл	< 45 мг/100 мл
	(0,9 ммоль/л)	(1,16 ммоль/л)
ЛПНП		
Группа риска:	≥ 150 мг/100 мл	≥ 190 мг/100 мл
	(3,9 ммоль/л)	(4,9 ммоль/л)

*Клинико-диагностическое значение.* См. в лабораторной работе к занятию «Липиды-3».

**ЗАНЯТИЕ 17.**  
**КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ**  
**ПО РАЗДЕЛУ «БИОХИМИЯ ЛИПИДОВ»**

**Цель занятия:** контроль усвоения тем раздела.

***Контрольные вопросы***

1. Классификация липидов. Строение ТАГ, ФЛ, ХС. Биологическое значение отдельных классов.
2. Особенности строения ФЛ. Роль в построении мембран, их биологическое значение. Биосинтез ФЛ.
3. Переваривание и всасывание липидов в ЖКТ.
4. Строение и биологическая роль желчных кислот.
5. Механизм эмульгирования липидов.
6. Механизмы активации липазы.
7. Особенности переваривания липидов у детей.
8. Строение, состав и характеристика ЛП.
9. Метаболизм ЛП, схема образования и транспорта ЛП частиц. Роль АХАТ и ЛХАТ в метаболизме ЛП частиц.
10. Роль рецептора ЛПНП в развитии гиперхолестеринемии. Механизм захвата ЛПНП клеткой.
11. Формирование атеросклеротических изменений сосудистой стенки. Пенистые клетки.
12. Механизм мобилизации жира. Роль гормонов, аденилатциклазы, инозитолдифосфата. Физиологическая роль жирных кислот.
13. Эйкозаноиды как производные арахидоновой кислоты. Строение и биологическая роль.
14. Механизм всасывания, активации и мембранного транспорта жирных кислот в митохондрии. Роль карнитина.
15. Бета-окисление насыщенных жирных кислот с четным и с нечетным числом атомов С. Реакции, ферменты, энергетический баланс.
16. Ненасыщенные жирные кислоты. Строение, физиологическая роль. Окисление ненасыщенных жирных кислот.
17. Пути обмена ацетил-КоА (образование и утилизация).
18. Кетоновые тела. Строение, биосинтез, окисление, физиологическая роль, содержание в крови. Возникновение кетонурии и кетонемии. Механизм и причины.
19. Биосинтез ХС. Реакции, ферменты, регуляция. Физиологическая роль ХС. Нормы ХС в крови.
20. Пантотеновая кислота. Роль в обмене липидов.
21. Биосинтез насыщенных жирных кислот. Локализация, механизм, роль АПБ, реакции, ферменты.



22. Биосинтез ТАГ. Локализация, механизм, реакции, регуляция.
23. Гормональная регуляция липидного обмена.
24. Интеграция углеводного и липидного обмена (пути образования и использования общих метаболитов — схемы интеграции).
25. Жиро-углеводный цикл Рэндала. Его механизм и физиологическая роль.
26. Цикл ТГ-жирные кислоты. Его механизм и физиологическая роль.
27. Стеаторея, причины ее вызывающие.
28. Роль печени в липидном обмене.
29. Жировая инфильтрация и дегенерация печени. Причины, механизм. Развитие инфильтрации. Роль незаменимых факторов питания.
30. Ожирение. Роль нейрпептида Y, лептина и грелина в развитии ожирения.
31. Причины гиперхолестеринемии. Основные элементы патогенеза атеро-склероза как полиэтиологического заболевания. Коэффициент атерогенности для диагностики ССЗ.
32. Дислиппротеидемии. Классификация и характеристика.
33. Липидозы, причины возникновения, прогноз.
34. Переокисное окисление липидов мембран. Механизм возникновения. Ре-акции, метаболиты в норме и при патологии.
35. Биосинтез ненасыщенных жирных кислот.

## **ЗАНЯТИЕ 18.**

### **ИТОГОВОЕ (ЗАЧЕТНОЕ) ЗАНЯТИЕ СЕМЕСТРА**

**Цель занятия:** контроль усвоения материала, изученного в первом семестре.

#### **Вопросы по теме «Ферменты. Биологическое окисление»**

1. Общая характеристика обмена веществ. Понятие об анаболизме, катаболизме и метаболизме.
2. Уровни структурной организации белковой молекулы. Форма и размер белковой молекулы. Физико-химические свойства белков. Функции белков.
3. Механизм действия ферментов. Теория промежуточных соединений. Термодинамика ферментативного катализа.
4. Строение ферментов. Кофакторы ферментов. Активный центр фермента (каталитический, субстратный, аллостерический участки).
5. Механизм действия ферментов. Теория промежуточных соединений. Энергия активации. Энергетический барьер.
6. Кинетика ферментативных реакций. Km-определение, физиологическое значение.
7. ЦТК как общий конечный пункт утилизации субстратов БО. Последовательность реакций, ферменты, коферменты ЦТК.

8. Основная роль БО в процессах жизнедеятельности. Пути утилизации кислорода в организме.

9. Современные представления о БО. Принципы преобразования и передачи энергии в клетке. Окислительно-восстановительные реакции, окислительно-восстановительный потенциал.

10. Строение АТФ, значение. Высокоэнергетические фосфаты. Природа макроэргичности. Субстратное фосфорилирование. Биологическое значение.

11. Митохондриальная ДЦ. Основные принципы и механизмы функционирования. Комплексы ДЦ.

12. Хемиосмотическая теория Митчелла. Механизм генерации протонного потенциала.  $\Delta\mu\text{H}^+$  его структура и пути утилизации.

13. Механизмы сопряжения ОФ. Строение и функции протонной АТФ-азы. Разобщение ОФ. Разобщители ОФ, их природа и механизм действия. Ингибиторы ДЦ.

14. Сходство и отличие микросомального и митохондриального окисления. Связь ЦТК, ДЦ, митохондрии с микросомальной ДЦ.

### **Вопросы по теме «Биохимия углеводов»**

1. Механизмы переваривания и всасывания углеводов. Нарушение переваривания и всасывания углеводов в ЖКТ. Мальабсорбция, причины, клинические проявления.

2. Образование и использование глюкозо-6-фосфата. Схема углеводного обмена в организме. Роль инсулина.

3. Строение и метаболизм гликогена (гликогенез и гликогенолиз). Гормональная регуляция метаболизма гликогена (роль гормонов, цАМФ, ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ).

4. Метаболизм фруктозы в норме и при патологии.

5. Метаболизм галактозы в норме и при патологии.

6. Общая характеристика процессов гликолиза, гликогенолиза, спиртового брожения.

7. Анаэробный гликолиз: спиртовое брожение. Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, и энергетический баланс. Сходство и отличие от молочнокислого брожения.

8. Гликолитическая оксидоредукция и субстратное фосфорилирование в гликолизе. Физиологическое значение.

9. ГНГ. Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, биологическая роль и энергетический баланс.

10. Субстратное и энергетическое обеспечение ГНГ. Межорганый обмен субстратами (циклы Кори и Фелига).

11. Роль гомеостаза глюкозы в жизнедеятельности организма. Роль инсулина в тканевом метаболизме глюкозы.

12. Механизм срочной регуляции уровня глюкозы в крови. Роль ЦНС, гормонов, субстратов.

13. Постоянный механизм регуляции уровня глюкозы в крови. Роль межорганного обмена субстратами. Основные гормоны, субстраты. Особенности ГНГ в печени и почках.

14. Характеристика ПФП (ПЦ). Локализация, реакции, ферменты (классы), регуляция, биологическая роль.

15. Механизм действия и биологическая роль инсулина. Сахарный диабет, виды, принципиальное отличие СД I и II типа.

### **Вопросы по теме «Биохимия липидов»**

1. Классификация липидов. Строение ТАГ, ФЛ, ХС. Особенности строения. Биологическое значение отдельных классов.

2. Строение липопротеидной частицы. Классификация и состав ЛП.

3. Роль липопротеидных частиц в атерогенезе.

4. Структура, синтез и распад, физиологическое значение ЛПНП.

5. Структура рецептора ЛПНП и его роль в развитии гиперхолестеринемии. Механизм захвата ЛПНП клеткой.

6. Гормональная регуляция липидного обмена (ИТФ-ный и аденилатциклазный механизм).

7. Пути обмена ацетил-КоА (образование и утилизация).

8. Бета-окисление жирных кислот. Механизм, реакции, ферменты. Энергетический баланс окисления насыщенных жирных кислот.

9. Кетоновые тела. Биосинтез, физиологическая роль. Причины кетонемии, кетонурии.

10. Окисление и физиологическое значение кетоновых тел.

11. Жиро- углеводный цикл Рэндала. Механизм, регуляция и физиологическая роль.

12. Роль пантотеновой кислоты в обмене липидов. Биосинтез насыщенных жирных кислот, роль АПБ.

13. Биосинтез ХС. Регуляция биосинтеза.

14. Возрастные нормы содержания ХС в крови. Причины гиперхолестеринемии.

15. Роль печени в липидном обмене.

# РАЗДЕЛ 5. БИОХИМИЯ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

## ЗАНЯТИЕ 19.

### БЕЛКИ-1. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ БЕЛКОВ

**Цель занятия:** сформировать представления о пищевой ценности белков, молекулярных механизмах их переваривания и всасывания в ЖКТ, путях формирования пула свободных аминокислот тканей и жидкостей организма. Освоить методы определения кислотности и патологических компонентов желудочного сока.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение, классификацию и свойства основных классов аминокислот.
2. Уровни структурной организации белковой молекулы.
3. Механизмы мембранного транспорта веществ.
4. Механизм микросомального окисления.

Студент должен уметь:

1. Проводить титрационный анализ.
2. Проводить качественные реакции на кровь и молочную кислоту.

#### ***Структура занятия***

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Роль белков в питании. Полноценные и неполноценные белки. Нормы белка в питании. Азотистый баланс.

1.2. Обмен простых белков. Переваривание белков в ЖКТ. Состав и свойства желудочного сока. Значение компонентов сока в переваривании белков (НСI, пепсин, слизь и др.). Характеристика пепсина. Механизмы образования и секреции НСI в желудочном соке. Регуляция секреции НСI (роль гистамина, гастрина, ацетилхолина и др.).

1.3. Кишечный сок. Его состав и свойства. Характеристика панкреатических и кишечных ферментов. Механизм активации трипсина, химотрипсина и др.

1.4. Значение градиента рН соков ЖКТ в переваривании белков. Механизмы переваривания белков и всасывания аминокислот в ЖКТ.

1.5. Медиаторы и гормоны ЖКТ — гистамин, серотонин, секретин, холецистокинин, гастроингибирующий пептид, соматостатин, глюкагон, энкефалины и др.

1.6. Гниение белков в толстом кишечнике. Образование индола, скаптола, фенола, сероводорода, аммиака, аминов и др., их роль и механизмы обезвреживания в печени.

1.7. Эндогенный пул аминокислот в тканях – пути формирования и утилизации.

## **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Проведение повторного инструктажа по технике безопасности.

2.3. Лабораторные работы.

### **Задачи**

1. Роль белка в питании:

*Варианты ответа:*

- а) источник витаминов группы В;
- б) источник «биогенного» азота;
- в) источник микроэлементов;
- г) источник незаменимых аминокислот;
- д) источник нуклеотидов.

2. К заменимым аминокислотам относятся:

*Варианты ответа:*

- а) аланин;
- б) пролин;
- в) изолейцин;
- г) треонин;
- д) глицин.

3. Положительный азотистый баланс наблюдается:

*Варианты ответа:*

- а) при голодании;
- б) в период роста организма;
- в) при заболеваниях ЖКТ;
- г) при физической нагрузке;
- д) при терапии анаболическими стероидами.

4. Какие ферменты расщепляют белок в желудке?

*Варианты ответа:*

- а) пепсиноген;
- б) гастриксин;
- в) пепсин;
- г) химотрипсин;
- д) гастрин.

5. Трипсин активируется:

*Варианты ответа:*

- а) аутокаталитически;
- б) ионами  $\text{Ca}^{2+}$ ;
- в) антитрипсином;
- г) энтеропептидазой;
- д) путем ограниченного протеолиза.

6. Ключевыми ферментами для синтеза соляной кислоты являются:

*Варианты ответа:*

- а) пепсин; г) каталаза;  
б) карбоксипептидаза; д)  $H^+/K^+$ -АТФ-аза.  
в) карбангидраза;

7. Выберите пары аминокислот, которые замедляют всасывание друг друга в кишечнике:

*Варианты ответа:*

- а) арг и лиз; г) глу и асп;  
б) вал и глу; д) гли и гис.  
в) лиз и лей;

8. Триптофан под действием кишечной микрофлоры может превратиться в:

*Варианты ответа:*

- а) крезол; б) фенол; в) индол; г) скатол; д) ментол.

9. Какие вещества используются в печени для обезвреживания продуктов гниения белков, поступивших из кишечника?

*Варианты ответа:*

- а) ФАФС; б) ГАГ; в) УДФГК; г) ГЛУТ; д) ИТФ.

10. Какие процессы могут служить источником эндогенного пула аминокислот?

*Варианты ответа:*

- а) биосинтез белка;  
б) протеолиз белков пищи;  
в) протеолиз белков катепсинами;  
г) синтез биогенных аминов;  
д) синтез заменимых аминокислот de novo.

## Лабораторные работы

**Лабораторная работа № 1. Количественное определение общей кислотности, общей, свободной и связанной соляной кислоты в одной пробе желудочного сока.**

*Принцип метода.* Основан на титровании желудочного содержимого раствором 0,1н NaOH в присутствии индикаторов с различными зонами перехода. Кислотность желудочного сока выражают количеством ммоль едкого натра, нейтрализующего 1 л желудочного сока.

*Основные фракции кислот желудочного сока:*

- «общая кислотность» желудочного сока — это сумма всех кислот желудочного содержимого;
- «свободная соляная кислота» — свободная минеральная HCl;

- «связанная соляная кислота» — кислореагирующие соли (хлориды) белков и других слабых оснований;
- «общая соляная кислота» — сумма свободной и связанной HCl.

#### Количественное определение свободной соляной кислоты

Свободная соляная кислота оттитровывается раствором 0,1н NaOH в присутствии индикатора диметиламиноазобензола, имеющего зону перехода окраски от красной до оранжевой при рН 3,0. Слабые же кислоты (молочная, уксусная кислота, кислые фосфаты и связанная соляная кислота) при рН 2,9–4,0 находятся в растворе в недиссоциированном состоянии и в реакцию со щелочью не вступают.

*Ход работы.* К 10 мл желудочного сока добавить 1–2 капли спиртового раствора диметиламиноазобензола и титровать раствором 0,1н NaOH до появления оранжевой окраски.

Произвести расчет на 1000 мл желудочного сока. Так как затраченное на титрование количество едкого натра эквивалентно количеству соляной кислоты в пробе желудочного сока, то количество соляной кислоты в 1 л желудочного сока (в моль/л) составит (формула 10):

$$X = \frac{a \times 0,1 \times 1000}{b}, \quad (10)$$

где  $a$  — количество 0,1н раствора NaOH, затраченное на титрование, мл;  
 $0,1$  — количество NaOH в 1 мл 0,1 N раствора, моль;  
 $b$  — количество желудочного сока, взятого для титрования, мл;  
 1000 — объем желудочного сока, мл.

#### Количественное определение общей кислотности желудочного сока

Титрование общей кислотности желудочного сока проводится раствором 0,1н NaOH в присутствии индикатора фенолфталеина с зоной перехода окраски в пределах рН 8,2–10,0. При рН ниже 8,2 он бесцветный, а при рН выше 10,0 – красный.

*Ход работы.* К 10 мл профильтрованного желудочного сока добавить 1–2 капли раствора фенолфталеина и титровать 0,1н раствора NaOH до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Произвести расчет на 1000 мл желудочного сока.

#### Количественное определение общей кислотности, общей, свободной и связанной соляной кислоты в одной порции желудочного сока

*Ход работы.* Отмерить в колбочки по 10 мл желудочного сока и добавить по 1–2 капли диметиламиноазобензола и фенолфталеина. Титровать 0,1н раствором NaOH до появления оранжевого окрашивания (первая от-

метка количества израсходованного 0,1н раствора NaOH). Затем продолжить титрования до лимонно-желтого цвета (вторая отметка) и, наконец, до розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин (третья отметка).

*В процессе титрования отсчет ведется от начальной точки!*

Первая отметка соответствует количеству свободной соляной кислоты, третья — общей кислотности. Вторая отметка используется для расчета количества общей соляной кислоты. Среднее арифметическое между вторым и третьим пунктом соответствует общей соляной кислоте. Количество связанной соляной кислоты вычисляется как разница между общей и свободной соляной кислотой. Например, при титровании 0,1н раствором едкого натра затрачено титрованного раствора (с начала титрования): до первой отметки (оранжевый цвет) — 3,3 мл, до второй (лимонно-желтый цвет) — 4,6, до третьей (розовый цвет) — 5,6 мл. Среднее между второй и третьей отметкой —  $(4,6 + 5,6) : 2 = 5,1$  мл.

Произвести расчет содержания свободной соляной кислоты, общей соляной кислоты, общей кислотности на 1000 мл желудочного сока по формуле (10).

*Этот способ расчета неприменим при наличии молочной кислоты в желудке. Поэтому в пробах желудочного сока, содержащего молочную кислоту, ограничиться вычислением свободной соляной кислоты и общей кислотности.*

Полученные данные вносятся в таблицу 12.

Таблица 12 — Результаты титрования нормального желудочного сока

Задача	Цвет	V 0,1 н NaOH, мл	Содержание HCl, ммоль/л			Общая кислотность	Выводы
			свободная	связанная	общая		
1	Оранжевый						
	Желтый						
	Розовый						
2	Оранжевый						
	Желтый						
	Розовый						
3	Оранжевый						
	Желтый						
	Розовый						

*Норма.* Показатели кислотности профильтрованного желудочного содержимого взрослого человека после стандартного пробного завтрака составляют:

- общая кислотность — 40–60 ммоль/л (новорожденные — 2,8 ммоль/л; дети до года — 4–20 ммоль/л);
- свободная HCl — 20–40 ммоль/л (новорожденные — 0,5 ммоль/л);
- связанная HCl — 10–20 ммоль/л;
- общая HCl — 30–60 ммоль/л.



*Клинико-диагностическое значение.* При различных заболеваниях желудка кислотность может быть повышенной, пониженной и нулевой. При язвенной болезни желудка или гиперацидном гастрите наблюдается гиперхлоргидрия — увеличение содержания свободной соляной кислоты и общей кислотности. При гипоацидном гастрите или раке желудка отмечается гипохлоргидрия — уменьшение количества свободной соляной кислоты и общей кислотности. При раке желудка, хроническом атрофическом гастрите отмечается полное отсутствие соляной кислоты и значительное снижение общей кислотности — ахлоргидрия. При злокачественном малокровии, раке желудка наблюдается полное отсутствие соляной кислоты и пепсина — ахилия.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## **Лабораторная работа № 2. Обнаружение патологических компонентов желудочного сока.**

### Обнаружение молочной кислоты по реакции Уффельмана

*Принцип метода.* При взаимодействии фенолята железа, имеющего фиолетовый цвет, с лактатом образуется лактат железа желто-зеленого цвета.

*Ход работы.* К 20 каплям раствора фенола добавить 1–2 капли раствора хлорного железа. Получается раствор фенолята железа фиолетового цвета. В пробирку с фенолятом железа прилить по каплям желудочный сок (нормальный и сок, содержащий молочную кислоту).

В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска переходит в желто-зеленую вследствие образования лактата железа. При одновременном присутствии соляной кислоты жидкость обесцвечивается. Это объясняется тем, что сильная соляная кислота полностью разрушает комплекс железа с фенолом, а также вытесняет более слабую молочную кислоту из ее соли; вследствие этого реакция на присутствие молочной кислоты отрицательная.

*Клинико-диагностическое значение.* Органические кислоты (молочная, уксусная, масляная и др.) имеют обычно микробное происхождение и появляются в желудочном содержимом в результате ахлоргидрии и последующего сбраживания компонентов пищи. Наличие органических кислот в желудочном содержимом натошак часто встречается при атрофических гастритах и раке желудка.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### Бензидиновая проба на кровь

*Принцип метода.* Гемоглобин обладает каталазной активностью и разлагает пероксид водорода с образованием молекулярного кислорода, который окисляет бензидин или другой краситель. При этом происходит изменение окраски с бесцветной на темно-синюю.

*Ход работы.* В пробирку с 1 мл желудочного сока добавляют 4–5 капель 0,2 %-ного спиртового раствора бензидина и 5 капель 1 %-ного раствора пероксида водорода. При наличии в желудочном соке крови в результате окисления бензидина развивается синее окрашивание.

Полученные данные вносятся в таблицу 13.

Таблица 13 — Результаты титрования патологического желудочного сока

Определяемый компонент	Используемые реактивы	Пробы желудочного сока	
		в норме	при патологии
Общая кислотность	Фенолфталеин		
Свободная НСІ	Диметиламиноазобензол		
Лактат (молочная к-та)	Фенолят железа		
Кровь	Бензидин		

*Примечание.* Если результаты какой-либо работы являются отрицательными, то в соответствующей графе ставится прочерк.

*Клинико-диагностическое значение.* Кровь появляется в желудочном содержимом при изъязвлении стенок желудка при язвенной болезни, эрозивном, язвенном гастрите, ожогах слизистой желудка и раке желудка.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 261–277.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 458–469.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 261–265.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 330–335.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 299–305. — Т. 2. — С. 274–298.
6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 409–429.

#### *Дополнительная*

7. Элементы патологической физиологии и биохимии / под ред. И. П. Ашмарина. — М.: Изд-во МГУ, 1992. — С. 57–69.

## **ЗАНЯТИЕ 20.**

### **БЕЛКИ-2. ТКАНЕВЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ.**

### **ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ПРОДУКТОВ ОБМЕНА**

**Цель занятия:** сформировать представления об основных путях метаболизма свободных аминокислот в тканях. Изучить механизмы и значение реакций детоксикации аммиака в норме и при патологии. Освоить методы определения концентрации мочевины в биологических жидкостях.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение, классификацию и свойства основных классов аминокислот.
2. ЦТК, реакции, ферменты, механизмы регуляции.
3. Механизм микросомального окисления.
4. Строение витамина В<sub>6</sub> и его коферментные формы.

Студент должен уметь:

1. Проводить исследование на колориметре.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

###### **1.1 Основные реакции обмена аминокислот.**

###### **1.1.1. Реакции на радикал:**

— гидроксирование (про, лиз, фен). Механизм микросомального окисления (роль аскорбата, NADPH, цитохрома P450 и др.), примеры, биологическое значение;

— разрыв (механизм, биологическое значение);

— метилирование и др.

###### **1.1.2. Реакции на карбоксильную группу:**

— декарбоксилирование (на примере гис, тир, трп, глу) — механизм, ферменты, биологическая роль;

— восстановление — ферменты, биологическая роль.

###### **1.1.3. Реакции на аминокгруппу:**

— виды дезаминирования (окислительное, восстановительное, гидролитическое, внутримолекулярное), их биологическое значение;

— прямое окислительное дезаминирование — механизм, ферменты, коферменты, биологическое значение;

— реакции переаминирования — ферменты, коферменты, биологическое значение;

— не прямое окислительное дезаминирование — механизм, ферменты, коферменты, биологическое значение.

###### **1.2. Аммиак, пути его образования и механизмы токсичности.**



8. Ферменты каких классов принимают участие в ЦСМ?

*Варианты ответа:*

- а) оксидоредуктазы; г) лиазы;  
б) трансферазы; д) изомеразы.  
в) гидролазы;

9. Атомы азота мочевины происходят из:

*Варианты ответа:*

- а) аммиака и аспартата; г) глутамата и глутамина;  
б) аммиака и аспарагина; д) глутамина и аспарагина.  
в) аммиака и глутамата;

10. Какие энзимопатии сопровождаются гипераммонемией?

*Варианты ответа:*

- а) цитруллинемия; г) дефект карбамоилфосфатсинтетазы I;  
б) гистидинемия; д) фруктозурия.  
в) арииносукцинатурия;

### Лабораторные работы

#### Лабораторная работа № 1. Количественное определение концентрации мочевины в сыворотке крови уреазным фенол/гипохлоритным методом.

*Принцип метода.* Мочевина под действием уреазы гидролизуется с образованием карбоната аммония. Ионы аммония реагируют в присутствии нитропруссиды с фенолом и гипохлоритом, образуя окрашенный комплекс. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации мочевины в пробе.

*Ход работы.* Осуществляется в соответствии с таблицей 14.

Таблица 14 — Приготовление проб

Реактивы	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл
Рабочий реагент	1,0	1,0
Калибратор	—	0,01
Сыворотка крови	0,01	—

Реакционную смесь тщательно перемешивают и инкубируют не менее 5 мин при комнатной температуре (не ниже 20 °С). После окончания инкубации во обе пробы вносят по 1 мл гипохлорита, инкубируют в термостате при 37 °С в течение 15 мин; затем пробы охлаждают до комнатной температуры и измеряют оптическую плотность опытной и калибровочной проб против дистиллированной воды в кюветах с длиной оптического пути 5 мм при длине волны 540 нм на фотоколориметре.

*Примечание.* Окраска проб стабильна в течение 5–8 ч.

*Расчет* концентрации мочевины в сыворотке крови проводят по формуле 11:

$$C = E_{\text{оп}} / E_{\text{кал}} \times 30 \text{ [мг/100мл]} \\ \text{или} \\ C = E_{\text{оп}} / E_{\text{кал}} \times 5,0 \text{ [ммоль/л]}, \quad (11)$$

где  $E_{\text{оп}}$  — экстинкция опытной пробы;  
 $E_{\text{кал}}$  — экстинкции калибровочной пробы.

*Норма.* 10–50 мг/100 мл (1,7–8,3 ммоль/л).

*Клинико-диагностическое значение.* На долю мочевины приходится половина остаточного азота крови, именно та часть, которая в наибольшей степени задерживается в крови при нарушении функции почек. При патологии почек уровень мочевины в крови нарастает гораздо быстрее, чем остальных компонентов остаточного азота. К тому же определение уровня мочевины в крови технически проще осуществимо, чем остаточного азота. В связи с этим уровень ее в крови, прежде всего, характеризует экскреторную функцию почек.

Повышение содержания мочевины в крови отмечается у больных с другими патологическими состояниями — рефлексорной анурией, обструкцией (камни и злокачественные новообразования) в мочевыводящих путях, усиленным распадом белка (острая желтая атрофия печени, тяжелые инфекционные заболевания, обширные травмы и др.).

Верхняя граница содержания мочевины в сыворотке крови зависит от характера питания. При приеме белков в сутки свыше 2,5 г/кг веса уровень мочевины может возрасть до 10 ммоль/л.

Снижение уровня мочевины в крови наблюдается редко и отмечается обычно при дефиците белка в рационе. При беременности также возможно снижение концентрации мочевины в крови ниже 3,33 ммоль/л.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## **Лабораторная работа № 2. Количественное определение мочевины в сыворотке крови и в моче диацетилмонооксимным методом.**

*Принцип метода.* Мочевина образует с диацетилмонооксимом в сильнокислой среде в присутствии тиосемикарбазида и ионов трехвалентного железа комплекс красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию мочевины.

*Меры предосторожности по ходу работы.* Обращаться с осторожностью, т. к. реактив 2 содержит ядовитое вещество тиосемикарбазид, а в рабочем растворе содержится серная кислота.

*Примечание.* В настоящее время данный метод, как более токсичный и опасный, вытесняется уреазным фенол/гипохлоритным методом.

*Ход работы.* Осуществляется в соответствии с таблицей 15.

Таблица 15 — Приготовление проб

Реагент	Проба	Эталон	Контрольный раствор
Сыворотка или разведенная моча	0,01	—	—
Реактив 1	—	0,01	—
Дистиллированная вода	—	—	0,01
Реактив 2	2,0	2,0	2,0

В пробирку отмеривают 0,01 мл сыворотки крови или разведенной мочи, добавляют 2 мл рабочего раствора (реактива 2), содержащего смесь раствора диацетилмонооксида, тиосемикарбазида и хлорида железа в кислой среде.

Эталонную пробу обрабатывают точно так же, используя вместо 0,01 мл сыворотки крови 0,01 мл эталонного раствора мочевины (реактива 1).

Содержимое пробирок тщательно перемешивают, пробирки закрывают алюминиевой фольгой и помещают точно (!) на 10 мин в кипящую баню.

Затем пробирки быстро охлаждают в токе холодной воды и не позднее (!) 15 мин после охлаждения, измеряют оптическую плотность пробы ( $A_1$ ) и эталона ( $A_2$ ) против контрольного раствора (реактив 2) в кювете 10 мм при длине волны 490–540 нм (зеленый светофильтр).

Мочу перед анализом разводят дистиллированной водой в соотношении 1 : 100, а результат умножается на коэффициент разведения.

*Расчет:* [Мочевина] = 16,65( $A_1/A_2$ )(моль/л).

*Норма.* 2,5–8,3 ммоль/л.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

*Предупреждение.* При содержании мочевины в пробе свыше 23 ммоль/л пробу следует развести дистиллированной водой, анализ провести повторно, а полученный результат умножить на коэффициент разведения.

При определении мочевины в гемолитических или липемических сыворотках пробу необходимо депротенинировать 5 %-ным раствором ТХУ. Для этого в пробирке смешивают 0,1 мл пробы с 1 мл раствора ТХУ и центрифугируют. Точно так же разбавляют и эталонный раствор мочевины. Для собственно анализа отмеривают 0,1 мл надосадочной жидкости. Далее определение проводят как при анализе без депротенинирования. Таким же способом можно анализировать цельную кровь.

### **Рекомендуемая литература**

#### **Основная**

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 277–287.

2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 469–491.

3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 265–278.

4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 335–351.

5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 306–316.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 428–451.

#### *Дополнительная*

7. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 2. — С. 571–599.

## **ЗАНЯТИЕ 21.**

### **БЕЛКИ-3. ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

**Цель занятия:** сформировать представления об особенностях обмена отдельных аминокислот в норме и при патологии. Дать биохимическое обоснование практического применения аминокислот в медицине. Освоить методику определения активности трансаминаз в сыворотке крови.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение, классификацию и свойства основных классов аминокислот.
2. ЦТК, реакции, ферменты, механизмы регуляции, его взаимосвязь с обменом аминокислот, углеводов, липидов и циклом синтеза мочевины.
3. Механизмы митохондриального и микросомального окисления.
4. Энзимопатии (общая характеристика).
5. Энзимодиагностика (принципы, объекты, цель и задачи).

Студент должен уметь:

1. Проводить исследование на колориметре.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. ЦТК (реакции, ферменты, коферменты, механизмы регуляции, биологическая роль). Пути вступления отдельных аминокислот в ЦТК (глико- и кетогенные аминокислоты).

1.2. Особенности обмена отдельных аминокислот — биосинтез и распад, участие в ГНГ или кетогенезе, применение в медицине.



1.3. Ала — основные пути метаболизма, регуляторная роль.

1.4. Гли, сер — механизм взаимопревращений, роль ТГФК в обмене, участие в биосинтезе ФЛ, этаноламина, холина, пуринов, порфиринов, глутатиона, креатина, гиппуровой кислоты, желчных кислот. Нарушение обмена гли — гиперглицинемия, оксалоз, их основные клинические проявления.

1.5. Глу — прямое и не прямое окислительное дезаминирование, трансаминирование, ферменты и биологическое значение. Биологическое значение глутаматдегидрогеназы.

1.5.1. Адаптивная роль глу: антигипоксическая — образование ГАМК, ГОМК и янтарной кислоты, энергетический «выход» окисления глу; антигипоксическая — обезвреживание аммиака, связывание тяжелых металлов и др.; антиоксидантная — синтез глутатиона, биосинтез про, пуриновых оснований. Роль глу в интеграции углеводного, липидного и азотистого обменов. Показания к применению глу в медицинской практике.

1.6. Асп — основные метаболические превращения: трансаминирование, амидирование (обезвреживание аммиака),  $\alpha$ -декарбоксилирование (биологическая роль  $\beta$ -аланина), биосинтез пуриновых и пиримидиновых оснований, биосинтез мочевины, участие в цикле пуриновых нуклеотидов. Показания к применению асп в медицинской практике.

1.7. Про — биосинтез, распад, механизм образования о-про, реакция, ферменты, роль микросомального окисления, аскорбата и др. Клинико-диагностическое значение определения содержания про и о-про в крови и моче. Нарушение обмена про — гиперпролинемия, основные клинические проявления.

1.8. Гис — биосинтез и основные пути обмена, их биологическая роль: образование гистамина, дипептидов ансерина, карнозина. Использование гис как радиопротектора и антиоксиданта. Нарушение обмена гис — гипергистидинемия, основные клинические проявления.

1.9. Арг — биосинтез и основные пути обмена, их биологическое значение: адаптивная роль системы арг — аргиназа — мочевина.

1.10. Цис — механизм биосинтеза из мет. Антигипоксическая, антиоксидантная и радиопротекторная роль: биосинтез цистина, таурина, ФАФС, глутатиона и др. Нарушение обмена цис — цистиноз, его основные клинические проявления.

1.11. Мет — основные пути метаболизма: образование *S*-аденозилметионина (*SAM*), витамина *U* (*S*-метилметионина), реакции трансметилирования – синтез холина, адреналина, креатинина, реакции детоксикации и др. Нарушение обмена мет — гомоцистинурия, цистатионурия, основные клинические проявления.

1.12. Фен и тир — основные пути метаболизма: биосинтез катехоламинов, тиреоидных гормонов, меланина и др. Нарушение обмена фен, тир — фенилкетонурия, альбинизм, алкаптонурия, тирозиноз, их основные клинические проявления.

1.13. Трп — основные пути обмена: кинурениновый, образование триптамина и серотонина. Нарушения обмена трп — синдром Хартнупа, его основные клинические проявления.

1.14. Вал, лей, иле — особенности обмена, регуляторная роль этих аминокислот. Нарушения обмена — болезнь кленового сиропа, ее основные клинические проявления.

1.15. Интеграция углеводного, липидного и белкового обменов, механизм образования общих метаболитов.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

### Задачи

1. При декарбоксилировании какой аминокислоты образуется  $\beta$ -аланин?

*Варианты ответа:*

- |                       |                  |
|-----------------------|------------------|
| а) $\alpha$ -аланина; | г) фенилаланина; |
| б) глутамина;         | д) аспартата.    |
| в) метионина;         |                  |

2. В образовании каких веществ принимает участие серин?

*Варианты ответа:*

- |                 |              |
|-----------------|--------------|
| а) этаноламина; | г) пирувата; |
| б) этанола;     | д) глюкозы.  |
| в) холина;      |              |

3. Активная форма какого витамина выступает коферментом взаимопревращения глицина и серина?

*Варианты ответа:*

- а) В<sub>1</sub>;      б) В<sub>2</sub>;      в) В<sub>3</sub>;      г) В<sub>6</sub>;      д) В<sub>9</sub>.

4. Укажите промежуточные метаболиты превращения глутамата в сукцинат:

*Варианты ответа:*

- |                            |                           |
|----------------------------|---------------------------|
| а) $\alpha$ -кетоглутарат; | г) янтарный полуальдегид; |
| б) $\gamma$ -аминобутират; | д) сукцинилкоэнзим А.     |
| в) $\gamma$ -оксибутират;  |                           |

5. В синтезе каких веществ принимает участие гистидин?

*Варианты ответа:*

- |                |               |
|----------------|---------------|
| а) ансерина;   | г) карнозина; |
| б) гистамина;  | д) карнитина. |
| в) триптофана; |               |

6. С каким субстратом взаимодействует NO-синтаза:

*Варианты ответа:*

- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| а) аланином;  | г) цитруллином; |
| б) аргинином; | д) орнитинном.  |
| в) NO;        |                 |

7. В процессе метаболизма триптофана образуются:

*Варианты ответа:*

- а) аланин; г) секретин;  
 б) тиамин; д) кинуренин.  
 в) серотонин;

8. Для метилирования каких соединений используется SAM?

*Варианты ответа:*

- а) креатина; г) метионина;  
 б) гуанидиноацетата; д) фосфатидилэтаноламина.  
 в) норадреналина;

9. Первой стадией катаболизма АКРР является:

*Варианты ответа:*

- а) декарбоксилирование; г) дезаминирование;  
 б) фосфорилирование; д) гидроксирование.  
 в) трансаминирование;

10. Сколько молекул АТФ можно синтезировать по результатам превращения валина в щавелевоуксусную кислоту?

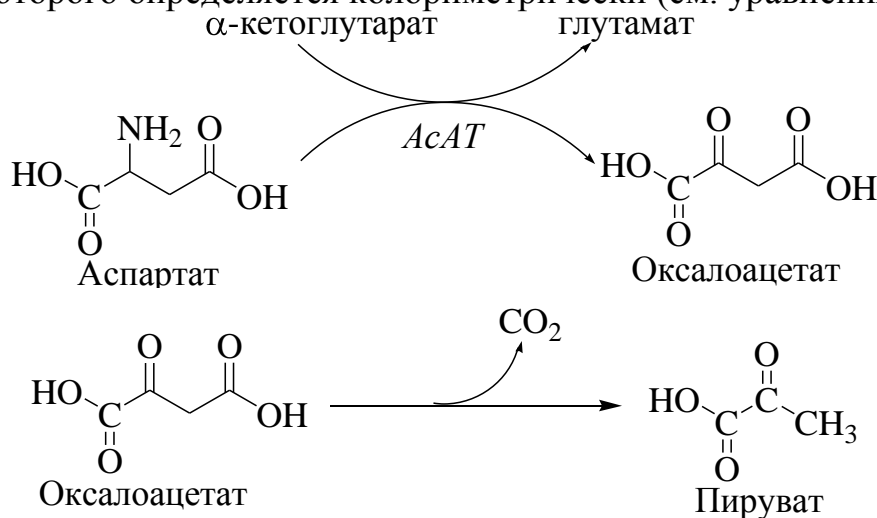
*Варианты ответа:*

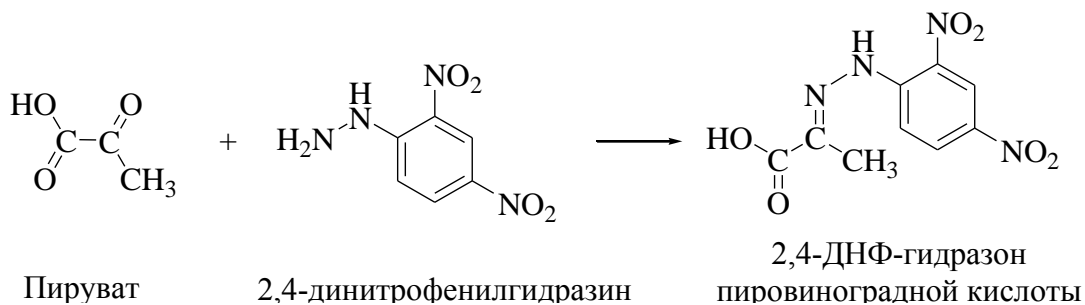
- а) 10; б) 12; в) 15; г) 16; д) 20.

## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Определение активности АСТ в сыворотке крови по Райтману и Френкелю.

*Принцип метода.* В результате переаминирования, происходящего под действием АСТ, образуется щавелевоуксусная кислота. Щавелевоуксусная кислота спонтанно декарбоксилируется в пировиноградную. При добавлении 2,4-динитрофенилгидразина в щелочной среде образуется гидразон пировиноградной кислоты красно-коричневого цвета, интенсивность окраски которого определяется колориметрически (см. уравнения).





*Ход работы.* Пробирку с 0,25 мл субстратно-буферной смеси нагревают в термостате при 37 °С в течение 5 мин, добавляют 0,05 мл сыворотки крови и инкубируют 60 мин в термостате при этой же температуре.

Добавляют 0,25 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина и выдерживают в течение 20 мин при комнатной температуре. Затем добавляют еще 2,5 мл NaOH, перемешивают и оставляют еще на 10 мин при комнатной температуре.

Измеряют на фотометре экстинкцию опытной пробы при длине волны 500–560 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве контрольной пробы используется дистиллированная вода.

*Расчет.* Производят по калибровочному графику.

*Норма.* АСТ — 0,1–0,45 ммоль/ч. л (пирувата на 1 л сыворотки крови за 1 ч инкубации при 37 °С).

*Клинико-диагностическое значение.* Определение активности АЛТ и АСТ широко используется в ранней дифференциальной диагностике различных заболеваний. Оба фермента высокоактивны в различных тканях. Однако наибольшая активность АЛТ приходится на печень, а АСТ — на миокард. В связи с высокой информативностью определение активности АЛТ используется для ранней диагностики болезни Боткина (до появления желтухи и первых симптомов болезни — недомогания, слабости и т. д.), а также ее безжелтушных форм. Высокая активность фермента в крови поддерживается первые 10–15 дней, а затем постепенно снижается. Степень увеличения активности АЛТ коррелирует с тяжестью болезни.

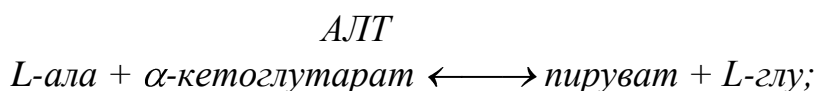
АСТ более специфична для миокарда, поэтому используется для ранней дифференциальной диагностики инфаркта миокарда. Причем увеличение активности отмечается через 24–36 ч и снижается на 3-и–7-е сутки.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

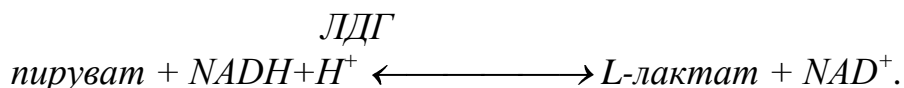
## **Лабораторная работа № 2. Определение активности АЛТ в сыворотке и плазме крови ферментативным методом (УФ-области).**

*Принцип метода.* Основан на сопряжении двух ферментативных реакций (АЛТ и ЛДГ) — трансаминирования и последующего NADH-зависимого восстановления пирувата, образующегося в процессе трансаминирования (см. уравнения).

*I этап:*



*II этап:*



Ход реакции регистрируют по убыли восстановленной формы кофермента –  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , имеющего максимум поглощения при 340 нм.

*Ход работы.* Активность АЛТ в сыворотке крови определяют в 2 этапа.

*I этап.* В пробирку вносят 1 мл раствора № 1 (смесь ЛДГ,  $\text{NADH} + \text{H}^+$  буфер-субстрата, пиридоксаль-фосфата) и 0,1 мл сыворотки крови, перемешивают и термостатируют 5 мин при 37 °С.

*II этап.* Содержимое пробирки переливают в кювету, предварительно нагретую до 37 °С, и добавляют 0,1 мл раствора № 2 ( $\alpha$ -кетоглутарат).

Измеряют оптическую плотность при длине волны 340 нм, ширине кюветы 10 мм, в интервале 3 мин.

*Расчет.* Вычисляют изменение экстинкции за 1 мин ( $\Delta A/\Delta t$ ) в мккат/л, а также каталитическую концентрацию (активность АЛТ) по формуле 12:

$$C = \Delta A/\Delta t \times 31,75 \quad (12)$$

*Норма.* Активность АЛТ сыворотки крови равна 0,15–0,96 мккат/л.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### **Основная**

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 288–303.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 491–520.
3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 351–365.
4. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 317–355.
5. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 451–468.

#### **Дополнительная**

6. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 2. — С. 653–681.

## ЗАНЯТИЕ 22.

### БЕЛКИ-4. НУКЛЕОПРОТЕИДЫ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ИНФОРМАЦИОННЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ

**Цель занятия:** сформировать представления о структуре, метаболизме и функциях азотистых оснований, нуклеотидов и НК. Освоить качественные реакции на продукты гидролиза нуклеопротеидов.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение, свойства и функции азотистых оснований и нуклеотидов.
2. Правила Э. Чаргаффа.
3. Структуру, классификацию, свойства и функции НК.
4. Молекулярные механизмы переваривания и всасывания пищи в ЖКТ.
5. Энзимопатии (общая характеристика).

Студент должен уметь:

1. Проводить качественные реакции на белки и углеводы.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Переваривание и всасывание нуклеопротеидов в ЖКТ. Характеристика и функции «ядерных» белков.

1.2. Мононуклеотиды как структурные компоненты НК, их основные функции:

1.2.1. Переносчики энергии — АТФ, ГТФ.

1.2.2. Коферменты — NAD, NADP, FAD, FMN.

1.2.3. Участие в метаболизме углеводов (УДФ-глюкоза и др.) и липидов (ЦДФ-холин и др.).

1.2.4. Мессенджеры гормональных и др. сигналов — цАМФ, цГМФ.

1.3. Метаболизм (синтез и распад) пуринов и пиримидинов. Реакции, ферменты, регуляция.

1.4. Биосинтез АМФ и ГМФ. Реакции, ферменты, регуляция.

1.5. Структура и функции НК. Особенности строения и роль различных видов ДНК (ядерная, митохондриальная, сателлитная). Особенности структуры ДНК вирусов и фагов. Полиморфизм вторичной структуры ДНК — А-, В- и Z-формы.

1.6. Особенности строения и роль различных видов РНК — информационной, рибосомальной, транспортной, вирусной. Роль минорных оснований в структуре НК. Коэффициент видовой специфичности.

1.7. Механизмы хранения и передачи наследственной информации — репарация, репликация (строение репликативной вилки), транскрипция, трансляция, характеристика основных ферментов и кофакторов.

1.8. Этапы биосинтеза ДНК — инициация, элонгация, терминация, роль ДНК-полимераз.

1.9. Биосинтез РНК, его регуляция, роль РНК-полимераз. Процессинг РНК, его биологическое значение. Альтернативный сплайсинг.

1.10. Строение Ig. Характеристика основных классов Ig — IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Рекомбинация генов Ig как причина их разнообразия.

1.11. Патология обмена азотистых оснований и НК. Нарушения процессов репарации ДНК и их последствия. Причины возникновения и основные клинические проявления оротацидурии, ксантинурии, синдрома Леша-Нихана и подагры.

## **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

### **Задачи**

1. Для биологического кода характерны следующие свойства:

*Варианты ответа:*

- а) каждый кодон соответствует одной аминокислоте;
- б) каждой аминокислоте соответствует только один кодон;
- в) кодоны мРНК считываются в направлении от 5'-к 3'-концу;
- г) смысл кодонов одинаков для всех живых организмов на Земле.

2. В ходе посттрансляционной достройки полипептидные цепи могут:

*Варианты ответа:*

- а) фосфорилироваться;
- б) образовывать олигомеры;
- в) подвергаться частичному протеолизу;
- г) гидроксिलироваться;
- д) соединяться с простетическими группами.

3. Активация аминокислот происходит с помощью фермента:

*Варианты ответа:*

- а) лигаза;
- б) фосфатаза;
- в) РНК-аза;
- г) пептидаза;
- д) синтетаза;
- е) лиазы.

4. Аминокислоты в белках ковалентно связаны:

*Варианты ответа:*

- а) силами Ван-дер-Ваальса;
- б) пептидными связями;
- в) гидрофобными связями;
- г) фосфоэфирными связями;
- д) водородными связями;
- е) координационными связями.

5. Укажите основной фермент, ответственный за реализацию информации генома ретровирусов:

*Варианты ответа:*

- а) ДНК-лигаза;
- б) ДНК-полимераза;
- в) обратная транскриптаза (ревертаза);
- г) РНК-полимеразы;
- д) АРС-аза.

6. Каждая рибосома в полисоме:

*Варианты ответа:*

- а) движется по мРНК в направлении 3' → 5';
- б) движется по мРНК в направлении 5' → 3';
- в) синтезирует многие полипептидные цепи;
- г) синтезирует только одну полипептидную цепь;
- д) диссоциирует по окончании синтеза.

7. Точечная мутация мРНК будет наиболее вероятной причиной:

*Варианты ответа:*

- а) распада мРНК;
- б) инактивации рибосом;
- в) изменения первичной структуры белка;
- г) незавершенной транскрипции;
- д) подавления сплайсинга.

8. Белки синтезируются:

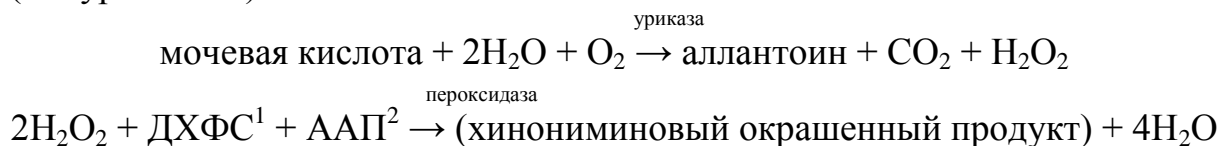
*Варианты ответа:*

- а) от N-конца к C-концу;
- б) от C-конца к N-концу;
- в) с матрицы рРНК;
- г) с матрицы иРНК;
- д) от 3'-конца к 5'-концу РНК;
- е) от 5'-конца к 3'-концу РНК.

## Лабораторные работы

**Лабораторная работа № 1. Определение концентрации мочевого кислоты в биологических жидкостях энзиматическим колориметрическим методом без депротеинизации.**

*Принцип метода.* Содержащаяся в пробе мочевая кислота окисляется под действием фермента уриказы с образованием эквимольного количества перекиси водорода. В присутствии пероксидазы перекись водорода окисляет хромогены с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации мочевого кислоты в пробе (см. уравнение).



<sup>1</sup> 3,5-дихлоро-2-фенолсульфонат;



*Ход работы.* Осуществляется в соответствии с таблицей 6.

Таблица 16 — Приготовление проб

Реактивы	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл
Рабочий реагент	2,0	2,0
Калибратор	—	0,05
Сыворотка крови	0,05	—

Содержимое опытной пробы перемешивают и инкубируют в термостате при температуре 20–25 °С не менее 10 мин. Затем опытную пробу фотометрируют при длине волны 490 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 0,5 см против дистиллированной воды.

*Примечание.* Окраска стабильна не менее 40 мин после окончания инкубации.

*Расчет* производят по формуле 13:

$$C = E_{\text{пр}} / E_{\text{кал}} \times 357 \text{ (мкмоль/л)}$$

или

$$C = E_{\text{пр}} / E_{\text{кал}} \times 6 \text{ мг/100 мл,}$$
(13)

где  $E_{\text{пр}}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{кал}}$  — экстинкция калибровочной пробы;

357 или 6 — концентрация мочевого кислоты в калибраторе в мкмоль/л или мг/100 мл.

*Норма:* женщины — 142–339 мкмоль/л (2,4–5,7 мг/100 мл), мужчины — 202–416 мкмоль/л (3,4–7,0 мг/100 мл).

*Клинико-диагностическое значение*

Увеличение уровня мочевого кислоты в крови (гиперурикемия) отмечается при патологических состояниях, связанных с усилением распада клеток (в особенности содержащих ядра), нарушением выделения мочевого кислоты с мочой, изменением эндокринной регуляции обмена пуриновых оснований (вторичные гиперурикемии), а также при подагре — заболевании, обусловленном первичным (вызванным врожденными ферментативными сдвигами метаболизма) нарушением обмена этого метаболита.

Гипоурикемия (уменьшение концентрации этого метаболита) наблюдается при гепатоцеребральной дистрофии (болезни Вильсона–Коновалова), некоторых злокачественных новообразованиях (лимфогранулематозе, бронхогенном раке), у больных после приема пиперазина, атофана, салицилатов и АКТГ.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

**Лабораторная работа № 2. Качественные реакции на продукты гидролиза нуклеопротеидов (белки, углеводы, пуриновые основания, фосфат).**

*Принцип метода.* Основан на проведении специфических реакций на компоненты нуклеопротеидов дрожжей, получаемых путем их гидролиза: полипептиды, пуриновые основания, углеводы и фосфат.

**ВНИМАНИЕ!** Соблюдать меры безопасности при работе с концентрированной серной кислотой и кипячением на водяной бане.

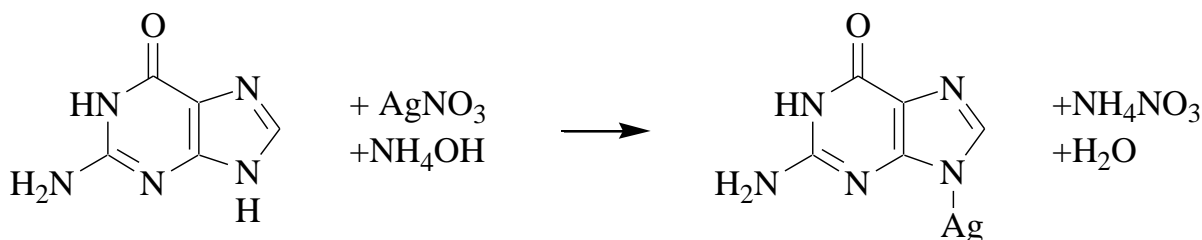
*Ход работы.*

*1. Биуретовая реакция на полипептиды*

К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель 10 %-ного раствора NaOH, затем 2 капли 1 %-ного раствора CuSO<sub>4</sub>. Образуется комплекс фиолетового цвета.

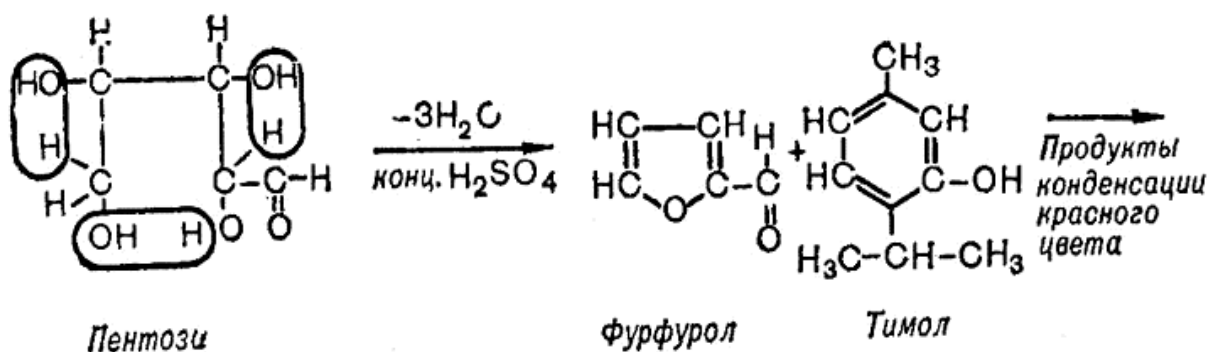
*2. Серебряная проба на пуриновые основания*

К 10 каплям гидролизата приливают 10 капель концентрированного (!) аммиака, затем добавляют 10 капель 2 %-ного аммиачного раствора нитрата серебра. При стоянии через 3–5 мин образуется светло-коричневый осадок серебряных солей пуриновых оснований (см. уравнение).



*3. Качественная реакция на пентозу (Молиша)*

К 5 каплям гидролизата добавляют 3 капли 1 %-ного спиртового раствора тимола, перемешивают и по стенке пробирки осторожно наслаивают 20 капель концентрированной (!) серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется продукт конденсации фурфурола с тимолом красного цвета (см. уравнение).



#### 4. Качественная реакция на углеводы

К 5 каплям гидролизата дрожжей приливают 3 капли 0,2 %-ного спиртового раствора альфа-нафтола и 20 капель концентрированной (!) серной кислоты. Наблюдают появление розово-фиолетового окрашивания.

#### 5. Реакция на дезоксирибозу и рибозу

К 5 каплям гидролизата дрожжей добавляют 20 капель 1 %-ного раствора дифениламина и кипятят на водяной бане в течение 15 мин, при этом образуется сине-зеленое окрашивание, поскольку дифениламин с дезоксирибозой дает синее окрашивание, а с рибозой — зеленое.

#### 6. Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 10 каплям гидролизата дрожжей приливают 20 капель молибденового реактива и кипятят несколько минут на открытом огне спиртовки. При этом жидкость окрашивается в желтый цвет. Пробирку сразу охлаждают в струе холодной воды. На дне пробирки появляется кристаллический лимонно-желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония.

*Порядок оформления работы.* Результаты лабораторной работы записывают в тетрадь (таблица 17).

Таблица 17 — Результаты качественных реакций на продукты гидролиза нуклеопротеидов

Открываемое соединение	Используемые реактивы	Продукты реакции	Чем обусловлена реакция?
1			
2			
3			
4			
5			
6			

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

#### **Рекомендуемая литература**

##### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 307–338, 344–386.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 140–170, 185–226, 521–544.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 278–303.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 101–131, 366–379.

5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 356–375.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 96–113, 469–503.

*Дополнительная*

7. Молекулярная биология клетки: в 2 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 2. — С. 93–126.

8. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. — М.: Мир, 1985. — Т. 2. — С. 653–681.

## **ЗАНЯТИЕ 23.**

### **БЕЛКИ-5. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА. РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА. ПАТОЛОГИЯ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА**

**Цель занятия:** сформировать представления об этапах биосинтеза белка, механизмах его регуляции и молекулярных аспектах основных нарушений азотистого обмена. Освоить рефрактометрический метод определения концентрации белка в сыворотке крови.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение, классификацию и свойства основных классов НК.
2. Строение рибосом.
3. Механизмы регуляции активности ферментов.
4. Структуру и функцию Ig.
5. Энзимопатии (общая характеристика).

Студент должен уметь:

1. Проводить исследование на рефрактометре.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Принципиальное отличие биосинтеза белка от биосинтеза других молекул. Общая схема биосинтеза белка — необходимые предпосылки.

1.1.1. Информационный поток — схема передачи информации. Репликация и транскрипция ДНК — ферменты, механизм. Обратная транскрипция, роль ревертаз. Процессинг и сплайсинг иРНК. Характеристика генетического кода, кодон, антикодон.

1.1.2. Пластический поток — механизм активации аминокислот, строения тРНК, характеристика АРС-аз — кодаз.

1.1.3. Энергетический поток. Роль макроэргов АТФ, ГТФ и др. в биосинтезе белка.

1.2. Рибосомы — принципы организации, строение, состав. Механизм трансляции — этапы рибосомального цикла.

1.2.1. Инициация, факторы инициации. Образование инициаторного комплекса.

1.2.2. Элонгация, факторы элонгации.

1.2.3. Терминация.

1.3. Виды и механизмы посттрансляционной модификации (процессинга) пробелков.

1.3.1. Химическая модификация (виды, примеры).

1.3.2. Ограниченный протеолиз.

1.3.3. Фолдинг белка в норме и при патологии, роль шаперонов.

1.4. Регуляция биосинтеза белка у прокариот (модель Жакоба и Моно).

1.5. Особенности регуляции биосинтеза белка у эукариот.

1.5.1. Регуляция механизмов транскрипции (модификация гистоновых и негистоновых белков).

1.5.2. Регуляция процессинга РНК (альтернативный сплайсинг и РНК).

1.5.3. Регуляция транспорта РНК из ядра в цитозоль.

1.5.4. Регуляция трансляции.

1.5.5. Регуляция транспорта и функциональной активности белков.

1.6. Патология белкового обмена. Нарушение переваривания и всасывания, последствия ахилии. Белковое голодание, квашиоркор, их последствия и основные проявления. Биосинтез дефектных белков. Первично- и вторично-дефектные белки. Относительно патологические белки. Поврежденные белки.

## **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

### **Задачи**

1. Формирование вторичной структуры ДНК происходит за счет:

*Варианты ответа:*

а) водородных связей;

г) гидрофобных взаимодействий;

б) ионных связей;

д) ковалентных связей.

в) сложноэфирных связей;

2. Выберите различия в строении ДНК и РНК:

*Варианты ответа:*

а) в составе азотистых оснований;

б) в составе нуклеотидов;

в) в типе связи между нуклеотидами;

г) в первичной структуре;

д) во вторичной структуре.

3. Репликация происходит:

*Варианты ответа:*

- а) в ядре клетки;
- б) один раз за время клеточного цикла;
- в) с использованием рибонуклеозидтрифосфата;
- г) при участии репликативного комплекса;
- д) в цитозоле клетки.

4. Выберите ферменты репликации, участвующие в образовании 3',5'-фосфодиэфирной связи:

*Варианты ответа:*

- а) ДНК-полимераза  $\delta$ ;
- б) ДНК-лигаза;
- в) ДНК-полимераза  $\alpha$ ;
- г) ДНК-хеликаза;
- д) ДНК-полимераза  $\beta$ .

5. Активность РНК-полимеразы регулируют:

*Варианты ответа:*

- а) ТАТА-фактор;
- б) факторы инициации;
- в) SSB-белки;
- г) фактор элонгации;
- д) мРНК.

6. Удлиняется непрерывно по ходу раскручивания репликативной вилки:

*Варианты ответа:*

- а) лидирующая цепь;
- б) отстающая цепь;
- в) обе;
- г) ни одна.

7. В состав нуклеозида входит:

*Варианты ответа:*

- а) азотистое основание;
- б) азотистое основание и пентоза;
- в) азотистое основание пентоза и остаток фосфорной кислоты.

8. Нуклеотиды расщепляются ферментами:

*Варианты ответа:*

- а) нуклеазами;
- б) нуклеотидазами;
- в) нуклеозидазами;
- г) нуклеозидфосфорилазами.

### **Лабораторная работа. Определение общего белка сыворотки крови рефрактометрическим методом.**

*Принцип метода.* В основе рефрактометрии лежит различная преломляющая способность жидких сред, количественно выражаемая коэффициентом преломления (отношение синуса угла падения ( $\alpha$ ) к синусу угла преломления ( $\beta$ )) (формула 14):

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} . \quad (14)$$

Коэффициент преломления в сыворотке крови обусловлен в основном количеством, качеством растворенного белка и температурой. Влияние других компонентов сыворотки крови значительно меньше. Определение коэффициента преломления проводят с помощью рефрактометров.

*Расчет.* Определив показатель преломления по таблице 18, вычисляют процент содержания белка в сыворотке крови. Для перехода к единицам СИ (г/л) результат следует умножить на 10.

Таблица 18 — Содержание белка в плазме (сыворотке) крови

Коэффициент преломления	Содержание белка, %	Коэффициент преломления	Содержание белка, %	Коэффициент преломления	Содержание белка, %
1,33705	0,63	1,34313	4,16	1,34910	7,63
1,33743	0,86	1,34350	4,38	1,34947	7,85
1,33781	1,08	1,34388	4,60	1,34984	8,06
1,33820	1,30	1,34420	4,81	1,35021	8,28
1,33858	1,52	1,34463	5,03	1,35058	8,49
1,33896	1,74	1,34500	5,25	1,35095	8,71
1,33934	1,96	1,34537	5,47	1,35132	8,92
1,33972	2,18	1,34575	3,68	1,35169	9,14
1,34000	2,40	1,34612	5,90	1,35205	9,35
1,34048	2,62	1,34650	6,12	1,35242	9,57
1,34086	2,84	1,34687	6,34	1,35279	9,78
1,34124	3,06	1,34724	6,55	1,35316	9,99
1,34162	3,28	1,34761	6,77	1,35352	10,20
1,34199	3,50	1,34798	6,98	1,35388	10,41
1,34237	3,72	1,34836	7,20		
1,34275	3,94	1,34873	7,42		

*Норма.* Содержание общего белка в плазме (сыворотке) крови здорового человека составляет 6,5–8,5 % или 65–85 г/л.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 338–344, 387–418.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 170–185.

3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 189–260.

4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 131–154, 363–365, 477–481.

5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 315–316, 319–342, 352–355. — Т. 2. — С. 24–25, 29–34.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 509–544.

#### *Дополнительная*

7. Молекулярная биология клетки: в 2 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 2. — С. 176–253.

## **РАЗДЕЛ 6. БИОХИМИЯ ВИТАМИНОВ И ГОРМОНОВ**

### **ЗАНЯТИЕ 24. ВИТАМИНЫ**

**Цель занятия:** изучить специфические биохимические функции витаминов, их роль в метаболизме.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и основные свойства водорастворимых (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, РР, С, Н) и жирорастворимых (А, D, Е, К) витаминов.

2. Строение и механизм действия ферментов.

3. Строение и механизм действия коферментов.

4. Механизмы перекисных процессов и АОЗ.

5. Механизмы интеграции обмена углеводов, липидов и белков.

Студент должен уметь:

1. Проводить качественный анализ на биологически активные вещества.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Общая характеристика и классификация витаминов. История учения о витаминах (работы Л. И. Лунина, К. А. Сосина, Х. Эйкмана, К. Функа, Ф. Г. Гопкинса). Групповая характеристика витаминов. Гиповитаминозы и авитаминозы, их причины (алиментарные, повышенная потребность, парентеральное питание, заболевания ЖКТ, глистные инвазии, применение лекарственных препаратов и антивитаминов, врожденные нарушения обмена витаминов).



- 1.2. Каждый витамин рассматривается по схеме:
- 1.2.1. Химическая природа и основные свойства (устойчивость к действию света, рН среды, высокой температуре и др.).
  - 1.2.2. Превращения в организме и механизмы активации.
  - 1.2.3. Механизм действия (участие в обмене веществ, физиологические эффекты).
  - 1.2.4. Картина гипо-, авитаминоза и гипервитаминоза и их клинико-лабораторная диагностика.
  - 1.2.5. Источники витаминов и их содержание в продуктах питания.
  - 1.2.6. Показания к применению, профилактические и лечебные дозы.
- 1.3. Строение водорастворимых витаминов В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), РР (никотинамид, ниацин), В<sub>6</sub> (пиридоксин), С (аскорбиновая кислота), Н (биотин), пантотеновая кислота, фолиевая кислота, витамин В<sub>12</sub> (кобаламин).
- 1.4. Строение жирорастворимых витаминов А (антиинфекционный, витамин роста), D (антирахитический), их провитаминов и метаболитов, Е (антистерильный), К (антигеморрагический).
- 1.5. Витаминоподобные вещества: витамин Р (рутин, биофлавоноиды), витамин F (эссенциальные жирные кислоты), витамин В<sub>8</sub> (инозитол), карнитин, липоевая кислота (витамин N), пара-аминобензойная кислота, витамин U (S-метилметионин), холин (витамин В<sub>4</sub>).

## 2. Практическая часть

- 2.1. Решение задач.
- 2.2. Лабораторные работы.
- 2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

## Задачи

1. Витамин, наиболее широко применяющийся в комплексной терапии невритов и полиневритов:

*Варианты ответа:*

- а) В<sub>1</sub>;      б) В<sub>6</sub>;      в) С;      г) К;      д) Е;      е) Н.

2. Витамин, участвующий в образовании никотиновых коферментов:

*Варианты ответа:*

- а) В<sub>1</sub>;      б) В<sub>2</sub>;      в) В<sub>6</sub>;      г) РР;      д) Н;      е) С.

3. Тип реакций, в котором принимает участие биотин:

*Варианты ответа:*

- а) карбоксилирование;      г) окисление;  
б) декарбоксилирование;      д) восстановление;  
в) трансаминирование;      е) замещения.

4. Витамин, необходимый для превращения гистидина в гистамин:

*Варианты ответа:*

- а) В<sub>1</sub>;      б) В<sub>2</sub>;      в) В<sub>6</sub>;      г) С;      д) РР;      е) А.

5. Витамин, необходимый для превращения пропионил-КоА в метил-малонил-КоА:

*Варианты ответа:*

а) В<sub>6</sub>;      б) В<sub>12</sub>;      в) С;      г) В<sub>1</sub>;      д) В<sub>2</sub>;      е) А.

6. Второе название рибофлавина:

*Варианты ответа:*

а) витамин роста;      г) антипеллагрический;  
б) антианемический;      д) антигеморрагический;  
в) антидерматитный;      е) антискорбутный.

7. Витамин Е накапливается:

*Варианты ответа:*

а) в почках;      г) в яичниках;  
б) в жировой ткани;      д) в нервной ткани;  
в) в мышечной ткани;      е) в селезенке.

8. Выберите неправильные утверждения:

*Варианты ответа:*

а) для гипервитаминоза D характерно избыточное поглощение Ca<sup>2+</sup> в кишечнике;

б) витамин К синтезируется микрофлорой кишечника;

в) одним из сильнейших природных антиоксидантов является витамин Е;

г) витамин Е входит в состав зрительного пурпура — родопсина;

д) витамин В<sub>2</sub> участвует в реакциях карбоксилирования.

9. Антисеборейный витамин:

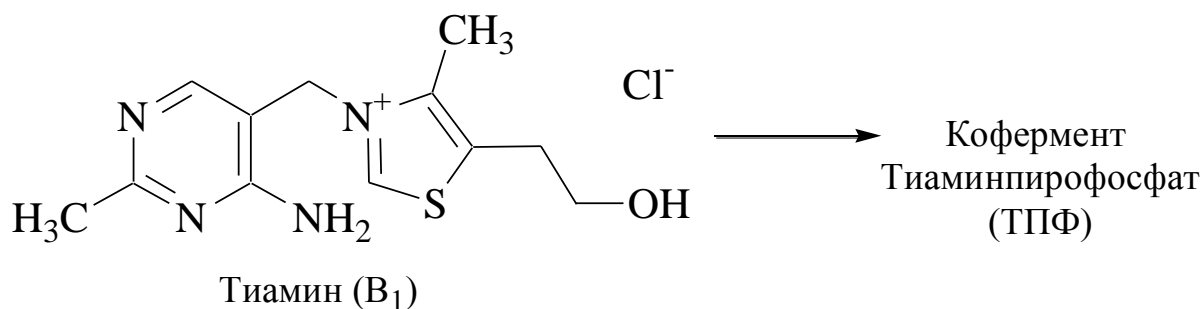
*Варианты ответа:*

а) В<sub>2</sub>;      б) В<sub>6</sub>;      в) Н;      г) Е;      д) С;      е) D.

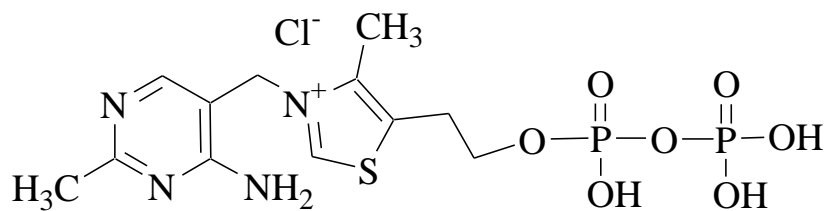
## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Качественные реакции на витамин В<sub>1</sub>.

Витамин В<sub>1</sub> состоит из пиримидинового и тиазольного колец. Он получил название тиамин, поскольку содержит серу и азот (см. уравнение):



ТПФ, а в некоторых тканях ТТФ, является коферментной формой тиамин и синтезируется в печени путем прямого переноса фосфата от АТФ (см. уравнение):

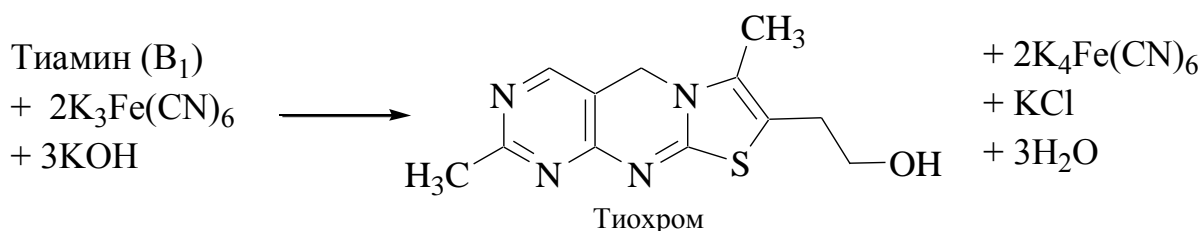


Тиаминпирофосфат (ТПФ)

ТПФ в составе ферментов углеводного обмена участвует в окислительном декарбоксилировании  $\alpha$ -кетокислот и в транскетолазной реакции. Его недостаток вызывает поражение периферической нервной системы, сердечно-сосудистой системы и ЖКТ. При этом в крови накапливаются пировиноградная кислота и другие  $\alpha$ -кетокислоты.

### Реакция окисления

*Принцип метода.* В щелочной среде тиамин окисляется феррицианидом калия в тиохром, обладающий при ультрафиолетовом облучении синей флюоресценцией. Реакция протекает по следующей схеме (см. уравнение):



*Ход работы.* К 1 капле 5 %-ного раствора тиамин прибавляют 5–10 капель 10 %-ного раствора едкого натра, 1–2 капли 5 %-ного раствора феррицианида калия и взбалтывают. Прогрев флюороскоп в течение 10 мин, наблюдают синюю флюоресценцию при облучении раствора ультрафиолетовыми лучами.

### Диазореакция

*Принцип метода.* В щелочной среде тиамин с диазореактивом образует сложное комплексное соединение оранжевого цвета.

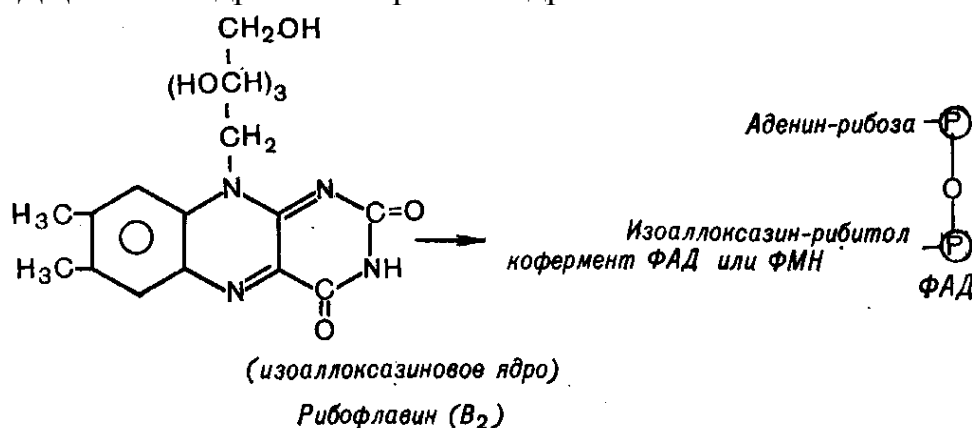
*Ход работы.* К диазореактиву, состоящему из 5 капель 1 %-ного раствора сульфаниловой кислоты и 5 капель 5 %-ного раствора нитрата натрия добавляют 1–2 капли 5 %-ного раствора тиамин и затем по стенке, наклонив пробирку, осторожно добавляют 5–7 капель 10 %-ного раствора бикарбоната натрия. На границе двух жидкостей появляется кольцо оранжевого цвета.

*Выводы по результатам работы.*

## Лабораторная работа № 2. Качественная реакция на витамин В<sub>2</sub>.

Рибофлавин состоит из изоаллоксазинового ядра и спирта рибитола (см. уравнение).

Рибофлавин входит в состав простетической группы флавиновых ферментов (FP) в виде коферментов FAD и флавинаденинмононуклеотида (FMN). FP катализируют окислительно-восстановительные реакции. Они участвуют в окислении D-аминокислот, β-окислении жирных кислот, в работе ДЦ митохондрий и микросом и др.



Биологическое действие флавиновых ферментов связано с наличием окислительно-восстановительных свойств изоаллоксазинового кольца.

При недостатке в организме В<sub>2</sub> возникают поражения слизистых в виде хейлита, глоссита и др.

*Принцип метода.* Окисленная форма витамина В<sub>2</sub> представляет собой желтое флюоресцирующее в ультрафиолетовых лучах вещество. Реакция на витамин В<sub>2</sub> основана на способности его легко восстанавливаться, при этом раствор витамина В<sub>2</sub>, обладающий желтой окраской, приобретает сначала розовый цвет за счет образования промежуточных соединений, а затем обесцвечивается, так как восстановленная форма витамина В<sub>2</sub> бесцветна.

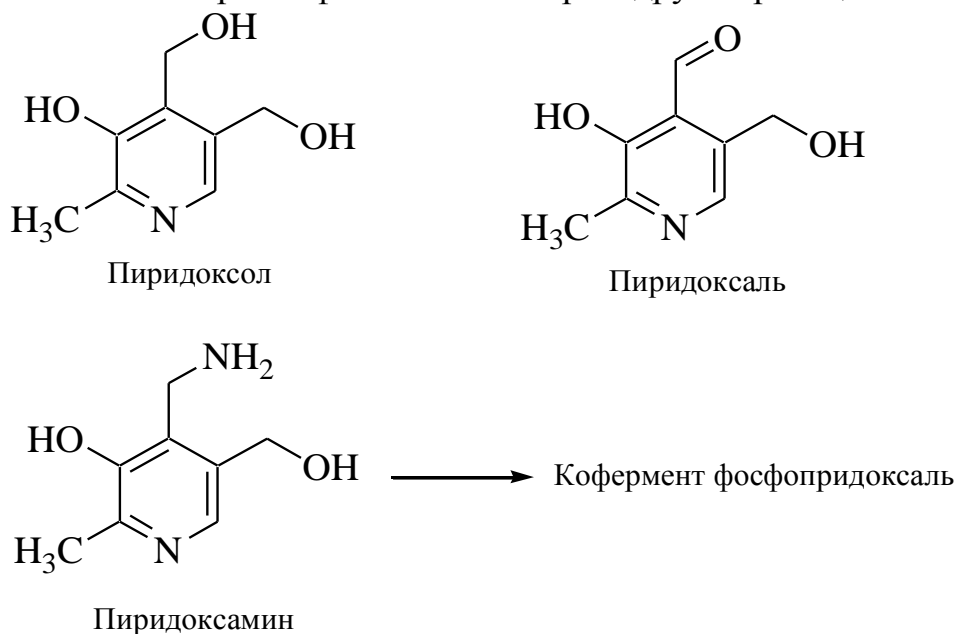
*Ход работы.* В пробирку наливают 10 капель раствора витамина В<sub>2</sub>, добавляют 5 капель концентрированной HCl, опускают зернышко металлического цинка. Начинается выделение пузырьков водорода, восстанавливающего рибофлавин, жидкость при этом постепенно розовеет и обесцвечивается. Сравнивают обе формы витамина В<sub>2</sub> по флюоресценции, поместив каждую пробирку под освещение флюороскопа.

*Выводы по результатам работы*

## Лабораторная работа № 3. Качественная реакция на витамин В<sub>6</sub>.

Группа витамина В<sub>6</sub>: пиридоксол, пиридоксаль, пиридоксамин — являются производными 3-оксипиридина, носят общее название пиридоксина и обладают активностью витамина В<sub>6</sub> (см. уравнение).

В организме эти соединения подвергаются фосфорилированию при участии АТФ с образованием коферментов фосфопиридоксаль, фосфопиридоксамина, которые входят в состав ферментов, участвующих в белковом обмене, в реакциях трансаминирования, декарбоксилирования аминокислот, десульфенирования, дегидратирования аминокислот, в образовании витамина РР из триптофана и в некоторых других реакциях.



При недостатке витамина В<sub>6</sub> у животных прежде всего нарушается обмен белков, у человека недостаточность этого витамина встречается редко.

*Принцип метода.* Витамин В<sub>6</sub> при взаимодействии с раствором хлорного железа образует комплексную соль типа фенолята железа красного цвета.

*Ход работы.* К 5 каплям 1 %-ного раствора витамина В<sub>6</sub> приливают равное количество 1 %-ного раствора хлорного железа и перемешивают. Развивается красное окрашивание.

*Выводы по результатам работы.*

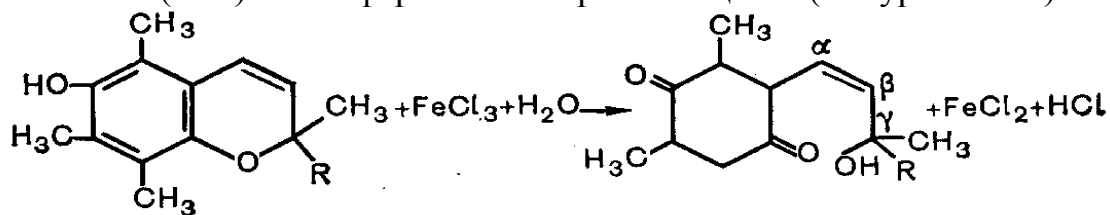
#### **Лабораторная работа № 4. Качественная реакция на витамин Е.**

Витамин Е существует в виде нескольких изомеров: α, β и γ-токоферолов, которые отличаются друг от друга порядком расположения метильных групп в бензольном кольце. Токоферолы — маслянистые жидкости, растворимые в растительных маслах и жирowych растворителях.

Витамин Е является мощным антиоксидантом. Некоторые производные витамина Е участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, связанных с ОФ.

Витамин Е может депонироваться в мышцах и поджелудочной железе.

*Принцип метода.* Спиртовой раствор  $\alpha$ -токоферола окисляется хлоридом железа ( $\text{Fe}^{3+}$ ) в токоферилхинон красного цвета (см. уравнение):



$\alpha$ -токоферол, R-остаток изогенсадекана

*Ход работы.* В сухую пробирку берут 4–5 капель 0,1 %-ного спиртового раствора  $\alpha$ -токоферола, прибавляют 0,5 мл 1 %-ного раствора хлорида железа, тщательно перемешивают. Содержимое пробирки приобретает красное окрашивание.

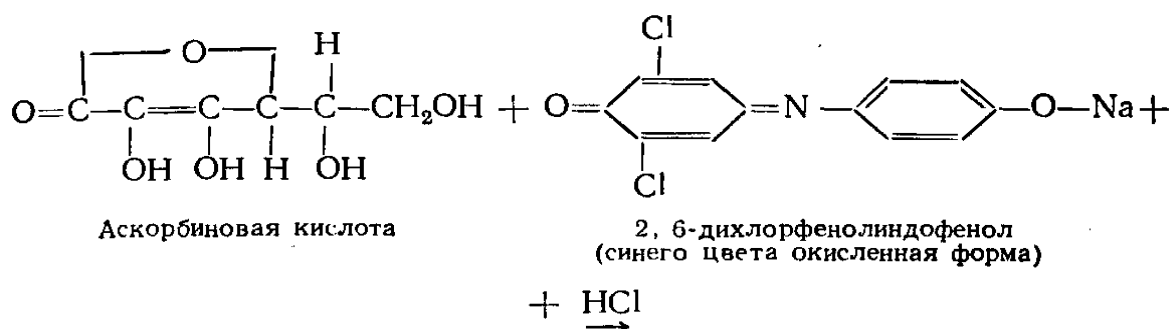
*Выводы по результатам работы*

### Лабораторная работа № 5. Количественное определение витамина С.

Биологическая роль аскорбиновой кислоты в организме исключительно важна и многообразна. Она участвует в окислительно-восстановительных процессах и связана с системой глутатиона.

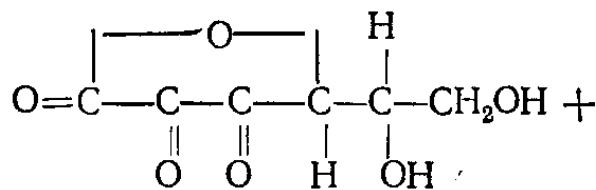
Аскорбиновая кислота участвует в синтезе стероидных гормонов в коре надпочечников и катехоламинов в мозговом слое надпочечников и необходима для процесса гидроксирования как кофактор ферментов гидроксилаз, например дофамингидроксилазы и др. Она участвует в образовании тетрагидрофолиевой кислоты из фолиевой кислоты, процессинге коллагена (гидроксировании лизина в оксипролин, пролина в оксипролин), ускоряет всасывание железа, а также активирует фермент желудочного сока пепсиноген, что особенно важно при недостатке соляной кислоты в желудочном соке.

*Принцип метода.* Метод основан на способности витамина С восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол (2,6 ДХФИФ — краска Тильманса), который в кислой среде имеет красную окраску, при восстановлении — обесцвечивается, а в щелочной среде окраска синяя. Для предохранения витамина С от разрушения исследуемый раствор титруют в кислой среде щелочным раствором 2,6 ДХФИФ до появления розового окрашивания (см. уравнение):

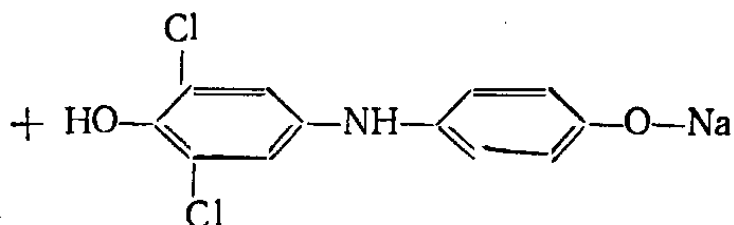


Аскорбиновая кислота

2, 6-дихлорфенолиндофенол (синего цвета окисленная форма)



Дегидроаскорбиновая кислота



Восстановленная бесцветная лейкоформа 2,6-дихлорфенолиндофенола (гидрохиноидная структура)

Для расчета содержания аскорбиновой кислоты в продуктах (капуста, картофель, хвоя, шиповник и др.), используют формулу 15:

$$X = \frac{0,088AG \times 100}{BV}, \quad (15)$$

где  $X$  — содержание аскорбата в 100 г продукта, мг;

0,088 — коэффициент пересчета;

$A$  — результат титрования 0,001 н раствором 2,6 ДХФИФ, мл;

$B$  — объем экстракта, взятый для титрования, мл;

$V$  — количество продукта, взятое для анализа, мг;

$G$  — общее количество экстракта, мл;

100 — пересчет на 100 г продукта.

*Ход работы.*

### 1. Определение содержания витамина С в капусте

Навеску капусты — 1 г тщательно растирают в ступке с 2 мл 10 %-ного раствора соляной кислоты, объем доводят до 10 мл и фильтруют. Отмеривают для титрования 2 мл фильтрата, добавляют 10 капель 10 %-ного раствора соляной кислоты и титруют 2,6 ДХФИФ до розовой окраски, сохраняющейся в течение 30 с.

По формуле, указанной выше, рассчитывают содержание аскорбиновой кислоты в 100 г продукта (в мг). По норме их должно быть (в мг): капуста — 25–60; хвоя — 200–400; шиповник — 500–1500.

### 2. Определение содержания витамина С в картофеле

Взвешивают 5 г картофеля, тщательно растирают в ступке с 20 каплями 10 %-ного раствора соляной кислоты (для того, чтобы картофель не темнел).

Постепенно приливают дистиллированную воду — 15 мл. Полученную массу сливают в стаканчик, ополаскивают ступку водой, сливают ее по стеклянной палочке в стаканчик и титруют 0,001н раствором 2,6 ДХФИФ до розового окрашивания. В 100 г картофеля содержится 1–5 мг витамина С.

### *3. Определение содержания витамина С в моче*

Определение содержания витамина С в моче дает представление о запасах этого витамина в организме, так как наблюдается соответствие между концентрацией витамина С в крови и количеством этого витамина, выделяемым с мочой. Однако при гиповитаминозе С содержание аскорбиновой кислоты в моче не всегда понижено. Часто оно бывает нормальным, несмотря на большой недостаток этого витамина в тканях и органах.

У здоровых людей введение *per os* 100 мг витамина С быстро приводит к повышению его концентрации в крови и моче. При гиповитаминозе С ткани, испытывающие недостаток в витамине, задерживают принятый витамин С, и его концентрация в моче не повышается. С мочой у здорового человека экскретируется 20–30 мг/сут или 113–170 мкмоль/сут витамина С. У детей уровень экскреции этого витамина понижается при многих острых и хронических инфекционных и соматических заболеваниях.

*Ход работы.* В стаканчик или колбочку отмеривают 10 мл мочи и 10 мл дистиллированной воды, перемешивают, подкисляют 20 каплями 10 %-ного раствора соляной кислоты и титруют 0,001н раствором 2,6 ДХФИФ до розового окрашивания.

*Расчет* содержания аскорбиновой кислоты в моче проводят по формуле 16:

$$X = \frac{0,088 \times A \times B}{B}, \quad (16)$$

где  $X$  — содержание аскорбиновой кислоты в суточной моче, мг/сут;

0,088 — коэффициент пересчета;

$A$  — результат титрования 0,001н раствором 2,6-ДХФИФ, мл;

$B$  — объем мочи, взятый для титрования, мл;

$B$  — среднее суточное количество мочи (для мужчин — 1500 мл, для женщин — 1200 мл).

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 87–130.



2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 124–139.

3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 147–177.

4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 69–70, 181–186.

5. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 204–242.

#### *Дополнительная*

6. Морозкина, Т. С. Витамины: краткое руководство для врачей и студентов мед., фармацевт. и биол. специальностей / Т. С. Морозкина, А. Г. Мойсеенок. — Минск: Асар, 2002. — 112 с.

## **ЗАНЯТИЕ 25.**

### **ГОРМОНЫ-1. ОБЩАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ**

**Цель занятия:** изучить химическое строение, классификации, механизмы действия гормонов, принципы и уровни организации нейроэндокринной системы. Изучить механизмы регуляции Са-Р обмена.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и свойства основных классов гормонов (стероидные, пептидные, катехоламины).
2. Строение аденилатциклазного комплекса.
3. Механизмы регуляции активности ферментов через системы вторичных посредников (мессенджеров).
4. Структуру хроматина и регуляцию биосинтеза белка.
5. Механизмы интеграции обмена углеводов, липидов и белков.
6. Основные онтогенетические изменения морфологических признаков, функций и метаболизма.

Студент должен уметь:

1. Проводить титрометрический анализ.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Гормоны. Характеристика. Свойства. Паракринное и аутокринное действие гормонов. Номенклатура, классификация гормонов по химическому строению, месту образования, механизму действия и др.

## 1.2. Принципы организации нейро-эндокринной системы.

### 1.2.1. Иерархический — уровни организации нейро-эндокринной системы:

— уровень внутриклеточных гормонов: строение, метаболизм и биологическая роль цАМФ и цГМФ (строение аденилатциклазного комплекса). Основные ферменты, стадии метаболизма и метаболиты арахидоновой кислоты ( $C_{20:4}$ ) (простагландины (PG), тромбоксаны (Tx), лейкотриены (LT)) и инозитолфосфатидов — в норме и при патологии;

— уровень гормонов эндокринных желез;

— уровень тропных гормонов гипофиза;

— уровень гипоталамических нейрогормонов.

1.2.2. Наличие прямой и обратной связи положительной и отрицательной связи (+, – взаимодействия).

1.2.3. Наличие центрального и периферического эффекта гормонов.

1.2.4. Наличие порога чувствительности гипоталамуса.

1.3. Факторы, определяющие интенсивность гормонального эффекта. Общая схема синтеза гормонов. Процессинг гормонов. Понятие о прогормонах и антигормонах. Секреция гормонов. Циркуляторный транспорт гормонов в крови. Метаболизм гормонов в периферических тканях (катехоламинов, пептидных, стероидных и тиреоидных), характеристика ферментов. Пути экскреции гормонов.

1.4. Тканевой спектр действия гормонов. Характеристика гормональных рецепторов, их локализация. Механизм действия гормонов — катехоламинов, пептидных, стероидных и тиреоидных. Роль «внутриклеточных» гормонов и  $Ca^{2+}$  в реализации гормональных эффектов.

1.5. Протеинкиназы, их характеристика и роль в реализации гормональных эффектов. Взаимоотношения  $Ca^{2+}$  и аденилатциклазного комплекса.

1.6. Феномен десенситизации, его механизм и биологическое значение. Пермиссивные и сенсibiliзирующие эффекты гормонов.

1.7. Гормональная регуляция Ca-P обмена. Паратгормон и кальцитонин. Понятие об экзогенных гормонах — витамин  $D_3$ , его тканевой метаболизм и метаболиты. Рахит, характеристика биохимических нарушений.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### Задачи

1. Ключевой фермент синтеза LT:

*Варианты ответа:*

а) липоксигеназа;

г) циклооксигеназа;

б) фосфодиэстераза;

д) пероксидаза;

в) каталаза;

е) фосфатаза.

2. Ключевой фермент синтеза простагландинов и тромбоксанов:

*Варианты ответа:*

- |                     |                    |
|---------------------|--------------------|
| а) аденилатциклаза; | г) фосфатаза;      |
| б) пероксидаза;     | д) декарбоксилаза; |
| в) циклооксигеназа; | е) каталаза.       |

3. Гормон, проникающий в клетку-мишень:

*Варианты ответа:*

- |                 |               |
|-----------------|---------------|
| а) альдостерон; | г) адреналин; |
| б) глюкагон;    | д) инсулин.   |
| в) АКТГ;        |               |

4. Фосфолипаза С:

*Варианты ответа:*

- а) мембранный фосфолипид;
- б) непосредственно активирует протеинкиназу С;
- в) гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат;
- г) дефосфорилирует инозитол-1,4,5-трифосфат;
- д) фосфорилирует липиды?

5. Гормон, активирующий аденилатциклазу:

*Варианты ответа:*

- |                 |                     |
|-----------------|---------------------|
| а) тестостерон; | г) кортизол;        |
| б) адреналин;   | д) инсулин;         |
| в) эстрадиол;   | е) циклооксигеназа. |

6. Синтез 1,25-дигидроксиолекальциферола происходит:

*Варианты ответа:*

- а) в коже под действием ультрафиолетового света из 7-альфа-дегидрохолестерола;
- б) в почках из 25-гидроксиолекальциферола;
- в) в печени из олекальциферола;
- г) в кишечнике из олекальциферола;
- д) не синтезируется в организме человека.

7. Железа, находящаяся под непосредственным контролем коры головного мозга:

*Варианты ответа:*

- а) гипоталамус;
- б) гипофиз;
- в) щитовидная железа;
- г) корковое вещество надпочечников;
- д) инсулоциты поджелудочной железы;
- е) предстательная железа.

8. Увеличивает высвобождение  $Ca^{2+}$  из ЭПР:

*Варианты ответа:*

- а)  $IP_3$ ;

- б) ДАГ;
- в) паратгормон;
- г) 1,25-дигидроксихолекальциферол (1,25(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>);
- д) кальмодулин.

9. Высвобождение этих гормонов тормозится тироксином:

*Варианты ответа:*

- а) ЛГ;
- б) пролактин;
- в) СТГ;
- г) ФСГ;
- д) ТТГ;
- е) тиреолиберин.

10. Действуют через вторичного посредника:

*Варианты ответа:*

- а) адреналин;
- б) альдостерон;
- в) кортизол;
- г) тестостерон;
- д) глюкагон;
- е) АКТГ.

## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Определение концентрации кальция в сыворотке крови унифицированным колориметрическим методом.

*Принцип метода.* Кальций в щелочной среде образует окрашенный комплекс с о-крезолфталеин комплексом. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации кальция в пробе.

*Ход работы.* Осуществляется в соответствии с таблицей 19.

Таблица 19 — Приготовление проб

Реактивы	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл
Сыворотка крови	0,05	—
Реагент № 1	1,0	1,0
Реагент № 2	1,0	1,0
Калибратор	—	0,05

Реакционную смесь тщательно перемешивают и инкубируют 5 минут при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность опытной и калибровочной проб на ФЭКе против дистиллированной воды в кюветах с длиной оптического пути 5 мм при длине волны 540–590 нм.

*Расчет* концентрации кальция (С) в сыворотке крови проводят по формуле 17:

$$C = E_{\text{оп}} / E_{\text{кал}} \times 2,5 \text{ [ммоль/л]} \quad \text{или} \quad (17)$$

$$C = E_{\text{оп}} / E_{\text{кал}} \times 10 \text{ [мг/100мл]},$$

где  $E_{\text{оп}}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{кал}}$  — экстинкция калибровочной пробы.

*Примечание:* окраска стабильна не менее часа. Если концентрация кальция превышает 3,75 ммоль/л (15 мг/100 мл) разведите образец в 2 раза дистиллированной водой, повторите анализ и умножьте результат на 2.

*Норма:* 2,02–2,60 ммоль/л (8,10–10,4 мг/100 мл).

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Лабораторная работа № 2. Определение кальция в моче по методу Сулковича.**

При гиперпаратиреозе, передозировке витамина D, опухолях костей и некоторых других заболеваниях наблюдается гиперкальциемия, которая исключительно опасна для здоровья. В связи с этим необходим длительный контроль за содержанием кальция в сыворотке крови. Определение уровня кальция в моче может быть использовано для ориентировочной оценки его содержание в сыворотке крови.

*Принцип метода.* В кислой среде в присутствии реактива Сулковича (состав: щавелевая кислота 2,5 мг, оксалат аммония 2,5 г, ледяная уксусная кислота 5 мл, дистиллированная вода до 150 мл) кальций выпадает в осадок в виде оксалата кальция.

*Ход работы.* В пробирку с 1 мл мочи прибавляют 0,5 мл реактива Сулковича. Отмечают прозрачность раствора.

*Оценка.* Отсутствие помутнения означает, что содержание кальция в моче ниже нормы. При этом в крови отмечается гипокальциемия (содержание в сыворотке менее 1,8–2 ммоль/л).

Легкое помутнение указывает на нормальный уровень кальция 2,25–2,6 ммоль/л. Резкое (молочного вида) помутнение характерно для гиперкальциемии при условии, что последующая проба с кипячением не обусловлена присутствием уратов или белка.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Лабораторная работа № 3. Качественные реакции, подтверждающие белковую природу инсулина.**

*Принцип метода (см. раздел «Химия белка»)*

*Ход работы*

1. Биуретовая реакция. В пробирку с 1 мл раствора инсулина добавляют 5–6 капель раствора гидроксида натрия и 1–2 капли раствора сульфата меди (II). После перемешивания жидкость окрашивается в розово-фиолетовый цвет.

2. Реакция Милона. К 5–10 каплям раствора инсулина добавляют 2–3 капли реактива Милона и осторожно нагревают. Образуется осадок в виде сгустка красного цвета.

3. Реакция Фоля. К 5–10 каплям раствора инсулина (использовать неразбавленный препарат) добавляют 2–3 мл раствора гидроксида натрия и кипятят 10 мин на маленьком пламени горелки. После охлаждения добавляют 1–2 капли раствора  $Pb(O\text{Na})_2$ . Появляется бурое окрашивание.

*Примечание.* Раствор  $Pb(O\text{Na})_2$  приготовить в отдельной пробирке. Для этого к одной капле раствора ацетата свинца добавляют по каплям раствор 10 %-ного гидроксида натрия до растворения образовавшегося осадка гидроксида свинца. При стоянии или нагревании бурое окрашивание может усилиться до черного и может выпасть черный осадок.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 427–468.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 545–568.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 441–459.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 380–386.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 2. — С. 147–185, 193–204.
6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 248–297.

#### *Дополнительная*

7. Дильман, В. М. Эндокринологическая онкология / В. М. Дильман. — М.: Медицина, 1974, 1983.
8. Розен, В. Б. Основы эндокринологии / В. Б. Розен. — М.: Высшая школа, 1984.
9. Основы биохимии: в 3 т. / А. Уайт [и др.]. — М.: Мир, 1981. — Т. 3. — С. 1499–1513, 1529–1542, 1563–1574.
10. Теппермен, Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж. Теппермен, Х. Теппермен. — М.: Мир, 1989.

## **ЗАНЯТИЕ 26.**

### **ГОРМОНЫ-2. ЧАСТНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ.**

### **ГОРМОНЫ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ**

**Цель занятия:** изучить механизмы действия гормонов, участвующих в регуляции метаболизма.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и свойства основных классов гормонов (стероидные, пептидные, катехоламины).
2. Строение аденилатциклазного комплекса.
3. Механизмы регуляции активности ферментов через системы вторичных посредников (мессенджеров).
4. Структуру хроматина и регуляцию биосинтеза белка.
5. Механизмы интеграции обмена углеводов, липидов и белков.
6. Основные онтогенетические изменения морфологических признаков, функций и метаболизма.

Студент должен уметь:

1. Проводить качественный анализ на биологически активные вещества.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. ТТГ. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия.

1.1.1. Щитовидная железа.  $T_3$ ,  $T_4$  — химическая природа, биосинтез, регуляция секреции, механизм действия, роль в обмене, метаболизм в тканях, основные клинические проявления гипо- и гиперфункции  $T_3$  и  $T_4$ . Механизм возникновения эндемического зоба.

1.2. СТГ. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия, механизм анаболических и контринсулярных эффектов. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

1.3. Поджелудочная железа. Инсулин, глюкагон, соматостатин. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия, роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперинсулинизма.

1.3.1. Диабет I типа (инсулиндефицитный) и диабет II типа (инсулинрезистентный). Причины возникновения, сравнительная характеристика (сходство и отличия).

1.4. АКТГ. Химическая природа, механизм действия, основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

1.4.1. Глюкокортикоиды. Строение, регуляция синтеза и секреции, метаболизм в тканях. Механизм действия, роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперкортицизма.

1.4.2. Минералокортикоиды, химическая природа, регуляция секреции, метаболизм в тканях, механизм действия, роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

1.4.3. Мозговое вещество надпочечников. Катехоламины. Химическая природа, биосинтез, регуляция секреции, метаболизм в тканях, механизм действия, роль в обмене.

1.5. Гонадотропины, ФСГ, ЛГ. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия.

1.5.1. Половые гормоны. Андрогены. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия, роль в обмене, метаболизм в тканях. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

1.5.2. Эстрогены. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия, роль в обмене, метаболизм в тканях. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

1.5.3. Гестагены. Прогестерон, химическая природа, регуляция секреции, механизм действия, роль в обмене, метаболизм в тканях. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

1.6. Гормоны ЖКТ. Химическая природа. Биологическая роль и клиническое применение.

1.7. Гормоны тимуса. Химическая природа. Биологическая роль и клиническое применение.

1.8. Эндорфины, энкефалины — структура, биологическая роль.

1.9. Адаптивная роль гормонов. Стресс, основные проявления. Стадии стресса и их клиническое значение. Понятие о дистрессе и эустрессе. Гормональная регуляция энергетического обмена при стрессе.

## **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### **Задачи**

1. Тиреоидные гормоны:

*Варианты ответа:*

- а) понижают уровень глюкозы в крови;
- б) являются гормонами роста и дифференцировки;
- в) уменьшают тканевое потребление кислорода;
- г) являются гормонами, непроникающими в клетку;
- д) способствуют липогенезу.

2. Орган-мишень для глюкагона:

*Варианты ответа:*

- а) печень;
- б) почки;
- в) скелетная мышечная ткань;
- г) лимфоидная ткань;
- д) нервная ткань;
- е) семенники.



3. Интегральный показатель секреции стероидных гормонов:

*Варианты ответа:*

- а) 11-кетостероиды в моче;                      в) 17-кетостероиды в сыворотке крови;  
б) 17-кетостероиды в моче;                      г) 17-кетостероиды в слюне.

4. Причина сахарного диабета — нарушение выработки:

*Варианты ответа:*

- а) глюкокортикоидов;    г) соматотропина;  
б) инсулина;    д) адреналина;  
в) тиреоидных гормонов;    е) вазопрессина.

5. Причина несахарного диабета — нарушение выработки:

*Варианты ответа:*

- а) глюкокортикоидов;    г) адреналина;  
б) тиреоидных гормонов;    д) инсулина;  
в) соматотропина;    е) вазопрессина.

6. Причина феохромоцитомы — нарушение выработки:

*Варианты ответа:*

- а) глюкокортикоидов;    г) адреналина;  
б) тиреоидных гормонов;    д) инсулина;  
в) соматотропина;    е) вазопрессина.

7. Причина синдрома Иценко–Кушинга — нарушение выработки:

*Варианты ответа:*

- а) тиреоидных гормонов;    г) адреналина;  
б) соматотропина;    д) инсулина;  
в) глюкокортикоидов;    е) вазопрессина.

8. Свойства адреналина:

*Варианты ответа:*

- а) синтезируется из тирозина;  
б) действует только через фосфоинозитольный механизм;  
в) вызывает снижение уровня цАМФ в гепатоцитах;  
г) действует подобно стероидному гормону;  
д) активизирует липолиз.

9. Ключевое соединение для синтеза и тестостерона, и кортизола из ХС:

*Варианты ответа:*

- а) 7-гидроксихолестерол;  
б) альдостерон;  
в) прегненолон;  
г) ретиноевая кислота.

10. Стимулирует продукцию ИФР:

*Варианты ответа:*

- а) ЛГ;    б) пролактин;    в) ТТГ;    г) СТГ;    д) ФСГ;    е) адреналин.

## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Обнаружение йода в препарате щитовидной железы.

*Принцип метода.* При щелочном гидролизе тироксина образуется йодид калия, из которого иод вытесняется иодатом калия. Выделившийся свободный йод дает с крахмалом синее окрашивание.

*Приготовление реагентов.* В лаборатории кафедры (!) проводят гидролиз аптечного тиреоидина по следующей методике. В фарфоровой ступке растирают 10 таблеток тиреоидина. Полученный порошок пересыпают в колбу для гидролиза и заливают 25 мл 10 %-ного раствора  $\text{NaHCO}_3$ . Перемешивают, закрывают пробкой с обратным холодильником и ставят на песчаную баню. Содержимое пробирок кипятят 10–15 мин и охлаждают.

*Ход работы.* К 1 мл гидролизата, полученного в лаборатории, помещают в пробирку и нейтрализуют 10 %-ным раствором серной кислоты, добавляя ее по каплям до слабокислой реакции на лакмус. Затем добавляют 2 капли раствора крахмала и 2–3 капли раствора  $\text{KIO}_3$ . Выделившийся йод окрашивает жидкость в синий цвет.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### Лабораторная работа № 2. Качественная реакция на адреналин.

*Принцип метода.* Адреналин и норадреналин образуются из аминокислоты тирозина и являются производными пирокатехина. Присутствие в их структуре пирокатехинового кольца определяет химические свойства этих гормонов. Они легко окисляются в нейтральных растворах с образованием красного пигмента — адrenoхрома, который при последующей полимеризации образует меланины.

*Ход работы.*

*Реакция с хлоридом железа (III)*

В пробирку вносят 3 капли раствора адреналина и 1 каплю 1 %-ного раствора хлорида железа (III). Проявляется изумрудно-зеленое окрашивание, которое затем при добавлении 1 капли раствора гидроксида натрия приобретает вишнево-красный цвет. Реакция обусловлена тем, что пирокатехиновое ядро образует с ионами железа (III) соединения типа фенолятов.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### Лабораторная работа № 3. Обнаружение 17-кетостероидов в моче.

*Принцип метода.* Метод основан на взаимодействии 17-кетостероидов с м-динитробензолом в щелочной среде с образованием продуктов конденсации розово-фиолетового цвета.

*Ход работы.* В пробирку вносят 20 капель мочи и 30 капель раствора м-динитробензола, который добавляют медленно, так, чтобы он стекал по стенке пробирки. Пробирку не встряхивать. Затем по стенке пробирки добавляют 6 капель раствора гидроксида натрия.

Верхний слой жидкости окрашивается в розово-фиолетовый цвет.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 468–514.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 568–615.
3. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. — 4-е изд. — М.: Агар, 1999. — С. 459–467.
4. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 387–395, 399–430.
5. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 2. — С. 186–192, 205–273.
6. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 248–297.

#### *Дополнительная*

7. Эндокринология и метаболизм / под. ред. П. Фелига [и др.]. — М.: Медицина, 1985.
8. Дильман, В. М. Эндокринологическая онкология / В. М. Дильман. — М.: Медицина, 1974, 1983.
9. Розен, В. Б. Основы эндокринологии / В. Б. Розен. — М.: Высшая школа, 1984.
10. Основы биохимии: в 3 т. / А. Уайт [и др.]. — М.: Мир, 1981. — Т. 3. — С. 1542–1702.
10. Теппермен, Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж. Теппермен, Х. Теппермен. — М.: Мир, 1989.

**ЗАНЯТИЕ 27.**  
**КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ ПО РАЗДЕЛАМ**  
**«БИОХИМИЯ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ»**  
**И «БИОХИМИЯ ВИТАМИНОВ И ГОРМОНОВ»**

**Цель занятия:** контроль усвоения тем разделов.

***Контрольные вопросы***

1. Биологическая ценность белка. Нормы и роль белка в питании. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Биосинтез заменимых аминокислот из глюкозы. Полноценность белка, азотистый баланс.

2. Состав и свойства желудочного сока. Значение компонентов желудочного сока в переваривании белков (НСI, пепсин, слизь). Механизм секреции НСI. Анализ состава желудочного сока в норме и при патологии.

3. Кишечный и панкреатический соки. Ферменты соков и значение в переваривании пищи. Значение определения в клинической практике.

4. Механизм переваривания белков и всасывания аминокислот в ЖКТ. Роль градиента рН различных отделов ЖКТ в переваривании белков. Гниение белков в толстом кишечнике. Обезвреживание продуктов гниения белков в печени.

5. Аминокислотный пул клетки. Пути поступления и утилизации аминокислот в организме.

6. Прямое и не прямое окислительное дезаминирование аминокислот. Переаминирование. Ферменты. Биологическая роль.

7. Ферменты. Коферменты. Значение этого процесса для клеток. Диагностическое определение активности АЛТ, АСТ и амилазы.

8. Аммиак, его токсичность. Пути детоксикации аммиака (восстановительное аминирование, образование глн, асн), аммиогенез. ЦСМ. Локализация процесса. Реакции, ферменты, значение. Связь ЦСМ с ЦТК и обменом аминокислот. Энергетическая емкость ЦСМ. Энзимопатии ЦСМ, их клинические проявления.

9. Декарбоксилирование аминокислот. Ферменты. Коферменты. Биогенные амины, их роль. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Пути вступления аминокислот в ЦТК.

10. Обмен сер и гли. Роль ТГФК в обмене. Биосинтез холина, этаноламина, пуриновых оснований, гема, креатина, ПВК, GSH, коллагена, гиппуровой кислоты, желчных кислот. Нарушения обмена гли.

11. Глу и асп. Дезаминирование. Трансаминирование. Декарбоксилирование Биологическое значение. Роль в обмене. Их адаптивная, антитоксическая, антигипоксическая и антиоксидантная роль.

12. Гидроксилирование. Про, лиз, фен (роль аскорбата, NADPH, цитохрома P<sub>450</sub>)
13. Обмен про. Биосинтез, распад. Нарушение обмена про (клинические проявления).
14. Обмен цис, его биологические функции, антитоксическая, антиоксидантная, и радиопротекторная роль. Нарушения обмена, основные клинические проявления.
15. Обмен мет. S-аденозилметеонин, его роль в синтезе холина, адреналина, карнитина, креатина, в реакциях детоксикации и др.
16. Обмен фен и тир. Биосинтез катехоламинов, тиреоидных гормонов. Нарушения обмена фен и тир (фенилкетонурия, алкаптонурия, альбинизм).
17. Обмен гис. Образование гистамина, дипептидов (ансерина, карнозина). Их протекторная роль.
18. Пути обмена трп. Клинические проявления в нарушении обмена трп.
19. Пути обмена арг. Адаптивная роль системы арг-аргиназа-мочевина.
20. Обмен аминокислоты с разветвленным радикалом в норме и при патологии.
21. Применение аминокислот в медицине.
22. Интеграция углеводного, липидного и белкового обменов. Общие метаболиты.
23. Сложные белки. Строение, классификация. Биологическая роль. Строение нуклеопротеидов, особенности строения рибосом и хромосом.
24. Обмен нуклеопротеидов. Переваривание и всасывание нуклеотидов, нуклеозидов, свободных пуриновых и пиримидиновых оснований.
25. Биосинтез и распад пиримидиновых нуклеотидов. Оrotовая кислота. Роль ТГФК в синтезе пиримидиновых нуклеотидов.
26. Биосинтез и распад пуриновых нуклеотидов. Исходные субстраты синтеза. Регуляция синтеза. Роль продуктов распада пуринов в инициации перекисных процессов. Нарушения обмена пуринов. Образование мочевой кислоты. Значение определения мочевой кислоты в крови, в моче для клинической практики.
27. Строение НК: ДНК и РНК. Уровни структурной организации. Формы и типы ДНК.
28. Особенности строения тРНК. Участие ее в процессе активирования аминокислот.
29. Матричный механизм синтеза ДНК (репликация и репарация). Ферменты, субстраты. Роль ДНК в синтезе различных РНК. Гены гемоглобина, гены рРНК, гены гистоновых белков. Индукционный и репрессивный опероны.
30. Белок р53 как фактор транскрипции, его строение, свойства.
31. Процессинг и сплайсинг РНК.

32. Строение митохондриальной ДНК. Особенности митохондриального генома.

33. Общая схема биосинтеза белка. Информационный поток биосинтеза белка (репликация, транскрипция РНК, процессинг, сплайсинг). Роль ревертазы в биосинтезе вирусных белков. Характеристика генетического кода.

34. Пластический поток. Механизмы активации аминокислот. Характеристика ферментов. Энергетический поток. Роль АТФ и ГТФ.

35. Механизмы трансляции, рекогниции, инициации, элонгации, терминации. Рибосома как молекулярная машина для сканирования генетической информации.

36. Процессинг пробелков. Виды. Механизм: химическая модификация, ограниченный протеолиз, самосборка молекул.

37. Регуляция биосинтеза. Особенности регуляции биосинтеза у эукариот — избирательная транскрипция, альтернативный сплайсинг и РНК. Химическая модификация гистоновых и негистоновых белков.

38. Полиморфизм белков на примере Ig, их структура. Регуляция экспрессии генов Ig.

39. Патология белкового обмена: белковое голодание, квашиоркор, биосинтез дефектных белков, первичные и вторичные протеинопатии, поврежденные белки.

40. Биохимические основы и биологическая роль апоптоза.

41. Гормоны. Определение. Свойства. Номенклатура, классификация.

42. Принципы организации и функционирования нейро-эндокринной системы.

43. Факторы, определяющие гормональный эффект. Общая схема синтеза гормонов. Понятие о про- и антигормонах. Механизм действия гормонов (катехоламинов, пептидных, стероидных, тиреоидных). Характеристика рецепторов, их клеточная локализация.

44. Феномен десенситизации, его механизмы и биологическое значение. Пермиссивный, сенсibiliзирующий эффекты гормонов.

45. Гистогормоны — цитокины и ФР. Классификация, функциональная роль. Представители ИЛ и ФР. Роль ионов  $Ca^{2+}$  в регуляции гормональных эффектов.

46. Витамин D и его метаболиты. Регуляция Ca-P обмена. Паратгормон и кальцитонин. Нарушение Ca-P обмена. Рахит.

47. ТТГ, химическая природа, механизм действия. Щитовидная железа.  $T_3$  и  $T_4$ , химическая природа, биосинтез, метаболизм в тканях. Механизм действия, роль в обмене, основные клинические проявления гипо- и гиперфункции  $T_3$  и  $T_4$ .

48. СТГ. Химическая природа, механизм действия, основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

49. Поджелудочная железа. Проинсулин, инсулин, глюкагон, соматостатин: химическая природа, регуляция секреции, механизм действия. Роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции инсулина. Диабет I типа (инсулинодефицитный) и диабет II типа (инсулинорезистентный). Сходство и различия.

50. АКТГ. Химическая природа, механизм действия, основные клинические проявления гипо- и гиперфункции. Глюкокортикоиды. Строение, регуляция секреции, метаболизм в тканях, механизм действия, роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции. Минералокортикоиды. Химическая природа, регуляция секреции, метаболизм в тканях, механизм действия, роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции.

51. Мозговое вещество надпочечников. Катехоламины, химическая природа, регуляция секреции, метаболизм в тканях, механизм действия, роль в обмене.

52. Гонадотропины: ФСГ и ЛГ. Химическая природа, механизм действия.

53. Половые гормоны. Андрогены. Эстрогены. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия, роль в обмене. Основные клинические проявления гипо- и гиперфункции. Гестагены. Прогестерон. Химическая природа, регуляция секреции, механизм действия.

54. Гормоны тимуса. Химическая природа. Биологическая роль.

55. Эндорфины.

56. Адаптивная роль гормонов. Понятие о стрессе. Гормональная регуляция энергетического обмена при стрессе.

57. История учения о витаминах (работы Лунина Н. И., Сосина К. А., Эйкмана К., Функа К.). Причины развития гиповитаминозов.

58. Общая характеристика и классификация витаминов. Групповая характеристика витаминов. Каждый витамин (А, D, Е, К, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, В<sub>с</sub>, Н, С) рассматривается по схеме:

- Химическая природа и основные свойства (устойчивость к действию света, рН, высокой температуре).
- Роль витаминов в обмене веществ. Физиологические эффекты.
- Картина гипо-, авитаминоза и гипервитаминоза и их лабораторная диагностика.
- Содержание в продуктах питания, источники витаминов, профилактические и лечебные дозы.

## РАЗДЕЛ 7. БИОХИМИЯ ОРГАНОВ И СИСТЕМ

### ЗАНЯТИЕ 28.

#### КРОВЬ-1. ОСНОВЫ РЕГУЛЯЦИИ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО СОСТОЯНИЯ. БЕЛКИ КРОВИ

**Цель занятия:** изучить механизмы изменения физико-химических констант крови в норме и при патологии. Научиться определять содержание кальция в плазме крови и щелочной резерв крови.

##### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Состав крови.
2. Строение и функции форменных элементов.
3. Основные физико-химические константы крови.
4. Основные положения теории буферных растворов.
5. Принципы и механизм работы ионных АТФ-аз.

Студент должен уметь:

1. Проводить титрационный анализ.

##### **Структура занятия**

###### **1. Теоретическая часть**

1.1. Функции крови, основные физико-химические константы крови (рН, рСО<sub>2</sub>, рО<sub>2</sub>, плотность, осмолярность), их изменения при патологии. Плазма крови — качественный и количественный состав. Содержание ТАГ, общих липидов, глюкозы, белка, мочевины, натрия, калия, кальция, магния, хлора, НСО<sub>3</sub><sup>-</sup>.

1.2. Белки плазмы крови, их классификация, характеристика отдельных представителей и методы выделения: электрофорез, высаливание и др. Изменения белкового спектра при патологии.

1.3. Основные небелковые компоненты крови. Остаточный азот, его происхождение и диагностическое значение.

1.4. Понятие о КОС. Основные принципы регуляции КОС:

- осмолярность;
- электронейтральность;
- постоянство рН.

1.5. Механизмы регуляции КОС:

- физико-химические (разбавление, буферные системы);
- физиологические (роль почек, легких, печени, ЖКТ и др.).

1.6. Классификация нарушений КОС (ацидозы, алкалозы, их виды). Основные механизмы развития респираторных, метаболических и выделительных нарушений КОС. Физиологические механизмы коррекции нару-



шений КОС. Способы оценки нарушений КОС (показатели КОС и электролиты крови, рН мочи и др.).

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### Задачи

1. По какому признаку разделяют белки крови методом электрофореза?

*Варианты ответа:*

- а) по молекулярной массе;
- б) по растворимости в буферных растворах;
- в) по заряду.

2. Кровь выполняет функции:

*Варианты ответа:*

- а) транспортную, осморегулирующую;
- б) буферную, обезвреживающую;
- в) синтетическую, экскреторную;
- г) защитную, иммунологическую;
- д) регуляторную, гомеостатическую.

3. В состав  $\alpha_2$ -глобулинов входят:

*Варианты ответа:*

- а) церулоплазмин;
- б) гаптоглобин;
- в) трансферрин;
- г) гемопексин;
- д) макроглобулин.

4.  $\beta$ -глобулины содержат:

*Варианты ответа:*

- а) трансферрин;
- б) гемопексин;
- в) гаптоглобин;
- г) тироксинсвязывающий белок;
- д) С-реактивный белок.

5. Обезвреживающие функции крови осуществляются в результате:

*Варианты ответа:*

- а) действия фосфатного и белкового буферов крови;
- б) разведения токсичных веществ;
- в) действия ферментов и плазмы и клеток крови;
- г) связывания токсических веществ альбуминами.

6. Поддержание осмотического давления внутри сосуда обеспечивается:

*Варианты ответа:*

- а) альбуминами;
- б) катионами кальция;
- в) катионами натрия;
- г) действием цАМФ;
- д) содержанием глюкозы.

7. Функции альбумина:

*Варианты ответа:*

- а) неспецифический транспорт ксенобиотиков;
- б) специфический транспорт стероидов;
- в) участие в иммунных реакциях;
- г) поддержание онкотического давления.

8. Белок, транспортирующий стероидные гормоны:

*Варианты ответа:*

- а) хондропротектор;
- б) С-реактивный белок;
- в) транскортин;
- г) трансферрин.

9. Относительная плотность (удельный вес) цельной крови:

*Варианты ответа:*

- а) 1,025–1,034;
- б) 1,050–1,060;
- в) 1,090–1,100.

10. Буферная система, на долю которой приходится  $2/3$  буферной емкости крови:

*Варианты ответа:*

- а) белковая;
- б) гемоглобиновая;
- в) карбонатная;
- г) фосфатная.

## **Лабораторные работы**

### **Лабораторная работа № 1. Определение кальция в сыворотке крови (метод Мойдина и Зака).**

*Принцип метода.* Метод основан на способности органических соединений-комплексонов взаимодействовать с ионами кальция. В качестве комплексонов используется трилон Б (ЭДТА, или динатриевая соль этилендиаминтетраацетата). Трилоном Б титруют ионы кальция, предварительно связанные с индикатором-мурексидом. Момент полного связывания кальция с трилоном Б определяется по изменению цвета мурексида (в комплексе с ионами кальция мурексид красно-оранжевого цвета, свободный от кальция мурексид окрашивается в сине-фиолетовый цвет). Комплекс кальция с трилоном Б более прочен, чем комплекс с мурексидом. Зная концентрацию и объем раствора трилона Б, пошедшего на титрование, находят содержание кальция.

Нормальное содержание кальция в сыворотке крови 2,25–2,64 ммоль/л (9–11 мг%). Состояние гипocalциемии наблюдается при авитаминозе D (рахите), у беременных, при недостаточной функции паращитовидной железы, заболеваниях почек, отравлениях фторидами. Гиперкальциемия встречается реже (гиперпаратиреоз, опухоли, деструктивные процессы в костной ткани, лейкозы).

### *Ход работы*

В 2 стаканчика (опытная и контрольная пробы) наливают по 5 мл раствора мурексида. В стаканчик для опытной пробы вносят 0,2 мл исследуемой сыворотки крови (раствор становится розовым). Титруют из пипетки или бюретки раствором трилона Б до исчезновения розовой окраски и восстановления фиолетового цвета (сравнивать с окраской контроля).

*Расчет.* Исходя из того, что 1 мл 0,1 моль/л раствор трилона Б эквивалентен 0,12 мг Са, рассчитывают содержание кальция в сыворотке крови в мг% (формула 17):

$$X = V \times 0,12 \times 100, \quad (17)$$

где  $V$  — объем трилона Б, пошедший на титрование опытной пробы, мл.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## **Лабораторная работа № 2. Титрометрический метод определения «щелочного» запаса крови.**

*Принцип метода.* Количество всех оснований цельной крови составляет ее щелочной запас. К цельной крови добавляют для нейтрализации всех оснований заведомо большее количество соляной кислоты. Избыток кислоты оттитровывают щелочью до значения рН ( $pH = 5,0$ ), равного изоэлектрической точке основных белков крови, которые выпадают в осадок, при этом появляется легкое белесоватое помутнение. Щелочной запас выражается в мэкв щелочи, соответствующих количеству связанной основаниями крови соляной кислоты, в перерасчете на 1 л крови.

*Ход работы.* В стаканчик вносят 10 мл 0,01н раствора соляной кислоты, добавляют 0,2 мл крови, тщательно перемешивают. Прозрачный бурый раствор титруют из пипетки 0,1н раствором NaOH до появления легкого белесоватого помутнения.

Расчет производят по формуле 18:

$$\begin{aligned} \text{мэкв/л NaOH} &= \frac{(1 - a) \times 0,1 \times 1000}{0,2} \\ &\text{или} \\ \text{мг\% NaOH} &= \frac{(1 - a) \times 4 \times 100}{0,2}, \end{aligned} \quad (18)$$

где 1 — 1 мл 0,1н раствора HCl, взятой для нейтрализации;

$A$  — количество щелочи, пошедшей на титрование, мл;

0,1 — количество мэкв в 1 мл щелочи;

0,2 — количество крови, мл;

1000 — коэффициент пересчета на 1 л крови;

4 — количество NaOH в 1 мл 0,1н раствора, мг.

В норме щелочной запас составляет 100–115 мэкв/л, или 400–460 мг% NaOH.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 549–563, 585–597.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 61–65, 656–657, 682–686, 754, 758.
3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 488–489, 502–504, 502–504.
4. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 257–259. — Т. 2. — С. 309–310, 319–325, 367–381.

#### *Дополнительная*

5. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 567–599.
6. Ткачук, В. А. Клиническая биохимия / В. А. Ткачук. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — С. 15–102.
7. Бышевский, А. Ш. Биохимия для врача / А. Ш. Бышевский, О. А. Терсенов. — Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. — С. 163–173, 201–302.

## **ЗАНЯТИЕ 29. КРОВЬ-2. ОБМЕН ГЕМОГЛОБИНА**

**Цель занятия:** изучить особенности метаболизма железа и основных форменных элементов крови, изучить биохимию Hb в норме и при патологии. Научиться определять в крови содержание Hb и билирубина.

### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и свойства олигомерных белков.
2. Кривые диссоциации оксимиоглобина и оксигемоглобина.
3. Гликолиз, пентозофосфатный цикл, ЦТК.
4. Перекисные процессы, АОЗ.
5. Система гемостаза.
6. Состав крови.
7. Строение и функции форменных элементов.
8. Основные физико-химические константы крови.
9. Метаболизм углеводов.

Студент должен уметь:

1. Работать на колориметре.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

1.1. Общая характеристика, особенности метаболизма эритроцитов (гликолиз, пентозофосфатный цикл, изоцитратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, трансаминазы и др.). Na/K АТФ-аза, минеральный состав эритроцитов. Глутатион. Строение, функции, ферменты обмена глутатиона. АОЗ. Характеристика белков и ФЛ мембран эритроцитов.

1.2. Hb, строение, свойства, производные, виды Hb. Изменение состава Hb в онтогенезе. Аномальные Hb. Сравнительная характеристика Hb и миоглобина.

1.3. Дыхательная функция крови, ее регуляция. Спектры крови Hb и его производных. Гипоксия, аноксия, виды. Нарушение обмена при гипоксии. Регуляция степени сродства Hb к кислороду. Роль 2,3-ДФГК.

1.4. Обмен хромопротеидов. Переваривание и всасывание. Обмен Hb. Биосинтез гема до порфибилиногена (локализация, ферменты). Распад Hb в клетках РЭС (образование неконъюгированного билирубина). Механизм конъюгации билирубина в печени. Превращение билирубина в кишечнике. Диагностическое значение определения билирубина и продуктов его обмена в крови и моче при различных видах желтух (гемолитической, паренхиматозной, обтурационной).

1.5. Метаболизм железа. Механизмы всасывания, транспорта и депонирования.

1.6. Особенности метаболизма лейкоцитов. Биохимические основы фагоцитоза.

1.7. Особенности метаболизма тромбоцитов.

1.8. Общая схема гемостаза.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

#### **Задачи**

1. Hb транспортирует по крови:

*Варианты ответа:*

а) азот; б) углекислый газ; в) кислород; г) аммиак.

2. Какие функции Hb нарушаются при серповидноклеточной анемии?

*Варианты ответа:*

а) растворимость;

б) кооперативность;

в) снижается сродство Hb к кислороду;



10. При этой желтухе выделение уробилиногена (стеркобилиногена) с мочой увеличивается:

*Варианты ответа:*

- а) паренхиматозная; г) синдром Ротора;  
б) механическая; д) гемолитическая.  
в) синдром Жильбера;

## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Определение концентрации гемоглобина в крови унифицированным колориметрическим методом.

*Принцип метода.* Hb под действием трансформирующего раствора превращается в окрашенный продукт — гемихром, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации Hb и измеряется фотометрически при длине волны 540 нм.

*Ход работы.* Составляют реакционную смесь по таблице 20:

Таблица 20 — Приготовление реакционной смеси

Реагенты	Опытная проба, мл.
Трансформирующий раствор	5,00
Кровь	0,02

Перемешать, выдержать 5 мин при комнатной температуре и измерить оптическую плотность опытной пробы (А) против дистиллированной воды в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 540 нм. Окраска стабильна до 5 ч.

*Расчет* содержания Hb (в г/л) производят по формуле 19:

$$Hb = (E_{оп} / E_{ст})C, \quad (19)$$

где  $E_{оп}$  — экстинкция опытной пробы;

$E_{ст}$  — экстинкция стандартного раствора;

C — концентрация гемиглобинцианида в стандартном растворе, равная 138,0 г/л.

*Норма:* содержание Hb в крови по норме: у женщин — 120–140 г/л; у мужчин — 130–160 г/л.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### Лабораторная работа № 2. Определение концентрации общего билирубина в сыворотке крови унифицированным методом Эндрассика–Грофа.

*Принцип метода.* Общий билирубин определяется на основе реакции диазотированной сульфаниловой кислотой, после диссоциации неконъю-

гированного (непрямого, свободного билирубина) при участии кофеинового реагента.

*Ход работы.* Составляют реакционную смесь по таблице 21:

Таблица 21 — Приготовление реакционной смеси

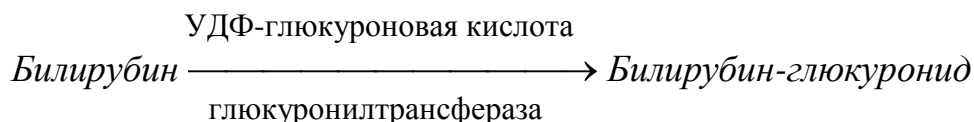
Реагенты	Опытная проба, мл.
Сыворотка крови	0,2
Кофеиновый реагент	1,4
Физ. раствор	0,2
Диазосмесь	0,2

Время инкубации после добавления диазосмеси составляет 20 мин при температуре 20 °С. Измеряют экстинкцию опытной пробы против дистиллированной воды в кюветах с длиной оптического пути 5 мм на ФЭКе при длине волны 535 нм.

*Расчет* производят по калибровочному графику.

*Норма:* 0,5–1,1 мг %; 8,5–20,5 мкмоль/л.

*Клинико-диагностическое значение.* Билирубин образуется в организме в результате естественного распада в клетках ретикулоэндотелиальной системы (печень, селезенка) Hb и других гемопротеидов (цитохромы, каталаза и др.). Билирубин относится к группе желчных пигментов, является токсическим веществом и обезвреживается в гепатоцитах. Транспортируется билирубин к месту обезвреживания в комплексе с белком. В печени происходит процесс обезвреживания по схеме (см. уравнение):



Образующиеся при этом глюкурониды билирубина хорошо растворимы в воде, секретируются в просвет желчного капилляра и выводятся из организма по желчевыводящим путям.

В сыворотке крови содержится две фракции билирубина, вместе составляющие «общий» билирубин:

— неконъюгированный (непрямой, токсичный, свободный, водонерастворимый, существует в виде комплекса с альбумином);

— конъюгированный (билирубин глюкуронид, прямой, нетоксичный, связанный, водорастворимый).

Содержание билирубина в крови в норме составляет 0,5–1,2 мг% (8,5–20,5 мкмоль/л в единицах СИ), причем 75 % приходится на долю неконъюгированного. Определение его уровня в крови является важным диагностическим тестом. Так, при различных поражениях печени и желтухах часто наблюдается гипербилирубинемия — увеличение концентрации билирубина до 30–35 мг% (512,5–600,0 мкмоль/л) и более.



Дифференциальная диагностика различных видов желтух осуществляется на основании исследования содержания фракций билирубина в крови, а также особенностей клинического течения заболевания и др.

*Выводы. Записать полученный результат и дать его клинко-диагностическую оценку.*

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 38–44, 301–306, 563–585.

2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 45–55, 636–655, 657–682.

3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 457–458, 489–502, 504–517.

4. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 1. — С. 52–62, 356–372. — Т. 2. — С. 325–331.

#### *Дополнительная*

5. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 78–85, 503–508, 585, 591–599.

6. Ткачук, В. А. Клиническая биохимия / В. А. Ткачук. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — С. 138–210.

7. Бышевский, А. Ш. Биохимия для врача / А. Ш. Бышевский, О. А. Терсенов. — Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. — С. 128–133, 244–246, 261–294.

## **ЗАНЯТИЕ 30.**

### **БИОХИМИЯ ПОЧЕК В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

**Цель занятия:** изучить особенности метаболизма почек и биохимическую основу их основных функций в норме и при патологии. Научиться определять основные физико-химические параметры мочи в норме и при патологии.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Строение и функции, особенности кровоснабжения почки.
2. Строение и функции, особенности кровоснабжения нефрона.
3. Механизм образования мочи.
4. Механизмы действия гормонов — альдостерона, вазопрессина, натрий-урического фактора.
5. Метаболизм и механизм действия витамина D.

6. Принципы и механизмы регуляции КОС.
7. Метаболизм углеводов, липидов и аминокислот.
8. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови, ГНГ.

Студент должен уметь:

1. Проводить титрометрический анализ.

### **Структура занятия**

#### **1. Теоретическая часть**

##### 1.1. Основные функции почек.

1.1.1. Экскреторная функция почек. Строение нефрона, особенности его кровоснабжения. Механизм образования мочи (фильтрация, реабсорбция, секреция). Механизм активного транспорта глюкозы, аминокислот. Нарушение процессов фильтрации, реабсорбции и секреции. Общие свойства мочи в норме и при патологии (суточное количество, цвет, прозрачность, плотность, рН и др.). Органические (мочевина, мочевая кислота, креатинин, креатин, пигменты, аминокислоты, пептиды, гормоны) и неорганические (натрий, калий, кальций, магний, аммиак, хлориды, фосфаты, сульфаты, бикарбонаты) компоненты мочи в норме и при патологии. Патологические компоненты мочи (кровь, белок, сахар, билирубин, аминокислоты).

1.1.2. Клиренс, его определение и диагностическое значение.

1.2. Гомеостатические (неэксреторные) функции почек. Роль почек в регуляции:

— ОЦК, внеклеточной жидкости, артериального давления. Ренин-ангиотензиновая система. Вазопрессин. Механизмы действия диуретиков;

— баланса электролитов. Роль альдостерона в регуляции работы Na/K-АТФазы. Механизмы транспорта  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Cl^-$ ,  $HCO_3^-$ . Почки и метаболизм витамина D;

— кислотно-основного состояния. Механизмы ацидогенеза, аммионогенеза;

— уровня глюкозы в крови. Особенности ГНГ в почках;

— эритропоэза.

1.3. Метаболическая гетерогенность почечной ткани. Особенности углеводного, липидного и белкового обменов в почке. Почка как орган катаболизма биологически активных веществ.

1.4. Нарушение обмена при острой и хронической почечной недостаточности.

1.5. Почечные камни, виды, причины и механизм образования.

#### **2. Практическая часть**

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

## Задачи

1. Содержание каких компонентов сыворотки крови характеризует нарушение выделительной функции почек?

*Варианты ответа:*

- |                     |                   |
|---------------------|-------------------|
| а) электролитов;    | е) кетоновых тел; |
| б) мочевины;        | ж) жирных кислот; |
| в) креатинина;      | з) альбумина;     |
| г) гамма-глобулина; | и) адреналина;    |
| д) глюкозы;         | к) индола.        |

2. При каких заболеваниях наблюдается внепочечная ретенционная азотемия?

*Варианты ответа:*

- |                           |                   |
|---------------------------|-------------------|
| а) гломерулонефрит;       | ж) атеросклероз;  |
| б) пиелонефрит;           | з) гепатит;       |
| в) нефротический синдром; | и) кариез;        |
| г) опухоли простаты;      | к) цирроз печени; |
| д) инфаркт миокарда;      | л) анемия.        |
| е) тиреотоксикоз;         |                   |

3. При каких заболеваниях наблюдается гиперурикемия?

*Варианты ответа:*

- |                                 |                      |
|---------------------------------|----------------------|
| а) острый гломерулонефрит;      | д) подагра;          |
| б) хронический гломерулонефрит; | е) рахит;            |
| в) лейкомия;                    | ж) инфаркт миокарда; |
| г) почечно-каменная болезнь;    | з) тяжелая гипоксия. |

4. В каких случаях наблюдается продукционная азотемия?

*Варианты ответа:*

- а) тяжелые инфекционные заболевания;
- б) гломерулонефрит;
- в) почечная недостаточность;
- г) нефролитиаз;
- д) инфаркт миокарда;
- е) тяжелая сочетанная травма.

5. При каких заболеваниях наблюдается абсолютная ретенционная внепочечная азотемия?

*Варианты ответа:*

- |                                    |                    |
|------------------------------------|--------------------|
| а) обструкция мочевыводящих путей; | д) перитонит;      |
| б) почечная недостаточность;       | е) пневмония;      |
| в) гломерулонефрит;                | ж) перелом костей. |
| г) острая желтая атрофия печени;   |                    |

6. Глюкозурия наблюдается при:

*Варианты ответа:*

- |                           |                              |
|---------------------------|------------------------------|
| а) СД;                    | д) синдроме Иценко–Кушинга;  |
| б) почечном диабете;      | е) почечной недостаточности; |
| в) стрессовых состояниях; | ж) гломерулонефрите.         |
| г) гиперинсулинизме;      |                              |

7. При каких заболеваниях (состояниях) отмечается относительная азотемия?

*Варианты ответа:*

- а) дегидратация;
- б) тяжелые инфекционные заболевания;
- в) камни мочевых путей;
- г) почечная недостаточность;
- д) хроническая сердечная недостаточность;
- е) глистная инвазия;
- ж) неукротимая рвота,
- з) обширные ожоги.

8. Какие изменения выявляются при краш-синдроме (длительном раздавливании тканей)?

*Варианты ответа:*

- а) снижение диуреза;
- б) азотемия;
- в) миоглобинурия;
- г) увеличение активности в сыворотке крови КФК;
- д) увеличение активности в сыворотке крови АСТ;
- е) увеличение активности в сыворотке крови ЛДГ;
- ж) снижение уровня мочевины.

### **Лабораторная работа. Анализ мочи с помощью тест-полосок корпорации Байер.**

Данные тест-полоски позволяют определить в одной пробе исследуемой мочи 10 показателей: рН мочи, содержание глюкозы, билирубина, уробилиногена, белка, кетоновых тел, нитритов, эритроцитов, лейкоцитов и удельный вес (плотность) мочи.

*Реактивы и оборудование:* химический стакан, моча, тест-полоска, индикаторная цветная шкала (стандарт), лист белой бумаги, часы с секундной стрелкой.

*Ход работы.* В сухой чистый химический стакан набирают свежую (находящуюся при комнатной температуре не более 1 ч после сбора пробы), хорошо перемешанную нецентрифугированную мочу. Затем быстро опускают в него тест-полоску таким образом, чтобы все реагентные зоны были

полностью погружены в мочу. Через 2 с тест-полоску вынимают, удаляя избыток мочи путем соприкосновения полоски с краем стакана и протягиванием ее в таком положении снизу вверх под углом приблизительно 45 °.

*Примечание.* Не прикасаться к аналитической зоне тест-полоски руками и не допускать попадания на нее прямых солнечных лучей, влаги и т. п.

Затем помещают тест-полоску на лист белой бумаги в горизонтальное положение и визуально сравнивают цвет реагентных зон на тест-полоске с цветной шкалой стандарта.

Качественный результат тестирования по всем параметрам тест-полоски, за исключением содержания лейкоцитов, можно получить через 1–2 мин. Для получения полуколичественного результата анализа следует точно соблюдать время по каждому параметру (таблица 22).

Таблица 22 — Временные границы полуколичественного анализа мочи с помощью тест-полосок

Показатель	Время определения, с
Содержание глюкозы	30
Содержание билирубина	30
Содержание кетоновых тел	40
Удельный вес (плотность)	45
рН	До 60
Содержание белка	”60
Содержание эритроцитов	60
Содержание уробилиногена	60
Содержание нитритов	60
Содержание лейкоцитов	120

*Примечание.* Возможное изменение окраски реагентных зон, происходящие после 2 мин от начала анализа, не имеет диагностического значения.

Можно провести исследование пригодных для тестирования полосок при помощи анализатора мочи «КЛИНИТЕК» (в случае наличия такового), строго соблюдая инструкцию по эксплуатации данного прибора (количественный анализ).

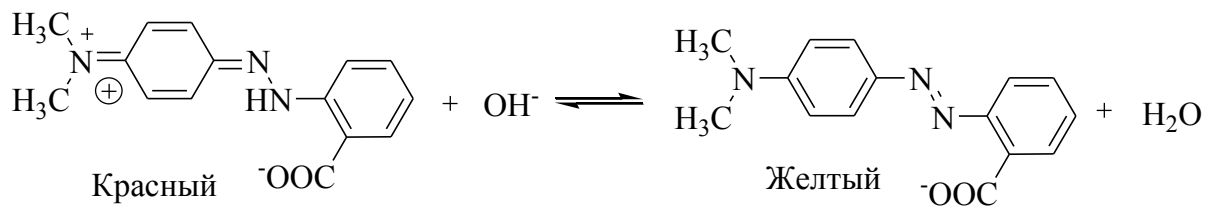
### ***Определение индивидуальных показателей***

Вначале целесообразно определить цвет, прозрачность и запах мочи.

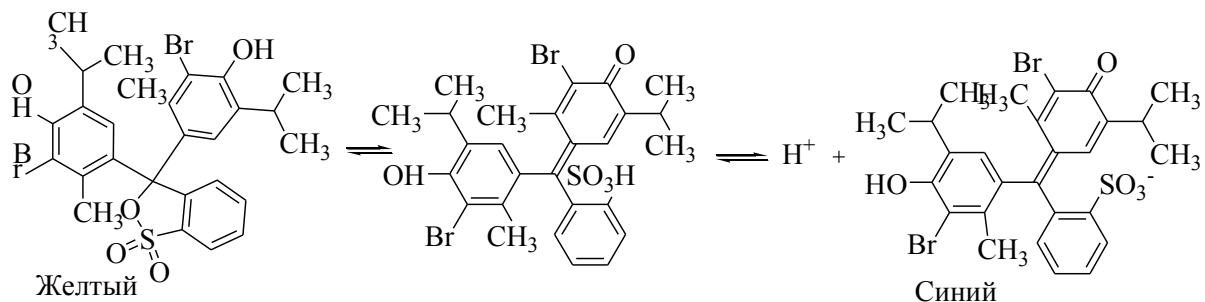
#### ***1. Определение рН мочи***

*Принцип метода.* Реагентная зона содержит 2 индикатора кислотности, которые способны изменять свою окраску при определенной рН среды: 0,2 % метилового красного; 2,8 % бромтимолового синего и 97 % неактивных элементов. Диапазон чувствительности лежит в пределах рН = 5,0 ... 8,5.

Метиловый красный — основной индикатор [интервал рН перехода окраски красной (более кислая среда) в желтую (более основная среда) — 4,2–6,3] (см. уравнение):

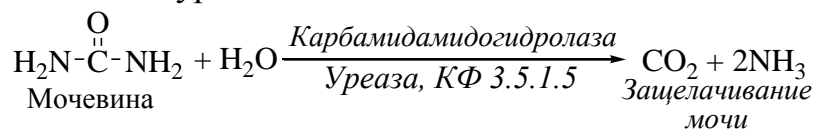


Бромтимоловый голубой — кислый индикатор [интервал pH перехода окраски желтой (более кислая среда) в синюю (более основная среда) — 6,0–7,6] (см. уравнение):



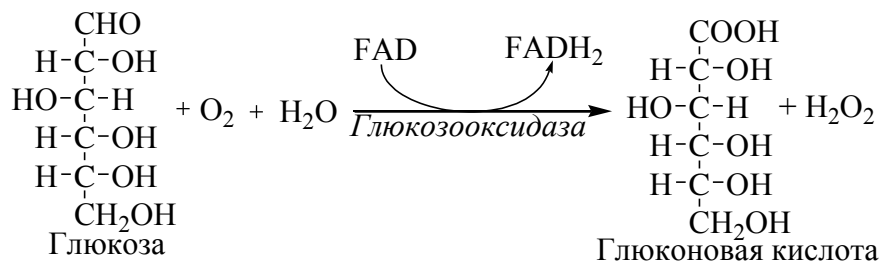
**Клинико-диагностическое значение.** В норме кислотность мочи зависит от пищи. При обычной диете она имеет слабокислую реакцию (pH = 5 ... 7). Это обусловлено тем, что в процессе обмена образуются преимущественно кислые вещества (нелетучих кислот), удаление которых происходит через почки. Причем для сохранения щелочного резерва плазмы крови (NaHCO<sub>3</sub>) в основном выделяются эпителием канальцев более кислые соли (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl и т. п.) и кислоты (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, молочная, ацетоуксусная, β-гидроксимасляная). Обычно за сутки с мочой выделяется от 40 до 75 мэкв кислот. При преобладании в рационе мясной пищи реакция мочи сдвигается в кислую сторону, при преобладании растительной (овощная диета) или приема соды, щелочных минеральных вод — в щелочную. В щелочной моче преобладают Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, KHCO<sub>3</sub>.

Реакция мочи изменяется при патологических состояниях. Кислая моча отмечается при голодании, СД (в основном за счет кетоацидоза), лихорадочных состояниях, подагре (гиперурикурия). Щелочная моча бывает при рвоте (потеря H<sup>+</sup> с содержимым желудка), приеме некоторых препаратов (питьевая сода и т. п.), воспалении мочевого пузыря (цистит), пиелите, что связано с повышением уреазной активности патологической микрофлоры:

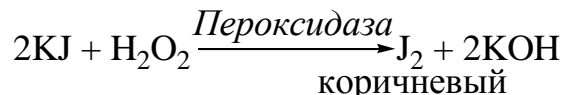


## 2. Определение содержания глюкозы в моче

**Принцип метода.** Глюкоза в присутствии фермента глюкозооксидазы (КФ 1.1.3.4) окисляется кислородом воздуха с образованием перекиси водорода (см. уравнение):



Перекись водорода при участии фермента пероксидазы тут же реагирует с иодидом калия, вызывая коричневое окрашивание (см. уравнение):

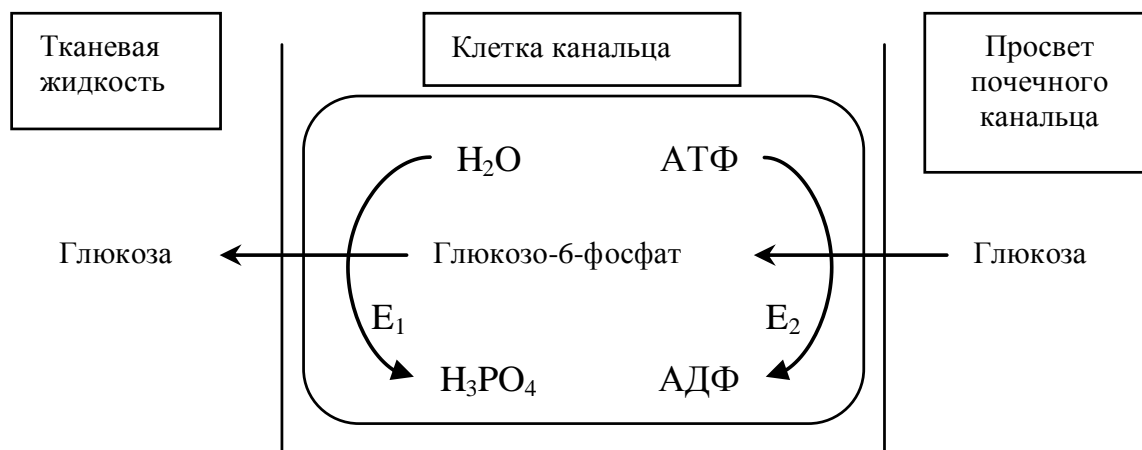


Состав реagentной зоны: глюкозооксидаза — 2,2 %; пероксидаза хрена — 1,0 % (сопряженные ферментные системы); йодид калия (хромоген) — 8,1 %; буфер (для создания оптимума рН действия ферментов) — 69,8 %; неактивные элементы — 18,9 %. Границы чувствительности, т. е. минимально определяемая концентрация — 75–125 мг/дл (4–7 ммоль/л). Физиологические концентрации не учитываются — проба отрицательна. Положительна при концентрации глюкозы в моче выше 5,5 ммоль/л. Цвет реagentной зоны изменяется от зеленого до коричневого. Диапазон чувствительности: 5,5 — больше или равен 111 ммоль/л, 1 — больше или равен 20 г/л.

*Примечание.* При высокой концентрации в моче глюкозы окрашивание реagentной зоны может быть неравномерным. В этом случае оценку следует проводить по наиболее темному тону. Чувствительность реакции снижается при увеличении удельного веса мочи и может зависеть от колебания температуры. Высокая концентрация аскорбиновой кислоты (и других восстанавливающих веществ) и/или кетонных тел при низкой концентрации глюкозы может привести к неправильному (ложноотрицательному) результату, а присутствие производных фенолфталеина и сульфопфталеина — к ложноположительному.

*Клинико-диагностическое значение.* В моче здорового человека глюкоза присутствует в виде следов (не более 0,4 г/л) и не определяется обычными химическими реакциями, так как она практически полностью реабсорбируется в проксимальных канальцах нефронов. В этом процессе принимают участие ферменты E<sub>1</sub> гексокиназа (глюкокиназа) и E<sub>2</sub> щелочная фосфатаза (см. уравнение).

Повышение концентрации глюкозы в моче — глюкозурия. Различают 2 группы глюкозурий: гипергликемические и нормогликемические. В случае гипергликемических глюкозурий увеличение содержания глюкозы в моче связано с повышением ее концентрации в плазме крови. Почечный порог для глюкозы составляет приблизительно 9,9 ммоль/л. Среди **гипергликемических глюкозурий** выделяют физиологические и патологические.



Физиологические:

1. Алиментарная — при приеме пищи, богатой углеводами.
2. Эмоциональная — при психоэмоциональном напряжении (связана в основном с повышенной стимуляцией адреналином мобилизации гликогена печени, а также с инициацией кортикостероидами процессов глюконеогенеза).
3. При воздействии некоторых лекарственных препаратов: преднизолона, кофеина (повышение концентрации внутриклеточной цАМФ приводит к активации каскадного механизма мобилизации гликогена).

Патологические:

1. Нарушения эндокринной регуляции углеводного обмена — СД, синдром Иценко–Кушинга (увеличение концентрации глюкокортикоидов и, как следствие, усиление глюконеогенеза — стероидный диабет), акромегалия (интенсификация контринсулярных эффектов соматотропного гормона), феохромоцитома (избыточная продукция катехоламинов), тиреотоксикоз (гиперфункция тиреоидных гормонов).
2. Поражения центральной нервной системы — инсульты, травмы, опухоли головного мозга, энцефалиты.
3. Недостаточность продукции инсулина поджелудочной железой (опухоль, операция, панкреатит).
4. Болезни печени — гепатиты, цирроз, гемохроматоз.
5. Заболевания сердечно-сосудистой системы — гипертонический криз, инфаркт миокарда.
6. Интоксикации — воспаление легких, инфекции, диспепсии новорожденных, ожоги, отморожения, наркоз, лечение глюкокортикоидами и адренокортикотропином.

**Нормогликемическая глюкозурия** связана в основном с нарушением реабсорбции глюкозы в почечных канальцах. Причины:

1. Интоксикации ртутью, угарным газом, стрихнином, хлороформом, эфиром, морфином, флоридзином, кодеином, снотворными препаратами (например, барбитуратами), алкоголем (в последних случаях эффект связан с гипервосстановленностью пиридиновых коферментов).



2. Гломерулонефрит, хронический пиелонефрит, нефросклероз, диабетический гломерулосклероз, врожденные тубулопатии (синдром Фанкони), беременность, почечный диабет (наследственная патология, связанная с генетически обусловленным изменением активности ферментов реабсорбции глюкозы в почечных канальцах).

3. Патологические процессы самой почечной ткани — хронический нефрит с проявлением нефротического синдрома при острой почечной недостаточности, вторичный почечный диабет.

### 3. Определение содержания билирубина в моче

*Принцип метода.* Диазониевая соль 2,4-дихлоранилина образует с билирубином азобилирубин — комплекс, окрашенный в лиловый цвет.

Состав реагентной зоны: 0,4 % диазониевой соли 2,4-дихлоранилина; 37,3 % — буфер; 62,3 % — неактивные элементы. Границы чувствительности — 0,4–0,8 мг/дл (7–14 мкмоль/л).

*Примечание.* Большое количество аскорбиновой кислоты в моче может привести к неправильному негативному результату.

*Клинико-диагностическое значение.* В норме моча содержит минимальные количества билирубина, не выявляемые обычными качественными пробами. Моча, содержащая желчные пигменты, будет иметь желто-коричневый или зеленый цвет. Незначительная билирубинурия (в виде щелочных солей) указывает на раннюю стадию заболевания печени. Значительное увеличение билирубина в моче связано с обтурационными желтухами (например, закупорке желчного протока), а также с прогрессирующими паренхиматозными желтухами. Увеличение идет в основном за счет прямого билирубина. Непрямой билирубин появляется в моче при значительных поражениях почек.

### 4. Определение уробилиногена в моче

*Принцип метода.* Уробилиноген при взаимодействии с пара-диметиламинобензальдегидом образует комплексное соединение розового цвета — уробилиногенальдегид.

Состав реагентной зоны: 0,2 % пара-диметиламинобензальдегида; 99,8 % — неактивные элементы.

Границы чувствительности — 0,2 мг/дл (3,2 мкмоль/л). Диапазон чувствительности: 0,2–8 мг/дл (3,2–131 мкмоль/л).

*Примечание.* Ложный позитивный результат может быть вызван реакцией с аминосалициловой кислотой и сульфанил-мочевинной; ложное окрашивание наблюдается и в присутствии бензойной кислоты. Ложный негативный результат может быть вызван формалином. Реактивность теста увеличивается с повышением температуры. Оптимум температуры 22–26 °С.

*Клинико-диагностическое значение.* У здоровых людей концентрация уробилиногена в моче составляет от 0,2 до 1,8 мг/дл. С 2 мг/дл начинается область патологии.

Уробилиноидурия наблюдается при:

- паренхиматозных заболеваниях печени (гепатиты, циррозы, отравления, лихорадочные состояния, сопровождающиеся токсическим поражением печени) вследствие потери печенью способности задерживать и разрушать уробилиноген, всосавшийся из кишечника;

- гемолитических состояниях (гемолитическая желтуха, гемоглобинурия, рассасывание больших кровоизлияний, обширные инфаркты миокарда) из-за избыточного поступления билирубина во внепеченочные желчные пути и кишечник, где он восстанавливается бактериями в уробилиноген, который всасывается в тонком кишечнике и через *vena portae* попадает в печень, где в норме разрушается до три- и дипирролов (пропентдиопента и мезобилилейкана);

- кишечных заболеваниях, связанных с усиленной реабсорбцией желчных пигментов слизистой оболочкой кишечника (энтероколиты, запоры).

Отсутствие в моче уробилиногена при повышенном содержании билирубина указывает на обтурационную желтуху.

### 5. Определение содержания белка в моче

*Принцип метода.* При взаимодействии альбумина с бромфеноловым голубым образуется комплекс зелено-голубого цвета, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна содержанию альбумина.

Состав реакгентной зоны: 0,3 % тетрабромфенолового голубого; 97,3 % — буфера; 2,4 % — неактивных элементов.

Границы чувствительности — 15–30 мг/дл.

Диапазон чувствительности — 30 и больше или равно 2000 мг/дл (0,30 — больше или равно 20 г/л).

*Примечание.* Данный тест характеризует в основном содержание в моче альбумина. Глобулин, тела Бенс–Джонса, микропротеины выявляются слабее. Негативный результат наличия белка не исключает его присутствия. Сильно щелочная моча или растворение в моче антисептиков и средств дезинфекции, например хлоргексидина, может вызвать неправильный позитивный результат.

*Клинико-диагностическое значение.* В нормальной моче содержатся лишь следы белка (представлен главным образом уромукоидом — продуктом функционирования почечной ткани), не выявляющиеся обычными химическими методами. Появление белка в моче — протеинурия — свидетельствует о нарушении баланса между процессами его фильтрации и реабсорбции.

**Виды протеинурий:** преренальная, ренальная (клубочковая и канальцевая), постренальная, смешанная.

Причины протеинурий:

1. Преренальной: повышенное артериальное давление, сердечная декомпенсация; функциональные протеинурии, обусловленные:

а) усиленным распадом белков тканей при физической нагрузке, психо-эмоциональном напряжении, стрессорном состоянии;

б) повышенным гемодиализом, связанным с увеличением активности ренина в плазме.

2. Ренальной клубочковой (гломерулярной): усиление проницаемости базальной мембраны почечного фильтра (из-за уменьшения содержания в ней сиалогликопротеинов при врожденном нефротическом синдроме и при атаке протеазами нейтрофилов; из-за снижения отрицательного заряда на мембране, например, при СД). Гломерулярная протеинурия встречается и при других патологических состояниях, сопровождающихся поражением почек: токсикозе беременных, амилоидозе, инфекционных и злокачественных заболеваниях, гломерулонефрите, нефропатиях.

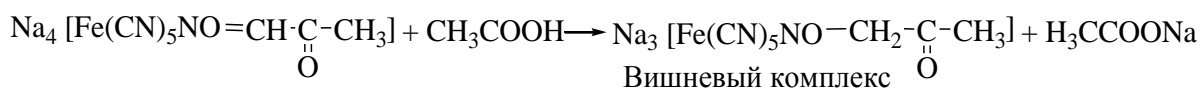
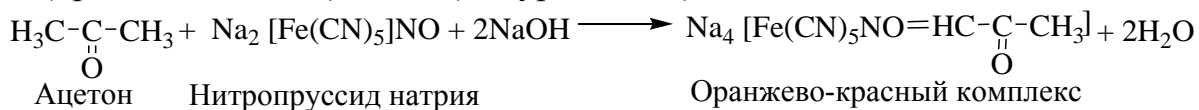
3. Ренальной канальцевой (тубулярной) — тубулярные и интерстициальные нефропатии, нефрозы (нарушение реабсорбции — энергозависимого процесса, происходящего путем эндоцитоза белка с образованием эндосом, сливающихся с лизосомами, где идет протеолиз, и образовавшиеся аминокислоты через базальную мембрану тубулоцитов возвращаются в кровоток).

4. Смешанной ренальной — хронический пиелонефрит, диффузный абактериальный интерстициальный нефрит, хроническая почечная недостаточность при хроническом гломерулонефрите.

5. Постренальной (вызванной патологией мочевыводящих путей) — воспалительная экссудация, когда в мочу попадают слизь, кровь, гной из мочевыводящих путей.

#### 6. Определение содержания кетоновых тел в моче

*Принцип метода.* Кетоновые тела образуют с нитропруссидом натрия комплексные соединения оранжево-красного (щелочная среда) и вишневого (при подкислении) цвета (см. уравнение):



Состав реagentной зоны: 7,1 % — нитропруссид натрия; 92,9 % — буфера (ацетатного).

Граница чувствительности — 5–10 мг/дл (0,5–1,0 ммоль/л). Диапазон чувствительности — 0,05–1,6 г/л (0,5–16 ммоль/л).

*Примечание.* Неправильный позитивный результат может возникнуть в сильнопигментированных пробах мочи или при наличии L-дофа-продуктов обмена в моче.

*Клинико-диагностическое значение.* Кетоновые тела в нормальной моче встречаются в самых ничтожных количествах. Появление небольшой концентрации кетонов в моче может быть вызвано физическими нагрузками, голоданием, недостаточным углеводным питанием (кетогенная диета), во время беременности или при занятии профессиональным спортом. Часто кетоны можно определить в моче до того, как повысится их концентрация в сыворотке крови (из-за действия физико-химических и физиологических механизмов коррекции нарушений КОС) — ранняя диагностика. Значительная кетонурия наблюдается при СД (недостаточность потребления глюкозы тканями приводит к активации альтернативных энергопродуцирующих метаболических путей: липолиза, бета-окисления жирных кислот; синтеза других транспортных форм субстратов энергообмена — кетоновых тел); увеличении концентрации контринсулярных гормонов (акромегалия, стероидный диабет и т. п.); тиреотоксикозе (повышение расхода углеводов); подпаутинных кровоизлияниях в мозг; черепно-мозговых травмах; возбуждении ЦНС; болезни Гирке. В раннем детском возрасте продолжительные заболевания ЖКТ (дизентерия, токсикоз) могут привести к кетонурии в результате голодания и истощения.

#### 7. Определение содержания нитритов в моче

*Принцип метода и клинико-диагностическое значение.* Принцип тестирования основан на том, что при патологии мочевыводящих путей находящиеся в них бактерии (граммотрицательные микробы) превращают нитраты мочи в нитриты. Розовые пятна или уголки не стоит воспринимать как позитивный результат. Если же возникает легкое окрашивание всей реакгентной зоны в розовый цвет, то это указывает на существование характерных бактерий (более  $10^6$  микробов/мл). Интенсивность окрашивания не пропорциональна количеству бактерий, и негативный результат не является показателем полного отсутствия бактерий.

Состав реакгентной зоны: 1,4 % пара-арсаниловой кислоты; 1,3 % 1,2,3,4-тетрагидробензохинолин-3-ола; 10,8 % буфера; 86,5 % неактивных элементов.

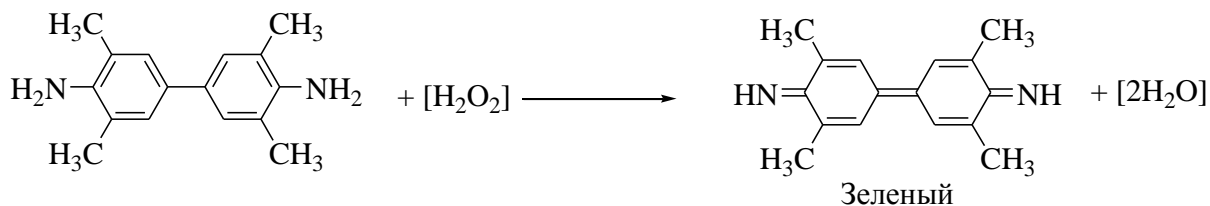
Границы чувствительности — 0,06–0,10 мг/дл (13–22 мкмоль/л)  $\text{NO}_2^-$ .

*Примечание.* Ложный негативный результат может возникнуть если: 1) время нахождения мочи в мочевом пузыре менее 4 ч (поэтому для анализа рекомендуется брать утреннюю мочу, т. к. чем больше время нахождения мочи в мочевом пузыре, тем точнее результат анализа); 2) возбудитель инфекции мочевыводящих путей действует непроизводительно; 3) в силу особенностей питания в моче мало нитратов. Ложнонегативный результат также может быть при высоких концентрациях в моче аскорбиновой кислоты и одновременном низком содержании нитритов.

#### 8. Определение содержания эритроцитов в моче

*Принцип метода.* Основан на том, что гемоглобин эритроцитов, обладая пероксидазной активностью, разлагает диизопрופןбензона дигид-

ропероксид с выделением атомарного кислорода, который окисляет 3,5,3',5'-тетраметилбензидин в соединение зеленого цвета (см. уравнение):



Состав реagentной зоны: 6,8 % диизопропиленбензона дигидропероксида, 4 % — 3,5,3',5'-тетраметилбензидина, 48 % — буфера; 41,2 % — неактивных элементов.

Границы чувствительности — 0,015–0,062 мг/дл Нв.

Диапазон чувствительности — 10–200 эритроцитов/мкл.

Для свободного Нв реagentная зона окрашивается равномерно в зеленый цвет. Целые (неповрежденные) эритроциты появляются на реagentной зоне в виде зеленых точек.

*Примечание.* Повышенная концентрация глюкозы, щавелевой кислоты, медикаментов (цефалексин, цефалотин, тетрациклин) приводит к ослаблению реакции. Сильно окрашенные пробы мочи могут повлиять на цвет реagentной зоны. Иногда у пациентов женского пола позитивный результат может быть вызван примесями вагинальных выделений в моче.

*Клинико-диагностическое значение.* В норме моча не содержит лейкоцитов (до 10 в одном микролитре). Лейкоциты мочи представлены главным образом нейтрофилами, но могут быть обнаружены эозинофилы и лимфоциты. Увеличение числа лейкоцитов в моче (лейкоцитурия) до очень больших количеств (пиурия) свидетельствует о воспалительных процессах в почках и мочевыводящих путях (туберкулез почки, пиелиты, циститы, пиелонефриты).

### 9. Определение содержания лейкоцитов в моче

*Принцип метода.* Переход окраски индикаторной зоны от бежевой через серую к сиреневой и далее фиолетовой свидетельствует о пропорциональном увеличении числа лейкоцитов в моче, соответствующим шкале [15 (следы) — 70–125–500 лейкоцитов/мкл].

Состав реagentной зоны: 0,4 % производного пиррола аминокислотного; 0,2 % соли диазония; 40,9 % буфера; 58,5 % неактивных элементов.

Границы чувствительности — 5–15 лейкоцитов/поле.

Диапазон чувствительности — 15–500 лейкоцитов/мкл.

*Примечание.* Повышенная концентрация глюкозы, щавелевой кислоты, медикаментов (цефалексин, цефалотин, тетрациклин) приводит к ослаблению реакции. Сильно окрашенные пробы мочи могут повлиять на цвет реagentной зоны. Иногда у пациентов женского пола позитивный результат может быть вызван примесями вагинальных выделений в моче.

*Клинико-диагностическое значение.* В норме моча не содержит лейкоцитов (до 10 в одном микролитре). Лейкоциты мочи представлены глав-

ным образом нейтрофилами, но могут быть обнаружены эозинофилы и лимфоциты. Увеличение числа лейкоцитов в моче (лейкоцитурия) до очень больших количеств (пиурия) свидетельствует о воспалительных процессах в почках и мочевыводящих путях (туберкулез почки, пиелиты, циститы, пиелонефриты).

#### 10. Определение плотности мочи

*Принцип метода.* Тест основан на рКs (показатель эмпирической константы высаливания) — изменении различных электролитов в зависимости от концентрации (определяющей ионную силу) ионов в моче.

Состав реагентной зоны: 2,8 % бромотимолового голубого; 97,2 % поли-(метил-, винил-, эфир-малеиновой кислоты натриевая соль).

Диапазон чувствительности — 1,000–1,030 г/л. Изменение окраски от синне-зеленой через морскую, зеленую, защитную, травяную, хаки до охристой.

*Примечание.* При уровне рН мочи выше 6,5 результат увеличивается на 0,005. Повышенное значение плотности может быть вызвано присутствием небольшого количества (1–7,5 г/л) белка в моче.

*Клинико-диагностическое значение:* Плотность мочи в норме колеблется в широких пределах (1,002–1,035 г/л). Она зависит от количества растворенных в ней веществ и количества выделяемой мочи, с одной стороны, и от отношения количества жидкости, поступившей в организм и выведенной из организма внепочечными путями (потоотделение, диарея и т. п.) — с другой.

Плотность мочи дает представление о приблизительном количестве о растворенных в ней веществ. Ориентировочно расчет плотного остатка (в г/л) получают, умножив две последние цифры (сотые и тысячные доли единицы) относительной плотности на коэффициент 2,6. В норме с мочой выделяется 50–75 г/сут плотных веществ. (В норме чем больше объем выделяемой мочи, тем меньше ее плотность и наоборот).

Изостенурия — выделение мочи с постоянной плотностью, равной плотности первичной мочи (1,010 г/л) — свидетельствует о почечной недостаточности. Постоянно низкое значение плотности мочи — гипоизостенурия — указывает на нарушения концентрационной функции почек (хронический нефрит, первично или вторично сморщенная почка). При несахарном диабете резко снижается плотность мочи, что связано с нарушением обратной реабсорбции воды.

При лихорадочных состояниях, общем венозном застое отмечается увеличение плотности и уменьшение объема выделяемой мочи. СД приводит к несоответствию между количеством мочи (наблюдается полиурия) и ее плотностью, повышенной из-за присутствия больших концентраций глюкозы и кетоновых тел.

*Результаты работы.* Оформление результатов исследования проводится по следующей форме (таблица 23):

Таблица 23 — Клинический анализ мочи

Ф. И. О. исследуемого \_\_\_\_\_ Пол \_\_\_\_\_ Дата анализа \_\_\_\_\_

Показатель	Результат анализа		Вывод
	качественного	(полу) количественного	
Цвет	Оценка цвета	Насыщенность	В данной графе результат анализа сравнивается с нормальными величинами, и в случае несоответствия норме на основе клинико-диагностического значения дается предварительная оценка возможных причин патологии
Прозрачность	Оценка прозрачности	Степень прозрачности	
Запах	Наличие / отсутствие	Характер запаха	
Плотность	—	г/л	
Реакция мочи	Кисл./нейтр./осн.	рН	
Содержание глюкозы	+, –	Здесь указываются конкретные величины содержания вещества в случае положительной пробы и нижняя граница чувствительности в случае отрицательной пробы	
Содержание белка	+, –		
Содержание билирубина	+, –		
Содержание уробилиногена	Норма или выше нормы		
Содержание кетоновых тел	+, –		
Содержание нитритов	+, –		
Содержание эритроцитов (Hb)	+, –		
Содержание лейкоцитов	+, –		

*Общий вывод.* Делается запись об освоении данного метода анализа и предположительный диагноз, поставленный на основе полученных результатов анализа мочи.

### ***Рекомендуемая литература***

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 599–606.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 594–609.
3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 387–398.

#### *Дополнительная*

4. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 608–624.

## ЗАНЯТИЕ 31.

### БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ. ОБМЕН КСЕНОБИОТИКОВ

**Цель занятия:** изучить особенности метаболизма печени и биохимическую основу ее основных функций в норме и при патологии. Научиться определять активность щелочной фосфатазы сыворотки (плазмы) крови.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Клеточный состав печени, строение и функции гепатоцита.
2. Особенности кровоснабжения печени и печеночной балки.
3. Функциональная гетерогенность гепатоцитов.
4. Метаболизм и механизм действия витаминов и гормонов.
5. Метаболизм углеводов, липидов и аминокислот.
6. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови.
7. Микросомальное окисление.
8. Механизмы регуляции гемостаза.
9. Принципы энзимодиагностики.

Студент должен уметь:

1. Работать на колориметре.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Общая характеристика печени как органа гомеостаза. Клеточный состав печени. Метаболическая гетерогенность гепатоцитов.

1.2. Роль печени в углеводном обмене (синтез и распад гликогена, ГНГ), функциональные пробы, характеризующие роль печени в углеводном обмене (гликемическая кривая, нагрузка глюкозой, фруктозой, галактозой).

1.3. Роль печени в липидном обмене (переваривание и всасывание, синтез ТАГ, ФЛ, ХС, ЛП, кетоновых тел). Состав и функции желчи. Печеночные камни, их состав и механизм образования. Функциональные пробы, характеризующие роль печени в липидном обмене (липидный спектр, содержание общих липидов, ТАГ, ХС, ФЛ, кетоновых тел).

1.4. Роль печени в азотистом обмене (синтез белков плазмы, регуляция пула аминокислот, синтез мочевины, обмен билирубина). Механизм развития печеночной комы. Функциональные пробы, характеризующие роль печени в азотистом обмене (электрофореграммы белков плазмы крови, содержание свободных аминокислот, аммиак, мочевины, билирубин, пробы на гемокоагуляцию — протромбиновый индекс и др.).

1.5. Роль печени в гормональном гомеостазе — метаболизм гормонов в печени. Функциональные пробы, характеризующие роль печени в развитии вторичного гиперальдостеронизма.



1.6. Основные пути метаболизма ксенобиотиков:

- транспорт в крови и через мембраны;
- гидроксилирование и микросомальная ДЦ и др. реакции;
- конъюгация (роль ФАФС, УДФГК, АМ, ацетил КоА и др.).

1.7. Пробы на детоксикацию (амидопириновая и др.).

1.8. Энзимодиагностика заболеваний печени:

- гепатоцеллюлярных — альдолаза, ЛДГ, АСТ, АЛТ, ГДГ;
- холестатических — ЩФ, 5-нуклеотидаза, холинэстераза, ГГТП, ЛАП.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### Задачи

1. Какие биохимические параметры характеризуют острый воспалительный процесс при заболеваниях печени?

*Варианты ответа:*

- |                            |                             |
|----------------------------|-----------------------------|
| а) белковые фракции;       | г) содержание мочевины;     |
| б) активность трансаминаз; | д) содержание электролитов; |
| в) содержание ХС;          | е) содержание билирубина.   |

2. Активность щелочной фосфатазы сыворотки крови повышается при:

*Варианты ответа:*

- |                        |                       |
|------------------------|-----------------------|
| а) рахите;             | д) панкреатите;       |
| б) остеомалации;       | е) раке простаты;     |
| в) остеопорозе;        | ж) регенерации кости; |
| г) мышечной дистрофии; | з) инфаркте миокарда. |

3. Активность АЛТ сыворотки крови повышается при:

*Варианты ответа:*

- |                          |                  |
|--------------------------|------------------|
| а) механической желтухе; | е) рахите;       |
| б) холангите;            | ж) пневмонии;    |
| в) остром гепатите;      | з) панкреатите;  |
| г) инфаркте миокарда;    | и) язве желудка. |
| д) мышечной дистрофии;   |                  |

4. При каких заболеваниях возрастает активность фруктозо-1,6-дифосфатаальдолазы сыворотки крови?

*Варианты ответа:*

- |                                   |                  |
|-----------------------------------|------------------|
| а) острый гепатит;                | е) атеросклероз; |
| б) мышечная дистрофия;            | ж) ларингит;     |
| в) инфаркт миокарда;              | з) холангит;     |
| г) острые респираторные инфекции; | и) пиелонефрит.  |
| д) пневмония;                     |                  |

5. При каких состояниях увеличивается активность  $\gamma$ -глутамил-транспептидазы?

*Варианты ответа:*

- а) гемолиз;
- б) обтурация желчевыводящих путей;
- в) гепатит при отравлении барбитуратами;
- г) острые инфекции;
- д) хронический гастрит;
- е) реактивные гепатиты алкоголиков.

6. Активность холинэстеразы крови понижается при:

*Варианты ответа:*

- а) хронических гепатитах;
- б) циррозе печени;
- в) вирусном гепатите;
- г) остром панкреатите;
- д) механической желтухе;
- е) инфаркте миокарда.

7. Какие изменения характерны для печеночной комы?

*Варианты ответа:*

- а) гипопропротеинемия;
- б) повышение уровня аммиака в крови;
- в) нарушение синтеза мочевины;
- г) увеличение количества альбумина;
- д) уменьшение количества альбумина;
- е) повышение уровня фибриногена;
- ж) гипергликемия;
- з) гипогликемия.

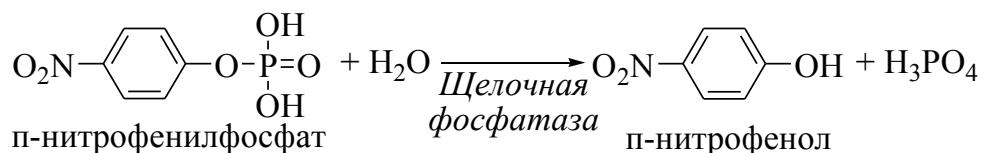
8. Синдром холестаза характеризуют такие показатели, как:

*Варианты ответа:*

- а) активность трансаминаз;
- б) активность холинэстеразы;
- в) активность щелочной фосфатазы;
- г) уровень конъюгированного билирубина;
- д) уровень общего белка;
- е) активность кислой фосфатазы;
- ж) активность ЛАП;
- з) билирубин мочи;
- и) уровень неконъюгированного билирубина;
- к) активность ГГТП.

### **Лабораторная работа. Определение активности щелочной фосфатазы сыворотки крови**

*Принцип метода.* См. уравнение:



Количество образовавшегося п-нитрофенола пропорционально активности фермента и определяется фотометрически.

*Ход работы* (таблица 24).

Таблица 24 — Приготовление проб

Внести в пробирки, мл		
	Опытная проба	Контрольная проба
Рабочий реагент	0,50	0,50
Сыворотка крови	0,05	—
Тщательно перемешать и инкубировать в термостате при температуре 37 °С в течение 30 мин, затем охладить		
Реагент 2	5,00	5,00
Сыворотка крови	—	0,05

Тщательно перемешать и измерить величину экстинкции опытной пробы против контрольной пробы на фотоколориметре при длине волны 405 нм в кюветах с длиной оптического пути 1 см.

*Расчет* активности щелочной фосфатазы произвести по калибровочному графику.

*Нормальные величины:* 278–830 нмоль/с × л (16,7–50,0 МЕ/л).

*Клинико-диагностическое значение.* Активность щелочной фосфатазы сыворотки крови увеличивается при болезнях печени, например при механической желтухе, в меньшей степени она повышается при гепатитах, циррозах и др. Активность щелочной фосфатазы резко возрастает также при рахите.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 607–613.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 428–432, 617–632, 636–650.
3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 452–468.

#### *Дополнительная*

4. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 363–372, 574–577.
5. Ткачук, В. А. Клиническая биохимия / В. А. Ткачук. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — С. 116–122.

## **ЗАНЯТИЕ 32.**

### **БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ И МИОКАРДА**

**Цель занятия:** изучить особенности метаболизма мышечной ткани и миокарда, биохимическую основу мышечного сокращения. Изучить биохимическую основу острой и хронической сердечной недостаточности. Научиться определять содержание макроэргических соединений мышечной ткани (АТФ и креатинфосфата).

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Морфо-функциональную характеристику мышечной ткани.
2. Саркомер, миофибриллы, мембранный аппарат мышечной ткани.
3. Понятие «моторная бляшка», систему Т-трубочек, триады.
4. Сократительный аппарат гладких мышц.
5. Метаболизм и механизм действия вторичных посредников.
6. Реакции энергетического обмена и его регуляцию.
7. Механизмы электрогенеза в мышечной ткани.
8. «Весельный» механизм мышечного сокращения.
9. Механизмы нейро-гуморальной регуляции мышечного сокращения.

Студент должен уметь:

1. Проводить качественные реакции на фосфат, колориметрический анализ.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

1.1 Основные функции мышечной системы (движение, стимуляция метаболизма, вегетативных функций и др.).

1.1.1. Ограничение двигательной активности (гипокинезия). Основные элементы патогенеза гипокинетического синдрома. Гипокинезия как фактор риска в развитии различных заболеваний.

1.2. Особенности метаболизма мышечной ткани, обеспечивающие ей относительную автономию.

1.2.1. Наличие эндогенного запаса субстратов энергетического обмена (гликоген, ТАГ). Особенности их обмена.

1.2.2. Наличие запаса макроэргов. Метаболизм креатинфосфата (синтез и распад). Характеристика креатинфосфокиназы, изоферменты.

1.2.3. Своеобразный набор ферментов стабилизирующих уровень АТФ (креатинфосфокиназа, аденилаткиназа, ферменты цикла пуриновых нуклеотидов, АМФ-дезаминаза). Особенности дезаминирования аминокислот.

1.2.4. Наличие депо кислорода. Строение миоглобина. Сравнительная характеристика кривых диссоциации оксимиоглобина и оксигемоглобина.

### 1.2.5. Специфические белки мышц и их характеристика:

- сократительные: актин и миозин;
- регуляторные (несократительные):
  - основные: тропомиозин, тропонины (I, C, T);
  - минорные (миомезин; креатинкиназа; M-, C-, F-, H-, I-белки;  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -актинины, филамин, паратропомиозин);
- белки цитоскелета:
  - тайтин-1, тайтин-2, небулин, винкулин, десмин (скелетин), виментин, синемин, Z-протеин, Z-nin, дистрофин.

1.2.6. Наличие дипептидов (карнозин, ансерин), их строение и биологическая роль.

1.2.7. Наличие депо  $\text{Ca}^{2+}$ , особенности метаболизма  $\text{Ca}^{2+}$  в мышечной ткани, характеристика саркоплазматического ретикулума:

- роль дигидропиридиновых и рианоидиновых рецепторов в транспорте  $\text{Ca}^{2+}$ .
- роль белков кальсеквестрина и кальмитина в аккумуляции  $\text{Ca}^{2+}$  соответственно в саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях.

1.3. Особенности энергообразования в мышечных волокнах. Типы мышечных волокон, их морфо-функциональная характеристика.

1.4. Пути утилизации АТФ в мышечной ткани (миозиновая АТФ-аза, ионные АТФ-азы, биосинтезы и др.).

1.5. Роль мышечной ткани в межорганном обмене субстратами: циклы — глюкозо-лактатный (цикл Кори) и глюкозо-аланиновый (цикл Фелига).

1.6. Особенности метаболизма миокарда.

1.6.1. Аэробный метаболизм (доминирующий тип субстратов).

1.7. Теория мышечного сокращения. Механизм электромеханического сопряжения (роль вторичных мессенджеров, мембран саркоплазматического ретикулума, ионов  $\text{Ca}^{++}$ , кальмодулина, белков мышечной ткани, АТФ-аз). Механизм расслабления.

1.7.1. Механизм образование ригорного комплекса (трупное окоченение).

1.8. Особенности сокращения гладкой мускулатуры.

1.9. Механизм развития сердечной недостаточности. Ремоделирование миокарда при хронической сердечной недостаточности: адаптивные изменения его структуры и метаболизма.

1.9.1. Биохимическое обоснование лечения сердечной недостаточности:

- препараты, увеличивающие сократимость миокарда (сердечные гликозиды, их механизм действия, ингибиторы фосфодиэстеразы,  $\text{Ca}^{2+}$ -сенситизаторы и др.);
- препараты, уменьшающие нагрузку на миокард (вазодилататоры, диуретики и др.);
- препараты, блокирующие нейро-эндокринную регуляцию миокарда ( $\beta$ -адреноблокаторы и др.);

• препараты, улучшающие метаболизм миокарда (коронаролитики, субстраты энергетического обмена, рибоксин, фосфокреатин, антигипоксанты, антиоксиданты, анаболики,  $Ca^{2+}$  антагонистов и др.).

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторная работа.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

## Задачи

1. Диагностическим критерием заболеваний мышечной системы является уровень выделения с мочой:

*Варианты ответа:*

- |                      |                |
|----------------------|----------------|
| а) аминокислот;      | д) креатина;   |
| б) мочевины;         | е) креатинина; |
| в) мочевой кислоты;  | ж) глютамина;  |
| г) аммонийных солей; | з) тионеина.   |

2. При каких заболеваниях увеличивается экскреция креатина с мочой?

*Варианты ответа:*

- а) обтурационная желтуха;
- б) острый гепатит;
- в) закупорка мочевых путей;
- г) значительные оперативные вмешательства;
- д) прогрессирующая мышечная дистрофия;
- е) инфаркт миокарда;
- ж) пневмония;
- з) акромегалия;
- и) СД;
- к) гипертиреоз.

3. При каких состояниях увеличивается концентрация креатинина в сыворотке крови?

- |  |                   |
|--|-------------------|
| а) прогрессирующая мышечная дистрофия; | е) цирроз печени; |
| б) опухоли мочевых путей;              | ж) диарея;        |
| в) кишечная непроходимость;            | з) акромегалия;   |
| г) гломерулонефрит;                    | и) СД;            |
| д) острый панкреатит;                  | к) гипертиреоз.   |

4. Гипокалиемия клинически проявляется в виде:

*Варианты ответа:*

- а) снижения тонуса гладкой и скелетной мускулатуры;
- б) усиления рефлексов;
- в) появления вялых параличей;
- г) расширения сердца;

- д) усиления перистальтики кишечника;
- е) общей слабости;
- ж) гиперкинезов;
- з) пареза кишечника;
- и) тахикардии;
- к) брадикардии.

5. Накопление молочной кислоты в организме происходит при:

*Варианты ответа:*

- а) полном прекращении кровообращения (клиническая смерть);
- б) сердечно-сосудистой недостаточности;
- в) кровопотере;
- г) гипоксии;
- д) усиленной мышечной работе;
- е) гипероксии;
- ж) диарее;
- з) гиповитаминозе В<sub>1</sub>.

6. При каких заболеваниях повышается концентрация миоглобина в крови?

*Варианты ответа:*

- а) хроническом гепатите;
- б) инфаркте миокарда;
- в) пневмонии;
- г) туберкулезе легких;
- д) остром панкреатите;
- е) остром холецистите;
- ж) краш-синдроме;
- з) пиелонефрите.

7. Для диагностики инфаркта миокарда в первые 6–8 ч после приступа целесообразно исследовать плазму крови на:

*Варианты ответа:*

- а) содержание тропонина;
- б) уровень миоглобина;
- в) активность креатинкиназы;
- г) активность АСТ;
- д) активность гамма-глутамилтранспептидазы;
- е) активность АЛТ;
- ж) активность амилазы;
- з) активность аргиназы.

8. Специфичными для скелетной мышечной ткани ферментами являются:

*Варианты ответа:*

- а) фруктозомонофосфат-альдолаза;
- б) аргиназа;
- в) алкогольдегидрогеназа;
- г) бета-оксибутират ДГ;
- д) ВВ изоформы КФК;
- е) МВ изоформы КФК;
- ж) ММ изоформы КФК;
- з) амилаза;
- и) ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>;
- к) ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub>.

9. Специфичными для миокарда ферментами являются:

*Варианты ответа:*

- |                                  |  |
|----------------------------------|--|
| а) фруктозомонофосфат-альдолаза; | е) МВ изоформы КФК;                      |
| б) аргиназа;                     | ж) ММ изоформы КФК;                      |
| в) алкогольдегидрогеназа;        | з) амилаза;                              |
| г) бета-оксибутират ДГ;          | и) ЛДГ <sub>1</sub> и ЛДГ <sub>2</sub> ; |
| д) ВВ изоформы КФК;              | к) ЛДГ <sub>4</sub> и ЛДГ <sub>5</sub> . |

10. Какой из ферментных тестов отражает процессы репарации после инфаркта миокарда?

*Варианты ответа:*

- |                                  |                          |
|----------------------------------|--------------------------|
| а) креатинкиназа;                | д) церулоплазмин;        |
| б) АСТ;                          | е) лейцинаминопептидаза; |
| в) гамма-глутамилтранспептидаза; | ж) амилаза;              |
| г) холинэстераза;                | з) ЛДГ.                  |

11. Фосфорилированная форма креатина в мышцах является:

*Варианты ответа:*

- а) источником неорганического фосфата для образования АТФ;
- б) компонентом цикла Фелига;
- в) одним из факторов электромеханического сопряжения;
- г) важным источником макроэргов;
- д) компонентом цикла Кори;
- е) переносчиком цитрата через мембрану митохондрий;
- ж) транспортной формой макроэргов в кардиомиоците.

12. Что из указанного включается в биосинтез креатинфосфата?

*Варианты ответа:*

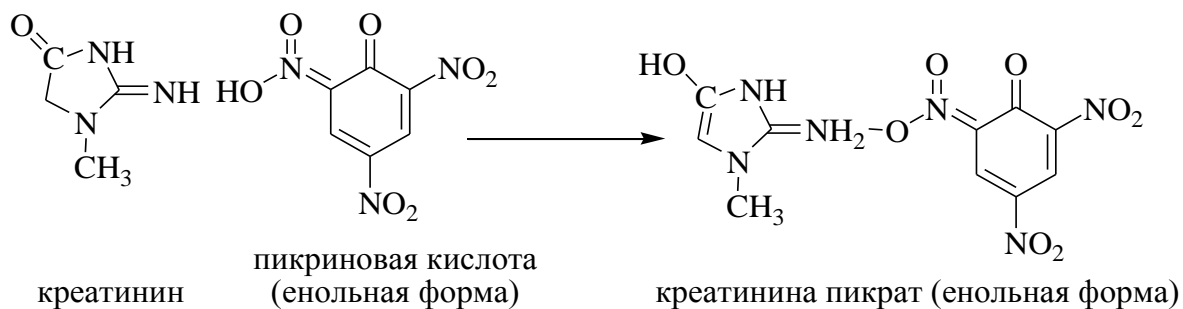
- |                       |               |
|-----------------------|---------------|
| а) пиридоксальфосфат; | ж) аргинин;   |
| б) АТФ;               | з) триптофан; |
| в) метионин;          | и) АМФ;       |
| г) цистеин;           | к) глицин;    |
| д) валин;             | л) биотин;    |
| е) NADP;              | м) аскорбат.  |

## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Определение концентрации креатинина в моче псевдокинетическим методом.

*Принцип метода.* Метод основан на реакции Яффе. Скорость образования окрашенного комплекса с пикриновой кислотой в щелочной среде пропорциональна концентрации креатинина в пробе, измеряется фотометрически при длине волны 505 нм (см. уравнение):





*Ход работы.* Развести мочу дистиллированной водой в соотношении 1:49. Внести в пробирку 2,0 мл рабочего реагента, нагреть при температуре 37 °С в течение 5 мин. Добавить 0,4 мл разведенной мочи, перемешать. Через 60 с измерить экстинкцию пробы ( $E_0$ ) против дистиллированной воды в кюветах 0,5 см на фотометре КФК-3 при длине волны 505 нм.

Через 1 мин повторно измерить экстинкцию опытной пробы ( $E_1$ ).

*Расчет.* Вычислить изменение экстинкции за одну минуту:  $\Delta E_{\text{оп}} = E_1 - E_0$ . Вычислить концентрацию креатинина ( $C$ ) в моче по формуле 20:

$$C = (\Delta E_{\text{оп}} / \Delta E_{\text{калибр}}) \times 8,85 \times 1,5 \text{ (ммоль/сут)}, \quad (20)$$

где: 8,85 — концентрация креатинина в калибровочной пробе, ммоль/л;

1,5 — количество суточной мочи, л;

$\Delta E_{\text{калибр}} = 0,024$  — изменение экстинкции калибровочной пробы за одну минуту.

*Норма:* 0,5–2,0 г/сут или 4,4–17,7 ммоль/сут.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

## Лабораторная работа № 2. Определение концентрации креатинина в моче энзиматическим кинетическим методом.

*Принцип метода.* Креатинин гидратируется креатининиминогидролазой (CRIM) до N-метилгидантоина и свободного иона аммония. Ион аммония под действием глутаматдегидрогеназы окисляет NADPH до NADP<sup>+</sup>. Скорость окисления NADPH пропорциональна концентрации креатинина.

*Ход работы.* Нагреть рабочий реагент в термостате при температуре 37°С. Развести мочу дистиллированной водой в соотношении 1:49 (таблица 25):

Таблица 25 — Приготовление проб

Реактивы	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл
Рабочий реагент	2,0	2,0
Разведенная моча (1:49)	0,2	—
Калибратор	—	0,2

Перемешать, измерить через 120 с начальную экстинкцию опытной пробы ( $E_{0оп}$ ) и калибровочной пробы ( $E_{0калибр}$ ) против дистиллированной воды в кюветах 0,5 см на спектрофотометре при длине волны 340 нм.

Через 1 мин повторно измерить экстинкцию опытной пробы ( $E_{1оп}$ ) и калибровочной пробы ( $E_{1калибр}$ ).

*Расчет.* Вычислить изменение экстинкции за 1 мин для опытной и калибровочной проб:  $\Delta E = E_1 - E_0$ .

Вычислить концентрацию креатинина (С) в моче по формуле 21:

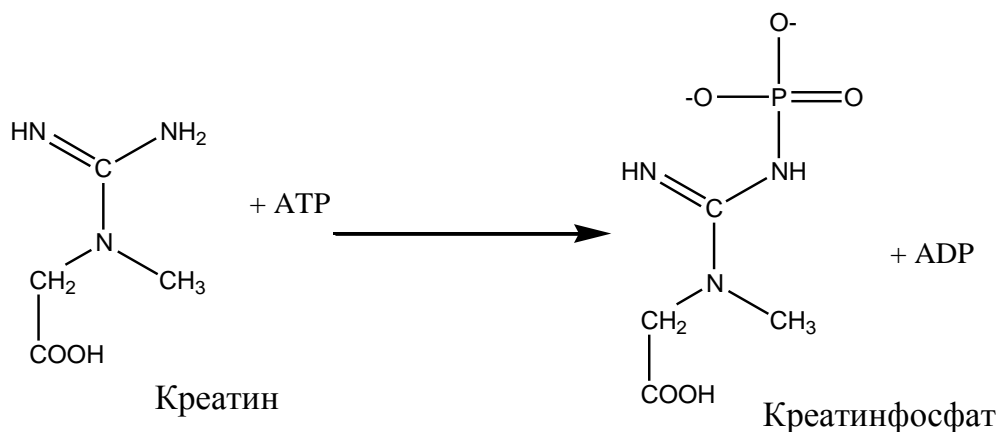
$$C = (\Delta E_{оп} / \Delta E_{калибр}) \times 8,85 \times K \text{ (ммоль/сут)}, \quad (21)$$

*Объяснения формулы и нормальное содержание* — см. предыдущую работу.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### Лабораторная работа № 3. Количественное определение макроэргических соединений мышц (АТФ и креатинфосфата).

В мышечной ткани содержится два основных макроэргических соединения — АТФ и креатинфосфат. Основным путем образования АТФ в тканях является ОФ, осуществляемое в процессе тканевого дыхания. Креатинфосфат образуется в мышце при участии АТФ в состоянии покоя (см. уравнение) и является транспортной и резервной формой макроэргического фосфата при активной мышечной работе.



*Принцип метода.* Метод основан на количественном определении (по цветной реакции с молибдатом аммония в присутствии аскорбиновой кислоты) макроэргического фосфата в молекулах АТФ и креатинфосфата, который легко отщепляется при непродолжительном гидролизе в кислой среде (так называемый лабильно связанный фосфор).

Определение содержания неорганического фосфора в пробах мышечного экстракта, до гидролиза и после него, дает представление о количестве лабильно связанного фосфора, макроэргических соединений мышцы.

*Ход работы.* Работа состоит из 5 этапов:

1. *Экстракция органического фосфата.* 0,5 г мышечной кашицы помещают в пробирку, стоящую в ледяной бане, и добавляют в нее 5 мл охлажденного 3 %-ного раствора ТХУ. Содержимое пробирки перемешивают стеклянной палочкой для экстрагирования АТФ и креатинфосфата в течение 5 мин. Экстракт фильтруют в мерную пробирку, стоящую в ледяной бане. Остаток мышечной кашицы в пробирке заливают 5 мл дистиллированной воды, продолжают экстракцию в течение 5 мин на холоде. Полученный экстракт фильтруют в ту же мерную пробирку и доводят общий объем до 10 мл дистиллированной водой.

2. *Гидролиз органического фосфата.* В 2 пробирки отбирают по 0,5 мл безбелкового фильтрата: 1-я пробирка — контрольная, 2-я — опытная. В опытную пробирку добавляют 1 мл 1 М раствора HCl. Закрывают фольгой и помещают в кипящую баню на 10 мин для гидролиза фосфорных связей. Затем раствор охлаждают и добавляют 1 мл 1 М раствора NaOH. В контрольную пробирку (без предварительного кипячения) добавляют 1 мл 1 М раствора NaOH и 1 мл 1 М раствора HCl. В опытную и контрольную пробирки добавляют из бюретки по 7,5 мл дистиллированной воды для получения объема 10 мл.

3. *Проведение качественной реакции.* Дальнейшие процедуры обязательно проводят одновременно с опытной и контрольной пробами. Из обеих пробирок отбирают по 0,8 мл жидкости, переносят в две другие пробирки, содержащие по 5 мл активного буфера, затем добавляют по 0,5 мл 1 М раствора молибдата аммония, 0,5 мл 1 %-ного раствора аскорбиновой кислоты. Содержимое каждой пробирки быстро перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре точно 10 мин.

4. *Фотометрия окрашенного комплекса.* Контрольную и опытную пробы колориметрируют на ФЭКе с красным светофильтром (длина волны 670 нм) против воды. В опытной пробе (после гидролиза) определяемый неорганический фосфор представляет собой сумму лабильно связанного фосфора и фосфатных солей, присутствующих в тканях. В контрольной пробе — только фосфатные соли.

5. *Расчет содержания макроэргических фосфорных соединений.* Из величины оптической плотности, найденной для опытной пробы, вычитают величину оптической плотности, полученную для контрольной пробы. Концентрацию лабильно связанного неорганического фосфора в пробе находят по калибровочному графику.

*Расчет.* Рассчитывают количество лабильно связанного фосфора (в мг) на 100 г сырой ткани, учитывая разведение по формуле 22:

$$X = A \times 3,3 \times 400 \times 100, \quad (22)$$

где  $X$  — содержание (мг/100 г) макроэргических соединений в перерасчете на 1 мг АТФ в 100 г сырой ткани;

$A$  — содержание АТФ в пробе, мг;

3,3 и 400 — коэффициенты перерасчета на 1 г ткани с учетом разведения растворов.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 613–624.

2. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 518–530.

#### *Дополнительная*

3. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 645–660.

4. Молекулярная биология клетки / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 2. — С. 254–274.

## **ЗАНЯТИЕ 33.**

### **БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (СЕМИНАР)**

**Цель занятия:** изучить особенности метаболизма нервной ткани, биохимическую основу ее функционирования в норме и при различных патологических состояниях. Научиться определять активность холинэстеразы сыворотки крови.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Особенности строения и функции нейрона и нейроглии.
2. Строение и функции синапса.
3. Метаболизм глюкозы, липидов и аминокислот.
4. Метаболизм этанола и гидрофобных ксенобиотиков.
5. Низкоэнергетические состояния, причины и механизм развития.
6. Строение, локализацию и функции ионных АТФ-аз (Na/K, Ca и др.).
7. Биофизические механизмы возникновения и проведения потенциалов.

Студент должен уметь:

1. Выполнять качественные реакции на активность ферментов биологических жидкостей.

#### **Структура занятия**

##### **1. Теоретическая часть**

- 1.1. Общая характеристика метаболизма и химического состава мозга.

## 1.2. Особенности метаболизма в мозге:

— углеводов (гликолиз, пентозный цикл, ЦТК), роль инсулина в метаболизме мозга;

— макроэргов (АТФ и креатинфосфата);

— белков, их состав, специфические белки нервной ткани S-100, белки миелина, тубулин, факторы роста нервов и др. Олиго- и полипептиды нервной ткани — ансерин, карнозин, гомокарнозин, либерины, статины, вещество Р, кальцийнейрин и др., их функции. Энкефалины, эндорфины, их природа, механизм действия и физиологическая роль;

— аминокислот, роль дикарбоновых аминокислот — глу и асп в метаболизме мозга (цикл Робертса, цикл пуриновых нуклеотидов — реакции, ферменты, субстраты, физиологическая роль);

— нуклеиновых кислот;

— липидов — липиды миелина, особенности биосинтеза и роль ХС.

## 1.3. Основные функции нейронов:

— электрогенез (механизм электрогенеза);

— метаболизм (синтез и распад) медиаторов, типы медиаторов. Краткая характеристика (синтез, биохимические и физиологические эффекты, распад) — ацетилхолин, катехоламины, серотонин, дофамин, ГАМК, ГОМК, аминокислоты, гистамин. Состояние медиаторного обмена в норме и при некоторых патологических состояниях (паркинсонизм, шизофрения, маниакальные состояния, депрессии и др.);

— строение синапса, механизмы синаптической и аксональной передачи. Понятие об аксональном транспорте и его физиологической роли;

— биохимические механизмы памяти.

## 1.4. Особенности метаболизма мозга при гипоксии.

1.5. Биохимические механизмы действия на мозг алкоголя, наркотиков (опиоиды, кокаин, ЛСД-25 и др.) и гидрофобных токсических соединений. Биохимические механизмы развития алкоголизма, наркоманий и токсикоманий.

## 1.6. Понятие о гематоэнцефалическом барьере.

## 2. Практическая часть

### 2.1. Решение задач.

### 2.2. Лабораторная работа.

### 2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

## Задачи

1. Основным источником аммиака в ткани мозга является реакция (напишите реакции):

*Варианты ответа:*

а) дезаминирования асп;

б) дезаминирования глу;

в) дезамидирования асн;

г) дезамидирования глн;

д) дезаминирования АМФ;

е) дезаминирования АТФ;

ж) трансаминирования;

з) распада НК.

2. В каких случаях увеличивается активность холинэстеразы в сыворотке крови?

*Варианты ответа:*

- а) нефротический синдром;
- б) инфекционный гепатит;
- в) бронхиальная астма;
- г) миома матки;
- д) инфаркт миокарда;
- е) отравление фосфорорганическими веществами;
- ж) травма мозга;
- з) отек мозга;
- и) гипертоническая болезнь.

3. Какие из указанных реакций обезвреживания аммиака характерны для ткани мозга (напишите реакции)?

*Варианты ответа:*

- а) восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглутарата;
- б) амидирование глут;
- в) амидирование асп;
- г) аминирование ИМФ;
- д) дезаминирование АМФ;
- е) амидирование белков;
- ж) орнитиновый цикл.

4. Какие из указанных ферментов участвуют в реакциях инактивации биогенных аминов?

*Варианты ответа:*

- |                            |                                |
|----------------------------|--------------------------------|
| а) холинэстераза;          | д) цитохром P <sub>450</sub> ; |
| б) моноаминоксидаза;       | е) катехол-о-метилтрансфераза; |
| в) оксидазы D-аминокислот; | ж) глутатионпероксидаза;       |
| г) оксидазы L-аминокислот; | з) супероксиддисмутаза.        |

5. Наркотическое действие алкоголя связано:

*Варианты ответа:*

- а) с ингибированием Ca каналов;
- б) гиперпродукцией NADH;
- в) торможением первого комплекса ДЦ;
- г) торможением третьего комплекса ДЦ;
- д) ингибированием сукцинатдегидрогеназы;
- е) продукцией эндогенных медиаторов торможения;
- ж) дефицитом эндогенных медиаторов торможения;
- з) ингибированием цитохромоксидазы;
- и) активацией сукцинатдегидрогеназы.

6. Главным тормозным медиатором нейронов головного мозга является:

*Варианты ответа:*

- |          |                 |
|----------|-----------------|
| а) ГАМК; | е) таурин;      |
| б) ГОМК; | ж) гистамин;    |
| в) глу;  | з) эндорфины;   |
| г) глн;  | и) серотонин;   |
| д) гли;  | к) белок S-100. |

7. Антагонистом глициновых рецепторов спинного мозга является:

*Варианты ответа:*

- |               |              |
|---------------|--------------|
| а) ЛСД-25;    | д) резерпин; |
| б) алкоголь;  | е) новокаин; |
| в) кокаин;    | ж) стрихнин; |
| г) теofilлин; | з) аммиак.   |

8. Для паркинсонизма характерно:

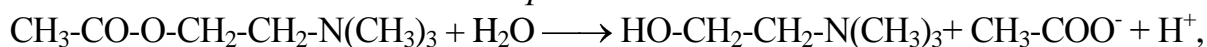
*Варианты ответа:*

- а) увеличение содержания в мозге дофамина;
- б) резкое снижение содержания в мозге дофамина;
- в) резкое снижение содержания в мозге норадреналина;
- г) резкое увеличение содержания в мозге норадреналина;
- д) ингибирование сукцинатдегидрогеназы;
- е) увеличение содержания в мозге серотонина.

### **Лабораторная работа. Ингибирование активности холинэстеразы сыворотки крови прозеринном.**

*Принцип метода.* Основан на том, что при гидролизе ацетилхолина холинэстеразой происходит подкисление среды за счет накопления уксусной кислоты (см. уравнение):

*Холинэстераза*



которую можно обнаружить по изменению окраски в присутствии индикатора — бромтимолового синего. В нейтральной среде этот индикатор синезеленый, а в кислой он имеет красную окраску. В присутствии антихолинэстеразного препарата — прозерина, а также инсектицидов или других фосфорорганических соединений, которые ингибируют активность холинэстеразы, расщепления ацетилхолина не происходит, и индикатор не меняет своей окраски.

*Ход работы.* В 2 пробирки вносят по 0,2 мл 0,1 %-ного раствора бромтимолового синего и по 0,2 мл 0,1 %-ного раствора ацетилхолина (предварительно нейтрализованного NaOH). В одну из пробирок (контрольную) добавляют 3 капли 0,05 %-ного раствора прозерина.

В каждую пробирку вносят по 0,02 мл крови, содержимое пробирок перемешивают и ставят в термостат при температуре 38 °С на 15–20 мин.

По истечении этого времени наблюдают изменение окраски в опытной пробе и сохранение исходной окраски в контрольной.

*Клинико-диагностическое значение.* В организме человека существует 2 типа холинэстераз:

- ацетилхолинэстераза, которая встречается преимущественно в мозге, эритроцитах, мышцах, нервах; это высокоспецифический фермент, катализирующий гидролитическое расщепление ацетилхолина на холин и уксусную кислоту;

- холинэстераза, которая содержится в основном в печени, поджелудочной железе и плазме крови. Холинэстераза обладает более широкой субстратной специфичностью, т. е. расщепляет ацетилхолин и другие эфиры холина.

Определение активности ацетилхолинэстеразы сыворотки и тканей имеет большое клинико-диагностическое значение.

Сывороточная холинэстераза представляет собой высокомолекулярный гликопротеид, связанный в крови с альбумином. Функция этого фермента выяснена недостаточно. Предполагают, что холинэстераза плазмы крови выполняет защитную функцию, предотвращая накопление и распространение ацетилхолина по тканям, при попадании его в кровяное русло.

В норме активность холинэстеразы сыворотки крови колеблется в широких пределах — 160–340 мкмоль/(мл×ч). При патологических состояниях ее активность чаще всего снижается. Значительное снижение активности холинэстеразы сыворотки крови отмечается при заболеваниях печени, гипотиреозе, суставном ревматизме, инфаркте миокарда, ожогах, а также отравлениях различными фосфорорганическими соединениями.

Угнетение активности холинэстеразы в сыворотке крови наблюдается значительно раньше проявления других симптомов интоксикации.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### ***Рекомендуемая литература***

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 637–660.

2. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 531–550.

#### *Дополнительная*

3. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 78–85, 503–508, 585, 591–599.

4. Элементы патологической физиологии и биохимии / И. П. Ашмарин [и др.]. — М.: МГУ, 1992. — С. 134–160.

5. Бышевский, А. Ш. Биохимия для врача / А. Ш. Бышевский, О. А. Терсенов. — Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. — С. 184–196.



## **ЗАНЯТИЕ 34.**

### **БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

**Цель занятия:** изучить особенности метаболизма СТ, биохимическую основу ее функционирования в норме и при различных патологических состояниях.

#### **Исходный уровень знаний и навыков**

Студент должен знать:

1. Общий план строения и классификацию видов СТ.
2. Структурную организацию белковой молекулы.
3. Биосинтез и процессинг белка.
4. Механизмы химической модификации молекулы белка (гидроксилирование и др.).
5. Строение, свойства и метаболизм ГАГ.

Студент должен уметь:

6. Проводить исследование на фотоэлектроколориметре.

#### ***Структура занятия***

##### **1. Теоретическая часть**

1.1. Краткая характеристика СТ.

1.2. Особенности строения СТ. Функции СТ. Характеристики и функциональное значение и особенности метаболизма клеточных элементов СТ (фибробласты, тучные, плазматические клетки и др.)

1.3. Особенности строения и функциональное значение волокнистых структур СТ.

1.3.1. Коллагеновые волокна. Особенности аминокислотного состава, первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур. Тропоколлаген. Биосинтез и процессинг коллагена (гидроксилирование, ограниченный протеолиз, гликозилирование). Роль аскорбиновой кислоты в процессинге коллагена. Катаболизм коллагена.

1.3.2. Эластиновые волокна. Особенности аминокислотного состава, первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур. Строение десмозина и изодесмозина, их роль в образовании эластичных волокон. Метаболизм (синтез и распад) эластиновых волокон.

1.3.3. Строение ретикулиновых волокон. ГАГ. Строение, свойства и функциональная роль. Метаболизм ГАГ и факторы, влияющие на метаболизм ГАГ (инсулин, витамин А, соматотропин).

1.4. Структурная организация межклеточного матрикса. Неколлагеновые структурные гликопротеиды — фибронектин, его строение, свойства и функциональная роль. Базальная мембрана, ее строение, свойства и функциональная роль.

1.4.1. Протеогликаны, строение, свойства, роль в поддержании тургора тканей, балансе катионов, воды, обмене биологически активных веществ и др.

1.5. Хрящевая ткань, химический состав и особенности метаболизма.

1.6. Костная ткань, химический состав, структура и формирование кости. Метаболизм костной ткани и факторы, влияющие на ее метаболизм (витамин D, кальцитонин, паратгормон, витамин A, инсулин, соматотропин). Механизм минерализации кости.

1.7. Зубы, химический состав и особенности метаболизма. Механизм развития кариеса.

1.8. Изменение СТ при старении, заживлении ран, гиповитаминозе С, коллагенозах, синдроме Элерса–Данлоса–Черногубова и латиризме.

## 2. Практическая часть

2.1. Решение задач.

2.2. Лабораторные работы.

2.3. Проведение контроля конечного уровня знаний.

### Задачи

1. Какой протеогликан распространен в базальной мембране?

*Варианты ответа:*

- |                |                |
|----------------|----------------|
| а) агрекан;    | г) перлекан;   |
| б) бетагликан; | д) серглицин;  |
| в) декорин;    | е) синдекан-1. |

2. Какой из протеогликанов локализуется в хряще?

*Варианты ответа:*

- |                |                |
|----------------|----------------|
| а) агрекан;    | г) перлекан;   |
| б) бетагликан; | д) серглицин;  |
| в) декорин;    | е) синдекан-1. |

3. Поперечные связи в форме десмозина и изодесмозина встречаются в:

*Варианты ответа:*

- |               |                  |
|---------------|------------------|
| а) коллагене; | г) фибронектине; |
| б) эластине;  | д) тенасцине;    |
| в) ламинине;  | е) фибриллине.   |

4. Коллаген базальной мембраны относится к типу:

*Варианты ответа:*

- а) фибрилформирующих коллагенов;
- б) фибрилассоциируемых коллагенов;
- в) сеть-формирующих коллагенов.

5. Какие аминокислоты образуют RGD домен фибронектина?

*Варианты ответа:*

- |                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| а) гли-про-о-про; | г) арг-гли-асп; |
| б) про-гис-глу;   | д) арг-глу-асн. |
| в) тре-глин-орн;  |                 |

6. С какими структурами способен связываться N-концевой домен фибронектина?

*Варианты ответа:*

- |                |                |
|----------------|----------------|
| а) коллагеном; | д) эластином;  |
| б) фибрином;   | е) десмозином; |
| в) клетками;   | ж) ламинином.  |
| г) гепарином;  |                |

7. Мутация какого белка приводит к синдрому Марфана?

*Варианты ответа:*

- |                |                |
|----------------|----------------|
| а) коллагена;  | д) ламинина;   |
| б) тенасцина;  | е) дистрофина; |
| в) фибрина;    | ж) эластина.   |
| г) фибриллина; |                |

8. Нарушение структуры какого белка наблюдается у пациентов с синдромом Менкеса (нарушение всасывания меди)?

*Варианты ответа:*

- |                |                |
|----------------|----------------|
| а) коллагена;  | д) ламинина;   |
| б) тенасцина;  | е) дистрофина; |
| в) фибрина;    | ж) эластина.   |
| г) фибриллина; |                |

9. Основной неколлагеновый гликопротеин базальных мембран, состоящий из трех полипептидных цепей:

*Варианты ответа:*

- |               |               |
|---------------|---------------|
| а) коллаген;  | д) ламинин;   |
| б) тенасцин;  | е) дистрофин; |
| в) фибрин;    | ж) эластин.   |
| г) фибриллин; |               |

## Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1. Определение неорганического фосфора в моче по реакции с малахитовым зеленым.

*Принцип метода.* Реактив для определения неорганического фосфора (раствор красителя) включает в себя молибдат аммония, краситель малахитовый зеленый и соляную кислоту. Неорганический фосфор образует с молибденовой кислотой фосфорно-молибденовую кислоту, которая реагирует с малахитовым зеленым с образованием комплекса зеленого цвета, стабилизированного в растворе наличием детергента. Оптическая плотность комплекса при 630 нм пропорциональна концентрации неорганического фосфора.

*Ход работы.* Образец мочи перед употреблением разводят дистиллированной водой в соотношении 1:10 (таблица 26).

Таблица 26 — Приготовление проб

Реактивы	Опыт, мл
Рабочий реагент детергента	1,00
Раствор красителя	1,00
Разведенная моча	0,01

Перемешать, через 10 мин определить экстинкцию опытной пробы на ФЭКе при длине волны 630 нм в кюветах на 0,5 см против дистиллированной воды.

*Расчет.* Проводят по калибровочному графику, полученный результат умножают на разведение.

*Норма:* концентрация неорганического фосфора в моче 25–48 ммоль/сут.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Лабораторная работа № 2. Модифицированный метод количественного определения сиаловых кислот в сыворотке крови.**

*Принцип метода.* Метод основан на том, что при добавлении ТХУ к сыворотке крови происходит мягкий гидролиз гликопротеидов, приводящий к отщеплению сиаловых кислот, которые вступают в реакцию с уксусно-сернокислым реагентом с образованием окрашенного соединения буровато-розового цвета. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации сиаловых кислот.

#### *Ход работы*

1-й этап — гидролиз гликопротеидов. В сухую центрифужную пробирку отмеривают 1 мл сыворотки крови и прибавляют 1 мл 10 %-ного раствора ТХУ. Смесь перемешивают, пробирку закрывают фольгой и помещают в кипящую баню точно на 5 мин для выделения сиаловых кислот в свободном виде. Вынув из бани, пробирку охлаждают в холодной воде со льдом. Смесь центрифугируют или очень аккуратно фильтруют, сливая раствор по стеклянной палочке на маленький бумажный фильтр. Если проводили центрифугирование, то надосадочную жидкость сливают в сухую пробирку.

2-й этап — проведение цветной реакции. В одну пробирку (опытную) отмеривают 0,4 мл супернатанта или фильтрата, в другую (контрольную) — 0,4 мл дистиллированной воды. В обе пробирки добавляют по 5 мл уксусно-сернокислого реактива, закрывают фольгой и помещают на 30 мин в кипящую баню. После этого пробирки охлаждают и колориметрируют на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром (длина волны — 540 нм) в кюветах толщиной слоя 10 мм против контрольной пробы. Зная оптическую плотность испытуемого раствора, по калибровочной кривой определяют концентрацию сиаловых кислот.

Калибровочную кривую строят с пробами, содержащими 0,05; 0,1; 0,2 и 0,3 мл стандартного раствора сиаловой кислоты (0,5 мг в 1 мл).

Общий объем пробы при построении калибровочного графика доводят дистиллированной водой до 0,4 мл. Затем добавляют во все пробирки по 5 мл уксусно-сернокислого реактива, перемешивают и прodelьывают все операции, описанные выше. При построении графика на оси ординат откладывают значения оптической плотности, а на оси абсцисс — содержание сиаловых кислот в пробах.

*Клинико-диагностическое значение.* Сиаловые кислоты, или N-ацетилпроизводные нейраминовой кислоты, играют важную роль в организме, прежде всего, как структурные блоки гликопротеидов, являясь концевыми остатками их полисахаридных цепей. Гликопротеины выполняют в организме также опорную, защитную, рецепторную и иммунную функции.

При патологических состояниях организма содержание гликопротеинов существенно изменяется. Особенно заметны эти изменения при воспалительных процессах, сопровождающихся разрушением СТ, — ревматизме, коллагенозах, некоторых формах новообразований и др. В этих случаях уровень сиаловых кислот в тканях и сыворотке крови резко возрастает и может служить диагностическим тестом для оценки активности патологического процесса.

В норме содержание сиаловых кислот в сыворотке крови составляет в среднем 0,62–0,73 г/л (62–73 мг/дл).

*Оформление работы.* Дают клинико-диагностическую оценку полученных результатов, отмечают клиническое значение определения сиаловых кислот.

*Выводы.* Записать полученный результат и дать его клинико-диагностическую оценку.

### **Рекомендуемая литература**

#### *Основная*

1. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. — Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2008. — С. 625–636.
2. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — С. 687–720.
3. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — С. 432–451.
4. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри [и др.]; пер. с англ. — М.: Мир, 2004. — Т. 2. — С. 311–318, 347–351.

#### *Дополнительная*

5. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М.: Медицина, 1998. — С. 661–678.
6. Молекулярная биология клетки: в 3 т. / Б. Албертс [и др.]. — М.: Мир, 1994. — Т. 3. — С. 287–381.

## ЗАНЯТИЕ 35.

### КОНТРОЛЬНОЕ ЗАНЯТИЕ ПО РАЗДЕЛУ «БИОХИМИЯ ОРГАНОВ И СИСТЕМ»

**Цель занятия:** контроль усвоения тем раздела.

#### ***Контрольные вопросы***

1. Кровь, ее функции. Основные физико-химические константы крови (рН, рСО<sub>2</sub>, рО<sub>2</sub>, плотность, осмолярность). Содержание общих липидов, триацилглицеролов, ХС, глюкозы, белка, мочевины, мочевой кислоты, натрия, калия, кальция, хлора, магния, бикарбонатов в норме и при патологии. Их изменения при патологии.

2. Белки плазмы крови, их классификация. Характеристика отдельных представителей. Методы фракционирования. Изменение белкового спектра при патологии.

3. Основные небелковые компоненты крови. Остаточный азот, его состав, происхождение и диагностическое значение.

4. Понятие о КОС. Принципы регуляции КОС. Механизмы регуляции КОС: физико-химические, физиологические. Классификация нарушений КОС.

5. Причины и механизм развития метаболического ацидоза и алкалоза.

6. Причины и механизм развития респираторного ацидоза и алкалоза.

7. Физико-химические и физиологические механизмы коррекции нарушений КОС.

8. Лабораторная диагностика и оценка нарушений КОС (показатели КОС, электролиты крови, рН мочи) на примере метаболического и респираторного ацидоза.

9. Общая характеристика эритроцита. Особенности метаболизма. Минеральный состав эритроцитов.

10. Характеристика мембран эритроцитов. АОЗ. Глутатион, его строение, функции.

11. Hb, его строение, свойства. Производные Hb, виды Hb. Аномальные Hb. Сравнительная характеристика Hb и миоглобина.

12. Дыхательная функция крови, ее регуляция. Роль 2,3-ДФГК. Виды гипоксии, аноксия. Нарушение обмена при гипоксии.

13. Обмен хромопротеидов. Переваривание и всасывание.

14. Биосинтез гема (до порфобилиногена), его регуляция. Порфирии, гемоглобинопатии, талласемии.

15. Распад Hb в клетках РЭС и обмен билирубина в печени. Превращение билирубина в ЖКТ.

16. Лабораторная диагностика желтух: гемолитической, паренхиматозной и обтурационной.

17. Метаболизм железа (всасывание, транспорт в крови, депонирование). Нарушения, причины, последствия.

18. Особенности метаболизма лейкоцитов. Биохимическая основа фагоцитоза. Респираторный взрыв.

19. Особенности метаболизма тромбоцитов.
20. Строение и особенности кровоснабжения нефрона. Механизм и биохимические основы образования мочи: фильтрация, реабсорбция, секреция.
21. Нарушение процессов фильтрации, реабсорбции, секреции и их лабораторная диагностика.
22. Механизм активного транспорта в канальцах глюкозы, аминокислот.
23. Общие свойства мочи в норме и при патологии (суточное количество, цвет, прозрачность, удельный вес, рН и др.).
24. Органические компоненты мочи (мочевина, мочевая кислота, аминокислоты, креатин, креатинин, гормоны); неорганические ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_3^+$ , фосфаты, сульфиты,  $\text{HCO}_3^-$ ) в норме и при патологии.
25. Патологические компоненты мочи (кровь, белок, сахар, билирубин). Причины их появления и диагностическое значение.
26. Клиренс в норме и при патологии. Его диагностическое значение.
27. Гомеостатическая функция почек. Роль почек и механизм регуляции:
  - ОЦК и артериального давления;
  - баланса электролитов;
  - КОС (механизмы ацидо- и аммиониогенеза);
  - уровня глюкозы в крови (особенности ГНГ в почках);
  - уровня биологически активных веществ;
  - эритропоэза.
28. Метаболическая гетерогенность почечной ткани. Особенности липидного, углеводного и белкового обмена почечной ткани.
29. Нарушение обмена при острой и хронической почечной недостаточности.
30. Почечные камни, их состав, причины и механизм возникновения.
31. Клеточный состав печени. Особенности метаболизма гепатоцитов. Метаболическая гетерогенность гепатоцитов.
32. Печень как главный орган гомеостаза. Особенности липидного, углеводного и белкового обмена печени.
33. Роль печени в углеводном обмене. Функциональные пробы, характеризующие роль печени в углеводном обмене.
34. Роль печени в липидном обмене. Механизм развития жировой инфильтрации и дегенерации печени. Функциональные пробы, характеризующие роль печени в липидном обмене.
35. Роль печени в азотистом обмене. Механизм развития печеночной комы.
36. Функциональные пробы, характеризующие роль печени в азотистом обмене.
37. Роль печени в регуляции КОС.
38. Роль печени в регуляции гормонального гомеостаза и уровня биологически активных веществ. Функциональные пробы, характеризующие эту роль.
39. Основные этапы и пути метаболизма ксенобиотиков (характеристика и роль цит Р-450).

40. Пробы на детоксикацию.
41. Энзимодиагностика гепатоцеллюлярных заболеваний печени и холестаза.
42. Общая характеристика метаболизма мышечной ткани.
43. Особенности метаболизма мышечной ткани, характеризующие ее относительную автономию.
44. Структурно-функциональная характеристика мышечных волокон (белые, красные)
45. Система стабилизации [АТФ] в мышечной и нервной тканях.
46. Характеристика и роль специфических белков мышечной ткани (актин G, F, миозин, актомиозин, тропомиозин, тропонины T, C, I и др.).
47. Роль мышечной ткани в межорганном обмене субстратами (циклы Кори, Фелига, б/с креатина).
48. Теория мышечного сокращения (механизм электромеханического сопряжения).
49. Особенности сокращения гладкой мускулатуры.
50. Особенности метаболизма миокарда.
51. Биохимические механизмы развития сердечной недостаточности.
52. Биохимическое обоснование лечения сердечной недостаточности. Механизм действия сердечных гликозидов и др. кардиотропных средств.
53. Ограничение двигательной активности (гипокинезия). Основные элементы патогенеза гипокинетического синдрома.
54. Понятие о гематоэнцефалическом барьере.
55. Общая характеристика химического состава и метаболизма мозга.
56. Особенности метаболизма нервной системы (углеводный, липидный, белковый).
57. Нейромедиаторы, их характеристика и метаболизм.
58. Биохимические механизмы электрогенеза в нервной ткани.
59. Механизм синаптической передачи, роль мембран, рецепторов, ферментов и медиаторов. Синтез биогенных аминов, ГАМК, ГОМК и др.
60. Особенности метаболизма мозга при гипоксии.
61. Биохимические механизмы действия на мозг алкоголя, наркотиков (апиоиды, кокаин, ЛСД-25 и др.) и гидрофобных токсических соединений.
62. Биохимические механизмы развития алкоголизма, наркомании и токсикомании.
63. Общая характеристика и особенности строения соединительной ткани (СТ).
64. Общая характеристика и особенности метаболизма клеточных элементов СТ.
65. Характеристика волокнистых структур СТ. Особенности строения и метаболизма коллагена и эластина. Процессинг коллагена в норме и при патологии.
66. Схема биосинтеза гликозамингликанов, их функциональная роль.
67. Строение и функции протеогликанов.
68. Структурная организация межклеточного матрикса.



69. Неколлагеновые структурные гликопротеиды — фибронектин, его строение, свойства и функциональная роль.

70. Базальная мембрана, ее строение, свойства и функциональная роль.

71. Хрящевая ткань, химический состав и особенности метаболизма.

72. Химический состав, структура и формирование костной ткани.

73. Метаболизм кости и факторы, влияющие на него (витамин D, кальцитонин, паратгормон, соматотропин, эстрогены, андрогены и др.).  
Механизм минерализации кости.

74. Зубы, химический состав и особенности метаболизма. Механизм развития кариеса.

75. Изменение СТ при старении, коллагенозах, заживлении ран. СТ при недостаточности витамина С.

## ЗАНЯТИЕ 36.

### ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ СЕМЕСТРА. КОНТРОЛЬ ПО ПРАКТИЧЕСКИМ НАВЫКАМ

**Цель занятия:** контроль усвоения материала, изученного во втором семестре. Проверка практических навыков выполнения лабораторных работ.

#### **НЕОБХОДИМО ЗНАТЬ:**

- принцип метода;
  - основные этапы выполнения работы, их смысл;
  - нормальные величины изучаемого показателя;
  - его клинико-диагностическое значение.
1. Определение активности амилазы мочи по Вольгемуту.
  2. Определение концентрации глюкозы в слюне энзиматическим колориметрическим методом.
  3. Эмульгирование жира, механизм.
  4. Анализ желудочного сока.
  5. Определение общего белка рефрактометрическим методом в сыворотке крови.
  6. Определение активности АлАТ в сыворотке крови унифицированным методом Райтмана–Френкеля.
  7. Определение витамина С в моче.
  8. Определение концентрации Нв в крови унифицированным колориметрическим методом.
  9. Титрометрический метод определения «щелочного» запаса крови.
  10. Определение кальция в моче по методу Сулковича.
  11. Анализ мочи с помощью тест-полосок.
  12. Определение активности АсАТ в сыворотке крови унифицированным методом Райтмана–Френкеля.
  13. Определение креатинина в моче кинетическим методом.
  14. Определение кальция в сыворотке крови колориметрическим методом.

## ОТВЕТЫ К ЗАДАЧАМ

*Занятие 1. Введение в биохимию. Современные биохимические методы исследования*

1) г, д; 2) в; 3) 1 моль; 4) из-за гетерогенности белков сыворотки крови.

*Занятие 2. Строение и функции белков*

1) г; 2) в; 3) сер, тре, тир, асп, глу; 4) арг, лиз; 5) в.

*Занятие 3. Ферменты-1. Строение и функции белков. Строение, свойства, номенклатура и классификация ферментов*

1) а, в, г; 2) а, б, г; 3) г; 4) а, б, г; 5) в; 6) б; 7) а; 8) б; 9) а.

*Занятие 4. Ферменты-2. Механизм действия ферментов*

1) в; 2) а; 3) б; 4) а; 5) г; 6) а; 7) г; 8) а.

*Занятие 5. Ферменты-3. Медицинская энзимология*

1) б; 2) а; 3) е; 4) в; 5) д; 6) д; 7) а.

*Занятие 6. Биологическое окисление-1.*

1) а; 2) в; 3) а; 4) б; 5) д; 6) в; 7) а; 8) б; 9) д; 10) г.

*Занятие 7. Биологическое окисление-1. Цикл Кребса. Пути потребления кислорода в организме*

1) г; 2) б; 3) а; 4) б; 5) б; 6) а; 7) б; 8) в; 9) г; 10) а; 11) г; 12) г; 13) а; 14) б; 15) б.

*Занятие 9. Углеводы-1. Химия углеводов. Переваривание и всасывание. Метаболизм гликогена, фруктозы и галактозы*

1) д; 2) в; 3) а; 4) а; 5) д; 6) в; 7) г, ж, д, а, в, б, е.

*Занятие 10. Углеводы-2. Тканевой обмен углеводов. Анаэробный и аэробный гликолиз*

1) а; 2) в; 3) д; 4) г; 5) д; 6) б; 7) а, г; 8) б, в, ж, з, к; 9) а, б, г.

*Занятие 11. Углеводы-3. Тканевой обмен углеводов. Глюконеогенез. Пентозофосфатный путь. Регуляция уровня глюкозы в крови*

1) д; 2) а, в; 3) а; 4) а, ж, в, б, з, г, е, д, и; 5) а, ж; 6) а, б, д; 7) б; 8) а, е; 9) ж; 10) а, ж.

*Занятие 12. Углеводы-4. Патология углеводного обмена*

1) в; 2) е; 3) ж; 4) а; 5) а; 6) д; 7) б; 8) е; 9) г; 10) б.

*Занятие 14. Липиды-1. Классификация, биологические функции. Переваривание и всасывание. Обмен липопротеидов*

1) а, в; 2) б, в; 3) г; 4) а, б, ж; 5) б; 6) б, в, е; 7) б, г, д, е; 8) б, в, д; 9) г, д; 10) а, в; 11) б, е.

*Занятие 15. Липиды-2. Тканевой обмен липидов. Катаболизм триацилглицеролов. Метаболизм кетоновых тел*

1) б, в; 2) а; 3) б; 4) в; 5) а; 6) б; 7) г; 8) б; 9) б, г, д.

*Занятие 16. Липиды-3. Биосинтез липидов. Регуляция и патология липидного обмена*

1) г; 2) б; 3) в; 4) г; 5) а; 6) в, д, е; 7) а; 8) а, б.

*Занятие 19. Белки-1. переваривание и всасывание белков*

1) б, г; 2) а, б, д; 3) б, д; 4) б, в; 5) а, б, г, д; 6) в, д; 7) а, г; 8) в, г; 9) а, в; 10) б, в, д.

*Занятие 20. Белки-2. Тканевый обмен аминокислот. Обезвреживание продуктов обмена*

1) в, д; 2) а, б, в; 3) а, б, д; 4) а, д; 5) б, в; 6) г; 7) б, г, д; 8) б, в, г; 9) а; 10) а, в, г.

*Занятие 21. Белки-3. Особенности обмена отдельных Аминокислот в норме и при патологии*

1) д; 2) а, б, в, г, д; 3) а, д; 4) б; 5) в; 6) б, г; 7) в; 8) а, г, е.

*Занятие 22. Белки-4. Нуклеопротеиды. Структура и функции информационных макромолекул*

1) а, в; 2) а, б, в, г, д; 3) а, д; 4) б; 5) в; 6) б, г; 7) в; 8) а, г, е.

*Занятие 23. Белки-5. Биосинтез белка. Регуляция биосинтеза. Патология белкового обмена*

1) а, г; 2) а, б, д; 3) а, б, г; 4) а, б, в, д; 5) а, б, г; 6) а; 7) б; 8) б.

*Занятие 24. Витамины*

1) а; 2) г; 3) а; 4) в; 5) б; 6) а; 7) б; 8) г, д; 9) в.

*Занятие 25. Гормоны-1. Общая эндокринология. Механизм действия гормонов*

1) а; 2) в; 3) а; 4) в; 5) б; 6) б; 7) а; 8) а; 9) д, е; 10) а, д, е.

*Занятие 26. Гормоны-2. Частная эндокринология. Гормоны эндокринных желез*

1) б; 2) а; 3) б; 4) б; 5) е; 6) г; 7) в; 8) а, д; 9) в; 10) г.

*Занятие 28. Кровь-1. Основы регуляции. Кислотно-основного состояния. Белки крови*

1) а, в; 2) а, б, г, д; 3) а, б; 4) а, б; 5) б, г; 6) а, в; 7) а, г; 8) в; 9) б; 10) б.

*Занятие 29. Кровь-2. Обмен гемоглобина*

1) б, в; 2) а, в, д; 3) а, д; 4) а, в, г; 5) а, в, г, е, ж; 6) в; 7) б; 8) а; 9) в, г; 10) д.

*Занятие 30. Биохимия почек в норме и при патологии*

1) а, б, в, г, д, е, к; 2) а, б, в, г, д, е, ж; 3) ?; 4) а, б, в, г, д; 5) а, б, в, г, д, - е и, ж -?; 6) а, б, в, г, д, е, ж; 7) а, б, в, г, д, е, ж; 8) а, б, в, г, д, е

*Занятие 31. Биохимия печени. Обмен ксенобиотиков*

1) а, б, в, г, д, е; 2) а, б, в, ж; 3) а; в, г, д, з, и; 4) а, б, в, д; 5) а, б, в, г, д, е; 6) а, б, в, г; 7) а, б, в, д, е, з; 8) а, б, в, г, д, ж, з, и.

*Занятие 32. Биохимия мышечной ткани и миокарда*

1) д; 2) г, д; 3) б, г; 4) а, в, з; 5) а, б, в, г, д; 6) б, е; 7) в, г; 8) ж, к; 9) е, и; 10) б; 11) а; 12) б, в, ж, к.

*Занятие 33. Биохимия нервной системы (миокард)*

1) д; 2) а, в; 3) б; 4) б, е; 5) б, в, е; 6) а; 7) ж; 8) б.

*Занятие 34. Биохимия соединительной ткани*

1) г; 2) а; 3) б; 4) в; 5) г; 6) б, г; 7) г; 8) ж; 9) д.

## СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ<sup>3</sup>

**Аденозиндифосфат (АДР).** Рибонуклеозид-5'-дифосфат, выполняющий роль акцептора фосфатной группы в энергетическом цикле клетки.

**Аденозинтрифосфат (АТР).** Рибонуклеозид-5'-трифосфат, участвующий в энергетическом цикле клетки в качестве донора фосфатной группы.

**Активный центр.** Участок поверхности фермента, в котором молекула субстрата связывается и претерпевает превращения.

**Актин.** Белок, из которого состоят тонкие нити мышечных клеток; он присутствует также в большинстве других животных клеток.

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

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

**Аминокислоты.** Карбоновые кислоты с аминогруппой в  $\alpha$ -положении, составные элементы белков.

**Аминотрансферазы.** Группа ферментов, катализирующих перенос аминогрупп от одного метаболита к другому; их называют также трансаминазами.

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

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

**АТРаза (АТФаза).** Фермент, гидролизующий АТР до АДР и фосфата; его действие обычно сопряжено с процессами, требующими затрат энергии.

**АТР-синтетаза.** Ферментный комплекс, синтезирующий АТР из АДР и фосфата в ходе окислительного фосфорилирования на внутренней мембране митохондрий.

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

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

**Белки плазмы.** Белки, присутствующие в плазме крови.

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

---

<sup>3</sup> Ленинджер, А. Основы биохимии: в 3 т. / А. Ленинджер; пер. с англ. — М.: Мир, 1985. — Т. 3. — 320 с.

**Бислой.** Двойной слой ориентированных амфипатических липидных молекул; углеводородные хвосты обращены внутрь бислоя и образуют непрерывную неполярную фазу.

**Буфер.** Система, способная сопротивляться изменениям рН и состоящая из сопряженной кислотно-основной пары, в которой отношение акцептора к донору протонов равно приблизительно единице.

**Вирус.** Самореплицирующийся инфекционный комплекс нуклеиновой кислоты и белка, содержащий ДНК- или РНК-хромосому и требующий для своей репликации интактную клетку-хозяина.

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

**Водородная связь.** Сравнительно слабое электростатическое притяжение между электроотрицательным атомом и атомом водорода, ковалентно связанным с другим электроотрицательным атомом.

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

**Восстанавливающий агент (восстановитель).** Донор электронов в окислительно-восстановительной реакции.

**Восстановление.** Приобретение соединением электронов.

**Всасывание.** Поступление продуктов пищеварения из кишечника в кровь.

**Вторичная структура белка.** Регулярная конформация остова полипептидной цепи.

**Второй закон термодинамики.** Закон, согласно которому при любом химическом или физическом процессе энтропия Вселенной возрастает.

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

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

**Гексоза.** Простой сахар, линейный остов которого состоит из шести атомов углерода.

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

**Гем.** Железопорфириновая простетическая группа гемопротеинов.

**Гемоглобин.** Гемсодержащий белок красных кровяных клеток (эритроцитов), принимающий участие в переносе  $O_2$ .

**Ген.** Участок хромосомы, который кодирует одну или несколько полипептидных цепей или молекулу РНК.

**Генетическая информация.** Наследственная информация, содержащаяся в нуклеотидной последовательности хромосомной ДНК или РНК.

**Генетический код.** Набор кодовых слов (триплетов) в ДНК, кодирующих аминокислоты белков. Геном. Совокупность всех генов организма.

**Гидролиз.** Расщепление молекулы на две или несколько меньших молекул в реакции с водой.

**Гидрофильный.** «Водолюбивый»; так говорят о полярных или заряженных молекулах либо о группах, которые ассоциируются с водой.

**Гидрофобный.** «Ненавидящий воду»; так говорят о неполярных молекулах или группах, которые не растворимы в воде.

**Гидрофобные взаимодействия.** Связывание неполярных групп друг с другом в водных системах, обусловленное стремлением молекул окружающей воды достичь наиболее стабильного состояния.

**Гиперхромный эффект.** Значительное увеличение поглощения света веществом при изменении его структуры. Этот эффект при 260 нм наблюдается, в частности, при плавлении двухцепочечной ДНК.

**Гистоны.** Группа основных белков, связанных с хромосомами эукариотических клеток.

**Гликолиз.** Тип брожения, при котором глюкоза расщепляется на две молекулы пирувата.

**Глобулярный белок.** Растворимый белок, полипептидная цепь которого плотно свернута в пространстве с образованием глобулы.

**Глюкогенные аминокислоты.** Аминокислоты, углеродная цепь которых может быть превращена в процессе метаболизма в глюкозу или гликоген.

**Глюконеогенез.** Биосинтез новых углеводов из неуглеводных предшественников.

**Гормон.** Химическое вещество, которое синтезируется в следовых количествах эндокринной тканью и выполняет роль посредника в регулировании функции другой ткани или органа.

**Дальтон.** Вес одного атома водорода ( $1,66 \times 10^{-24}$  г).

**Дегидрогеназы.** Ферменты, катализирующие удаление из субстрата двух атомов водорода.

**Дезаминирование.** Ферментативное удаление аминогрупп из аминокислот.

**Дезоксирибонуклеотиды.** Нуклеотиды, содержащие в качестве пентозного компонента 2-дезокси-О-рибозу.

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

**Денатурированный белок.** Белок, утративший свою природную конформацию под воздействием какого-либо стабилизирующего фактора, например при нагревании.

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

**Диализ.** Удаление молекул малого размера из раствора макромолекул за счет диффузии первых в воду через полупроницаемую мембрану.

**Дисахариды.** Углеводы, состоящие из двух ковалентно соединенных моносахаридных единиц.

**Дисульфидный мостик.** Ковалентная поперечная связь, образующаяся между цистеиновыми остатками двух полипептидных цепей.

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

**Диффузия.** Стремление молекул двигаться в направлении более низкой концентрации.

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

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

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

**ДНК-репликационная система.** Полный набор ферментов и специализированных белков, необходимых для репликации ДНК.

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

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

**Жирная кислота.** Алифатическая кислота с длинной углеродной цепью, остатки которой содержатся в природных жирах и маслах.

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

**Зимоген.** Неактивный предшественник фермента; например, пепсиноген.

**Изозимы (изоферменты).** Множественные формы фермента, отличающиеся друг от друга по сродству к субстрату, по максимальной активности или по регуляторным свойствам.

**Изомераза.** Фермент, катализирующий превращение соединения в его структурный изомер.

**Изопрен.** Углеводород 2-метил-1,3-бутадиен; повторяющаяся структурная единица биомолекул терпеноидов.

**Иммуноглобулин.** Белок, являющийся антителом, вырабатываемым к специфическому антигену.



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

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

**Индукцибельный фермент.** Фермент, который не вырабатывается клеткой (т. е. его синтез подавлен) до тех пор, пока его синтез не индуцируется своим субстратом или другим близкородственным соединением.

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

**Иницирующий кодон.** Триплет AUG, кодирующий первую аминокислоту в полипептидной цепи, которой у прокариот является N-формилметионин, а у эукариот — метионин.

**Иницирующий комплекс.** Комплекс рибосомы с мРНК и иницирующей Met-тРНК<sup>Met</sup> или Met-тРНК<sup>fMet</sup>, готовый для элонгации.

**Интеркалирующий мутаген.** Мутаген, который встраивается между двумя соседними нуклеотидами и вызывает мутацию со сдвигом рамки.

**Интерферон.** Белок, вырабатываемый зараженными вирусом клетками позвоночных и препятствующий заражению этих клеток вирусами другого вида.

**Интрон.** Вставочная последовательность в гене; она транскрибируется, но вырезается до процесса трансляции.

**Информационные молекулы.** Макромолекулы, несущие информацию в форме специфической последовательности различных строительных блоков, к ним относятся, в частности, белки и нуклеиновые кислоты.

**Ионизирующее излучение.** Вид излучения, например рентгеновские лучи, под действием которого из ряда органических молекул выбиваются электроны, в результате чего повышается реакционная способность этих молекул.

**Канцероген.** Химический агент, вызывающий рак.

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

**Каталитический центр.** Участок молекулы фермента, вовлеченный в каталитический процесс.

**Катехоламины.** Гормоны типа адреналина, представляющие собой аминокислотные производные катехола.

**Кетогенные аминокислоты.** Аминокислоты, углеродный скелет которых может служить предшественником кетонных тел.

**Кетоз (кетозидоз).** Состояние, при котором концентрация кетонных тел в крови, тканях и моче аномально высока.

**Кетонные тела.** Продукты неполного окисления жирных кислот — ацетоацетат, D-β-гидроксибутират и ацетон.

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

**Кислые мукополисахариды.** Кислые полисахариды, обнаруженные в слизистых выделениях и в межклеточном пространстве высших животных.

**Ковалентная связь.** Химическая связь, образованная общей электронной парой.

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

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

**Константа диссоциации.** Константа равновесия для диссоциации соединения на два компонента, например, диссоциации кислоты на анион и протон.

**Константа Михаэлиса ( $K_M$ ).** Концентрация субстрата, при которой скорость ферментативной реакции равна половине ее максимальной скорости.

**Константа равновесия.** Характерная для каждой химической реакции константа, устанавливающая связь между концентрациями всех реагирующих веществ и продуктов реакции в точке равновесия при определенных температуре и давлении.

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

**Конфигурация.** Взаимное расположение в пространстве замещающих групп относительно асимметрического атома углерода.

**Конформация.** Трехмерная структура макромолекулы.

**Кортикостероиды.** Стероидные гормоны, вырабатываемые корой надпочечников.

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

**Кофермент.** Кофактор органической природы, необходимый для действия определенных ферментов; часто в качестве составной части содержит витамин.

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

**Коэффициент седиментации.** Физическая константа, определяющая скорость осаждения частицы в центрифуге при заданных условиях.

**Кривая титрования.** Кривая, характеризующая зависимость рН от числа эквивалентов основания, добавляемых при титровании кислоты.

**Лиганд.** Молекула или ион, которые связываются с белком.

**Лизосома.** Окруженная мембраной органелла в цитоплазме эукариотических клеток, содержащая большое число гидролитических ферментов.

**Липиды.** Гетерогенная группа соединений, непосредственно или опосредованно связанных с жирными кислотами. Их общим свойством является: 1) относительная нерастворимость в воде; 2) растворимость в неполярных растворителях — эфире, хлороформе, бензоле. К липидам относятся жиры, масла, воска и родственные соединения.

**Липкий конец.** Свободный одноцепочечный конец двухцепочечной ДНК, комплементарный одноцепочечному концу противоположной полярности этой же или другой молекулы ДНК.

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

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

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

**Межклеточное вещество.** Коллоидальный гидратированный полисахаридный комплекс, присутствующий в пространстве между клетками животных тканей.

**Мембранный транспорт.** Перенос растворенного вещества через мембрану, осуществляемый обычно с помощью особого белка мембраны.

**Метаболизм.** Полная совокупность катализируемых ферментами превращений органических молекул питательных веществ в живых клетках.

**Метаболит.** Промежуточный продукт (химический интермедиат) в катализируемых ферментами реакциях метаболизма.

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

**Липопротейн.** Сложный белок, содержащий липид или группу липидов.

**Микроэлементы.** Химические элементы, необходимые организму лишь в следовых количествах.

**Миозин.** Мышечный белок, основной компонент толстых нитей сократительной системы.

**Миофибрилла.** Элементарная единица толстых и тонких нитей мышечных волокон.

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

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

**Моль.** Молекулярная масса соединения, выраженная в граммах.

**Молярный (М) раствор.** Раствор, в котором 1 моль вещества растворен в 1000 мл раствора.

**Моносахариды.** Углеводы, содержащие один остаток сахара.

**Монослой.** Одинарный слой ориентированных липидных молекул.

**Мукопротенны.** Сложные белки, содержащие кислый мукополисахарид; их называют также протеогликанами.

**Мультиферментная система.** Последовательность связанных между собой ферментов, участвующих в данном метаболическом пути.

**Мутаза.** Фермент, катализирующий перемещение функциональной группы внутри субстрата.

**Насыщенная жирная кислота.** Жирная кислота, содержащая полностью насыщенную алкильную цепь.

**Нативная конформация.** Биологически активная конформация белковой молекулы.

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

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

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

**Неконкурентное ингибирование.** Тип ингибирования ферментов, которое не снимается при повышении концентрации субстрата.

**Ненасыщенная жирная кислота.** Жирная кислота, содержащая одну или несколько двойных связей.

**Неполярная группа.** Гидрофобная группа, обычно углеводородная.

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

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

**Нуклеозид.** Соединение, состоящее из пуринового или пиримидинового основания, ковалентно связанного с пентозой.

**Нуклеозиддифосфатсахар.** Переносчик молекулы сахара, выполняющий роль кофермента в ферментативных реакциях синтеза полисахаридов и производных сахаров.

**Нуклеозиддифосфат-киназа.** Фермент, катализирующий перенос конечного фосфата с нуклеозид-5'-трифосфата на нуклеозид-5'-дифосфат.

**Нуклеотид.** Нуклеозид, фосфорилированный по одной из гидроксильных групп пентозы.

**Нуклеофильная группа.** Богатая электронами группа с сильно выраженной способностью отдавать электроны группам, испытывающим недостаток в электронах.

**Обратная транскриптаза.** Синтезируемая ретровирусами РНК-зависимая ДНК-полимераза, способная катализировать синтез ДНК, комплементарной РНК.

**Общий интермедиат.** Общее для двух химических реакций химическое соединение, являющееся продуктом одной из них и субстратом для другой.

**Окисление.** Потеря соединением электронов.

**$\beta$ -Окисление.** Окислительное расщепление жирных кислот с образованием ацетил-СоА за счет последовательных актов окисления  $\beta$ -углеродного атома.

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

**Окислительное фосфорилирование.** Ферментативное превращение ADP в АТР, сопряженное с переносом электронов от субстрата к молекулярному кислороду.

**Окисляющий агент (окислитель).** Акцептор электронов в окислительно-восстановительной реакции.

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

**Оксигеназы со смешанной функцией.** Ферменты, катализирующие одновременное окисление двух субстратов, одним из которых обычно служит NADPH или NADH

**Олигомерный белок.** Белок, состоящий из двух или нескольких полипептидных цепей.

**Олигосахарид.** Несколько моносахаридных групп, соединенных между собой гликозидными связями.

**Омыление.** Щелочной гидролиз триацилглицеролов с образованием жирных кислот в виде мыл.

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

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

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

**Оптическая активность.** Способность вещества вращать плоскость плоскополяризованного света.

**Осмотическое давление.** Давление, возникающее в результате осмотического тока воды через мембрану из одной водной фазы в другую с более высокой концентрацией растворенного вещества.

**Палиндром.** Участок ДНК, нуклеотидные последовательности двух цепей которого обладают осевой симметрией второго порядка относительно центра.

**Пара оснований.** Основания двух нуклеотидов, расположенные в разных цепях нуклеиновой кислоты и взаимодействующие друг с другом за счет водородных связей, например А–Т, А–U или G–C.

**Пентоза.** Простой сахар, остов которого содержит пять атомов углерода.

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

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

**Пептидаза.** Фермент, катализирующий гидролиз пептидной связи.

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

**Пептидная карта (фингерпринт).** Характерное для данного белка двумерное расположение пептидов, образующихся при его частичном гидролизе.

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

**Первый закон термодинамики.** Закон, согласно которому при протекании всех процессов общая энергия Вселенной остается постоянной.

**Перемещающийся элемент (транспозон).** Фрагмент ДНК, который может менять свое положение в геноме.

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

**Пираноза.** Простой сахар, содержащий шестичленное кольцо пирана.

**Пиридиндегидрогеназы.** Дегидрогеназы, коферментом которых служит один из пиридиновых коферментов — NAD или NADP.

**Пиридоксальфосфат.** Кофермент, содержащий витамин пиридоксин и участвующий в реакциях переноса аминокрупп.

**Пиримидин.** Азотсодержащее гетероциклическое основание, представляющее собой составную часть нуклеотида или нуклеиновой кислоты.

**Пирофосфатаза.** Фермент, гидролизующий неорганический пирофосфат с образованием двух молекул (орто) фосфата.

**Пищеварение.** Ферментативный гидролиз основных питательных веществ в желудочно-кишечном тракте с утилизацией получающихся при этом строительных блоков.

**Плазматическая мембрана.** Мембрана, непосредственно окружающая цитоплазму клетки.

**Полярная группа.** Гидрофильная, т.е. «водолюбивая», группа.

**Полипептид.** Длинная цепь аминокислот, соединенных пептидными связями.

**Полирибосома (полисома).** Комплекс молекулы мРНК с двумя или большим числом рибосом.

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

**Поляриметр.** Прибор для определения угла вращения плоскополяризованного света раствором.

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

**Полярность.** В биохимической генетике различие между 5'- и 3'-концами нуклеиновых кислот.

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

**Посттрансляционная модификация.** Ферментативное преобразование полипептидной цепи после ее синтеза на матрице мРНК.

**Прокариоты.** Простые одноклеточные организмы (например, бактерии), содержащие одну хромосому и не имеющие ядерной мембраны и связанных с мембраной органелл.

**Промежуточный метаболизм.** Ферментативные реакции клеток, в ходе которых химическая энергия извлекается из молекул питательных веществ и используется для синтеза и сборки компонентов клетки.

**Промотор.** Участок ДНК, с которым может связываться РНК-полимераза, иницируя тем самым транскрипцию.

**Простагландины.** Класс жирорастворимых гормоноподобных регуляторных молекул, являющихся производными арахидоновой кислоты и других полиненасыщенных жирных кислот.

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

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

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

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

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

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

**Пурамицин.** Антибиотик, который ингибирует полипептидный синтез, встраиваясь в полипептидную цепь и вызывая преждевременную терминацию синтеза.

**Разобщающий агент.** Вещество, которое разобщает процессы фосфорилирования ADP и транспорта электронов, например 2,4-динитрофенол.

**Регуляторная последовательность.** Нуклеотидная последовательность ДНК, регулирующая экспрессию гена, например промотор или оператор.

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

**Регуляторный фермент.** Фермент, обладающий регуляторной функцией благодаря его способности изменять свою каталитическую активность в результате нековалентного или ковалентного присоединения особого модулирующего метаболита.

**Ренатурация.** Сворачивание расплетенного (т. е. денатурированного) глобулярного белка.

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

**Репликация.** Синтез дочерней молекулы двухцепочечной ДНК, идентичной родительской двухцепочечной ДНК.

**Репрессия фермента.** Ингибирование синтеза фермента, обусловленное доступностью продукта этого фермента.

**Репрессор.** Белок, который связывается с регуляторной последовательностью (оператором) гена и блокирует его транскрипцию.

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

**Рецептор гормона.** Специфический участок на поверхности клетки или внутри нее, связывающий гормон.

**Рибонуклеаза.** Нуклеаза, катализирующая гидролитическое расщепление определенных межнуклеотидных связей в РНК.

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

**Рибосома.** Макромолекулярный комплекс диаметром ~20 нм, состоящий из рРНК и белков и являющийся местом белкового синтеза.

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

**Рилизинг-факторы (факторы терминации).** Входящие в состав цитозоля факторы белковой природы, необходимые для высвобождения готовой полипептидной цепи из рибосомы.

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



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

**Саркомер.** Функциональная и структурная единица мышечной сократительной системы.

**Сателлитная ДНК.** Высокоповторяющиеся нетранслируемые участки ДНК в эукариотических клетках.

**Сбраживание.** Анаэробное расщепление молекул питательного вещества, например глюкозы, сопровождающееся выделением энергии.

**Сведберг (S).** Единица скорости седиментации частицы в центрифуге.

**Сдвиг рамки.** Мутация, которая обусловлена вставкой или потерей одной или нескольких пар нуклеотидов; приводит к смещению рамки считывания кодонов при биосинтезе белка, в результате чего образующийся белок, начиная с кодона, подвергшегося изменению, имеет искаженную аминокислотную последовательность.

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

**Сигнальная последовательность.** 5'-лидерная аминокислотная последовательность полипептида, сигнализирующая о месте назначения новосинтезированного белка; с ее помощью белок проходит сквозь определенную мембрану.

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

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

**Сопряженные реакции.** Две химические реакции, имеющие общий интермедиат и обменивающиеся между собой энергией.

**$\alpha$ -Спираль.** Скрученная, спиральная конформация полипептидной цепи, характеризующаяся максимальным числом внутримолекулярных водородных связей; впервые была найдена в  $\alpha$ -кератинах.

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

**Спонтанный процесс.** Процесс, сопровождающийся увеличением энтропии во Вселенной.

**Стандартное состояние.** Наиболее стабильное состояние чистого вещества при 1 атм и 25 °С (298 К). Для реакций, протекающих в растворе, стандартное состояние растворенного вещества — это 1 М раствор.

**Стандартный восстановительный потенциал ( $E_0'$ ).** Электродвижущая сила, возникающая на электроде в присутствии 1 М концентрации

восстановителя и его окисленной формы при 25 °С и рН 7,0; является мерой относительной способности восстановителя отдавать электроны.

**Стереоизомеры.** Изомеры молекул, зеркальные изображения которых несовместимы друг с другом.

**Стероиды.** Класс липидов, содержащих циклопентанфенантроновую кольцевую структуру.

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

**Субстрат.** Определенное соединение, на которое действует фермент.

**Терминирующая последовательность.** Последовательность ДНК, которая находится на конце транскрипционной единицы и служит сигналом окончания транскрипции.

**Терминирующие кодоны.** Три кодона UAA, UAG и UGA, которые служат сигналами окончания синтеза полипептидной цепи.

**Терпен.** Углеводород или производное углеводорода, составленное из повторяющихся остатков изопрена.

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

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

**Тиоэфир.** Эфир, образованный карбоксильной группой и тиоловой группировкой или меркаптаном.

**Токоферолы.** Группа соединений, представляющих собой формы витамина Е.

**Токсины.** Белки, которые вырабатываются некоторыми организмами и являются ядовитыми для других видов.

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

**Трансаминазы.** Ферменты, катализирующие перенос аминокрупп от  $\alpha$ -аминокислот к  $\alpha$ -кетокислотам; их также называют аминотрансферазами.

**Трансаминирование.** Ферментативный перенос аминокруппы от  $\alpha$ -аминокислоты к  $\alpha$ -кетокислоте.

**Транскрипционный контроль.** Регуляция белкового синтеза при помощи регуляции образования мРНК.

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

**Транслоказа.** Фермент, вызывающий какое-либо движение, например перемещение рибосомы вдоль мРНК.

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

**Транспозиция.** Перемещение гена или группы генов из одного места генома в другое.

**Транспортная РНК (тРНК).** Класс молекул РНК (мол. масса 25000–30000), каждая из которых на первом этапе белкового синтеза ковалентно соединяется со специфической аминокислотой.

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

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

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

**Тропный гормон (тропин).** Пептидный гормон, действующий на железу-мишень и стимулирующий секрецию свойственного этой железе гормона; например, тиреотропин гипофиза вызывает секрецию в щитовидной железе тироксина.

**Углевод.** Альдегид или кетон, содержащий большое число гидроксильных групп.

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

**Ультрафиолетовое излучение.** Электромагнитное излучение в диапазоне длин волн 200–400 нм.

**Уравнение Гендерсона-Хассельбалха.** Уравнение, связывающее рН, рК' и отношение акцепторов (А<sup>-</sup>) и доноров протонов (НА).

**Уравнение Лаиннуивера-Берка.** Уравнение, полученное путем алгебраического преобразования уравнения Михаэлиса-Ментен, позволяющее более точно определить величины  $V_{max}$  и  $K_m$ .

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

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

**Факторы терминации.** См. Релизинг-факторы.

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

**Ферменты.** Белки, катализирующие различные метаболические реакции.

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

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

**Флавиндегидрогеназы.** Дегидрогеназы, содержащие в качестве кофермента FMN или FAD.

**Флавиномононуклеотид (FMN).** Рибофлавин-фосфат, кофермент ряда окислительно-восстановительных ферментов.

**Флавопротеин.** Белок, содержащий в качестве простетической группы флавиновый нуклеотид.

**Флуоресценция.** Испускание света молекулами, находящимися в возбужденном состоянии при возвращении их в основное состояние.

**Фосфодиэфир.** Молекула, содержащая два спиртовых остатка, соединенных эфирной связью с одной молекулой фосфорной кислоты, которая служит, таким образом, мостиком между ними.

**Фосфолипид.** Липид, содержащий одну или несколько фосфатных групп.

**Фосфорилирование.** Образование фосфатного производного биомолекулы обычно за счет ферментативного переноса фосфатной группы от АТФ.

**Фосфорилирование в дыхательной цепи.** Окислительное фосфорилирование, т. е. фосфорилирование АDP, сопряженное с переносом электронов от субстрата к кислороду.

**Фосфорилирование на уровне субстрата (субстратное фосфорилирование).** Фосфорилирование АDP и некоторых других нуклеозид-5'-дифосфатов, сопряженное с дегидрированием органического субстрата и протекающее независимо от переноса электронов.

**Фосфоролит.** Ферментативное расщепление соединения в результате взаимодействия с фосфатом, аналогичное гидролизу.

**Фураноза.** Сахар, содержащий пятичленное фурановое кольцо.

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

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

**Хиральное соединение.** Соединение, содержащее асимметрический центр и способное существовать в двух вариантах, зеркальные изображения которых несовместимы.

**Хроматография.** Процесс, при котором сложные смеси молекул могут быть разделены путем многократно повторяющихся актов распределения между стационарной и движущейся фазами.

**Хроматин.** Нитевидный комплекс ДНК, гистонов и других белков, составляющий основу эукариотических хромосом.

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

**Центральная догма.** основополагающий принцип биохимической генетики, согласно которому генетическая информация передается от ДНК к РНК и далее к белкам.

**Цикл лимонной кислоты.** Циклическая система ферментативных реакций окисления ацетильных остатков до  $CO_2$ , первым этапом которой является образование лимонной кислоты.

**Цикл мочевины.** Метаболический путь, обнаруживаемый в печени; приводит к синтезу мочевины из аминокрупп и  $\text{CO}_2$ .

**Цикл трикарбоновых кислот.** См. Цикл лимонной кислоты.

**Циклический АМР (циклический аденилат).** Вторичный посредник внутри клеток; его образование при помощи аденилатциклазы стимулируется некоторыми гормонами.

**Цитозоль.** Водная фаза цитоплазмы с растворенными в ней веществами.

**Цитоплазма.** Содержимое клетки, окружающее ядро или нуклеоид.

**Цитоскелет.** Нитевидные структуры в цитоплазме.

**Цитохромы.** Гемосодержащие белки, выполняющие роль переносчиков электронов при дыхании и фотосинтезе.

**Четвертичная структура.** Пространственное расположение подогнанных друг к другу субъединиц олигомерного белка.

**Число оборотов.** Число, указывающее, сколько раз молекула фермента преобразует молекулу субстрата за 1 мин в условиях, когда фермент проявляет максимальную активность.

**Экзергоническая реакция.** Химическая реакция, сопровождающаяся отрицательным изменением стандартной свободной энергии («нисходящая» реакция).

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

**Экзонуклеаза.** Фермент, гидролизующий только концевую фосфодиэфирную связь нуклеиновой кислоты.

**Электрофорез.** Перемещение заряженных растворенных веществ в электрическом поле; часто используется для разделения смесей ионов.

**Электрохимический градиент.** Сумма градиентов концентрации и электрических зарядов при переносе ионов через мембрану.

**Эндергоническая реакция.** Химическая реакция, сопровождающаяся положительным изменением стандартной свободной энергии («восходящая» реакция).

**Эндокринные железы.** Железы, содержащие клетки, специализирующиеся на синтезе гормонов и их секреции в кровь; при помощи гормонов осуществляется регуляция деятельности клеток других типов.

**Эндонуклеаза.** Фермент, способный гидролизовать внутренние фосфодиэфирные связи в нуклеиновых кислотах.

**Эндоплазматический ретикулум.** Обширная система двойных мембран в цитоплазме эукариотических клеток; она окружает секреторные каналы и часто усеяна рибосомами.

**Энергетический заряд.** Степень «заполнения» системы  $\text{ATP-ADP-AMP}$  высокоэнергетическими фосфатными связями.

**Энергетическое сопряжение.** Перенос энергии от одного процесса к другому.

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

**Энергия связи.** Энергия, необходимая для разрыва связи.

**Энергия фосфатной группы.** Уменьшение свободной энергии в результате гидролиза 1 моля фосфорилированного соединения до равновесного состояния при концентрации 1,0 М, рН 7,0 и температуре 25 °С.

**Эпимераза.** Фермент, способный катализировать обратимые взаимопревращения двух эпимеров.

**Эпимеры.** Два стереоизомера, различающиеся по конфигурации относительно одного асимметрического центра в соединении, содержащем два или большее число асимметрических центров.

**Эукариоты.** Организмы, клетки которых содержат окруженное мембраной ядро с множественными хромосомами и внутриклеточные органеллы.

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

ISBN 978-985-506-620-1



Учебное издание

**ГРИЦУК** Александр Иванович  
**СВЕРГУН** Валентина Тимофеевна  
**КОВАЛЬ** Александр Николаевич

**БИОХИМИЯ. ПРАКТИКУМ**

**Учебное пособие для студентов  
учреждений высшего образования  
по медицинским специальностям**

**Редактор** *Т. М. Кожемякина*  
**Компьютерная верстка** *А. М. Терехова*

Подписано в печать 07.07.2014.

Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная 80 г/м<sup>2</sup>. Гарнитура «Гаймс».  
Усл. печ. л. 12,09. Уч.-изд. л. 13,2. Тираж 435 экз. Заказ № 173.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя,  
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/46 от 03.10.2013.  
Ул. Ланге, 5, 246000, Гомель.