

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

**Кафедра биологической химии**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
к практическим занятиям**

Дисциплина: биохимия  
Специальность: 30.05.02 Медицинская биофизика  
Курс: II, III  
Семестр: IV, V  
Количество часов: 136

Уфа  
2023

Рецензенты: д.м.н., профессор кафедры биологической химии Камиллов Ф.Х.  
к.б.н., доцент кафедры биологической химии Меньшикова И.А.

Авторы: к.б.н., доцент кафедры биологической химии Хайбуллина З.Г.  
ассистент кафедры биологической химии Глазутдинова Л.Р.

Утверждение на заседании кафедры биологической химии  
от «17» апреля 2023 г, протокол №7

## Лабораторное занятие № 1

**1. Тема и ее актуальность:** «Строение и функции белков. Методы качественного и количественного анализа белков».

Почти все свойства, отличающие живую материю от неживой, связаны с белками. Способность к движению, постоянному самообновлению, самовоспроизведению, высокая скорость химических превращений – все эти свойства обусловлены функционированием различных классов высокоспециализированных белков. Медицинские аспекты биохимии белков касаются вопросов патогенеза, лечения, диагностики заболеваний. Детальное знание студентами-медиками химического строения и свойств протеинов совершенно необходимо для формирования их профессиональных компетенций.

**2. Учебные цели:** овладеть некоторыми методами качественного и количественного анализа белков, освоить правила работы с биологическим материалом, научиться проводить измерения оптической плотности исследуемых растворов на фотоэлектроколориметре (ФЭК).

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- строение и свойства протеиногенных аминокислот;
- уровни организации белковой молекулы;
- связи, стабилизирующие первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры белка;
- качественные реакции на белки;
- методы установления первичной структуры белков;
- устройство ФЭК и принцип работы на ФЭКе;
- принцип количественного определения общего белка в сыворотке крови биуретовым методом;
- клинико-диагностическое значение определения общего белка в сыворотке крови.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком работы на ФЭКе;
- навыком определения концентрации белка в сыворотке крови.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- писать формулы пептидов заданного состава;
- работать с биологическими жидкостями (сыворотка, раствор белка);
- определять количество белка в сыворотке крови биуретовым методом;
- проводить на ФЭКе измерение оптической плотности исследуемого материала;
- определять концентрацию белка в сыворотке крови по калибровочному графику

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### 3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Химический состав живых объектов.
- 2) Функциональное многообразие белков: белки-ферменты, белки-гормоны, белки-рецепторы, транспортные белки, защитные белки, сократительные белки, структурные белки.
- 3) Уровни структурной организации белков: первичная, вторичная, третичная и четвертичная структуры. Строение и характеристика пептидной, водородной, ионной, гидрофобной и дисульфидных связей.
- 4) Методы определения аминокислотного состава белков (кислотный гидролиз, хроматография).
- 5) Количественное определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом: принцип метода и его клинико-диагностическое значение.
- 6) Схема устройства ФЭКа, принцип действия и последовательность операций при работе на этом приборе.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Аминокислоты, придающие белкам основной характер -

- а) цистеин и метионин
- б) аргинин и лизин
- в) триптофан и фенилаланин
- г) лейцин и изолейцин
- д) глицин и аланин

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Нормальное содержание белка в сыворотке крови колеблется в пределах .....

- |              |                       |
|--------------|-----------------------|
| 1. 60-80 г/л | а) новорожденного     |
| 2. 47-65г/л  | б) ребенка 1 года     |
| 3. 65-85г/л  | в) взрослого человека |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Реагенты, позволяющие определить N-концевую аминокислоту -

1. гидразин
2. динитрофторбензол
3. карбоксипептидаза
4. фенилизотиоцианат
5. восстанавливающие агенты ( $\text{NaBH}_4$ )

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

При установлении аминокислотной последовательности проводится кислотный, а не основной гидролиз белка, так как в щелочной среде происходит разрушение некоторых аминокислот.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Функции белков в человеческом организме.
- 2) Первичная структура белка (дайте определение), строение и характеристика пептидной связи.
- 3) Вторичная структура белка, ее разновидности. Характеристика связей, стабилизирующих вторичную структуру.
- 4) Супервторичная структура белка.
- 5) Третичная структура белка, связи, стабилизирующие третичную структуру.
- 6) Четвертичная структура белка, примеры белков с четвертичной структурой.
- 7) Методы исследования первичной структуры белка (методы гидролиза и хроматографического анализа).
- 8) Принцип количественного определения белка в сыворотке крови биуретовым методом.
- 9) Содержание общего белка в сыворотке крови и клинико-диагностическое значение его определения.

7.3. Разбор с преподавателем метода количественного определения белка в сыворотке крови биуретовым реактивом.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа 1. Количественное определение белка в сыворотки крови биуретовым методом.**

*Клинико-диагностическое значение.* Сыворотка крови содержит смесь белков, различных по физиологическому значению, структуре и физико-химическому свойству. Нормальное содержание белка в сыворотке крови 65-80 г/л, у детей до 6 месяцев 48-56 г/л.

Изменение содержания белка в сыворотке крови может свидетельствовать о различных нарушениях. Снижение содержания белка (гипопротеинемия) может наблюдаться при потерях белка (кровотечения, болезни почек), при белковом голодании или при снижении процессов биосинтеза белка в результате различных заболеваний (интоксикации, злокачественных новообразований, хронических заболеваний). Повышенное содержание белка (гиперпротеинемия) бывает редко, это может быть при сгущении крови из-за значительной потери жидкости (длительная рвота, ожоговая болезнь, диарея), при наследственных заболеваниях - парапротеинемиях.

Одним из методов количественного определения суммарного белка сыворотки крови является биуретовый метод, который основан на способности белков, содержащих пептидные связи, образовывать с ионами меди в щелочной среде комплексные соединения фиолетового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию белка в растворе.

*Ход работы.* В пробирку налить 0,1 мл исследуемой сыворотки, в другую (контрольную) – 0,1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. В обе пробирки добавить по 5,0 мл биуретового реактива (ионы  $\text{Cu}^{++}$  в щелочной среде). Содержимое обеих пробирок перемешать. Через 30 мин. измерить экстинкцию исследуемого раствора на ФЭКе в кювете толщиной 1 см при длине волны 540-560 нм (зеленый светофильтр) против контрольного раствора.

Содержание белка в сыворотке крови (в г/л) найти по калибровочному графику, который построен с заранее известными концентрациями стандартного белка и выражает зависимость между количеством белка в крови и оптической плотностью (экстинкцией) окрашенного раствора.

*Построение калибровочного графика.*

Для этого применяют стандартный белок – альбумин сыворотки крови. Из 10% стандартного раствора альбумина в 4 пробирках готовят растворы белка как показано в таблице.

№ пробирки	Стандартный 10% р-р альбумина, мл	0,9% раствор хлорида натрия, мл	Концентрация белка, г/л
1	0,4	0,6	40
2	0,6	0,4	60
3	0,8	0,2	80
4	1,0	–	100

Из каждой пробирки берут по 0,1 мл раствора, добавляют к нему 5,0 мл биуретового реактива. Через 30 мин. измеряют экстинкцию на ФЭКе против контрольного раствора (0,1 мл 0,9% раствора хлорида натрия и 5 мл биуретового реактива).

Полученные значения откладывают на оси ординат, а концентрацию белка (в г/л) на оси абсцисс.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. Будет ли одинаковой интенсивность окраски, полученной в реакции с биуретовым реактивом, для 100 молекул альбумина (Mr 64000 D) и 100 молекул иммуноглобулина G (Mr 175000D)? В чем заключается принцип биуретовой реакции?

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Современные методы количественного определения белка в биологических жидкостях.
2. Нарушения белковой конформации - амилоидозы. Прионовые болезни. Болезнь Альцгеймера.

**Задание на дом:** Физико-химические свойства белков. Методы выделения и очистки белков. Простые белки.

### Литература

#### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

#### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 2

**1. Тема и ее актуальность:** «Физико-химические свойства белков. Методы выделения и очистки белков. Простые белки».

**2. Учебные цели:** изучить физико-химические свойства белков и овладеть некоторыми методами их анализа, освоить методы выделения и очистки белков, используемые в препаративной биохимии и лабораторной медицине; ознакомиться и закрепить у студентов знания о структуре и биологической роли простых белков.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- строение белковой молекулы – уровни организации и связи их стабилизирующие;
- амфотерные свойства белков;
- факторы, определяющие растворимость белков;
- методы осаждения белков из растворов;
- методы фракционирования белков (электрофорез, хроматография, ультрацентрифугирование);
- методы очистки белков от низкомолекулярных примесей (диализ, хроматография);
- классификацию белков, основные группы простых белков.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком осаждения белков из растворов сернокислым аммонием, кипячением, солями тяжелых металлов, органическими кислотами и концентрированной азотной кислотой;
- навыком количественного определения белка в моче по методу Бранденберга-Робертса-Стольниковца;
- навыком очистки белков от низкомолекулярных примесей методом диализа и гельфильтрации на сефадексе (молселекте).

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- разделять альбумины и глобулины крови методом высаливания;
- определять количественное содержание белка в моче методом Брандберга-Робертса-Стольниковца;
- производить очистку белка от низкомолекулярных примесей методом гельфильтрации и диализа;
- анализировать протеинограмму.

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Различия белков по молекулярной массе и форме молекул.
- 2) Растворимость и осаждаемость белков: факторы их определяющие.
- 3) Денатурация белков. Факторы, механизм, практическое использование денатурации белков.



- 4) Суммарный заряд белковой молекулы. Изоэлектрическая точка.
- 5) Электрофорез белков сыворотки крови: принцип метода и его значение в диагностике заболеваний.
- 6) Методы выделения белков из биологического материала: гомогенизация, замораживание и оттаивание ткани, обработка клеток ультразвуком.
- 7) Методы очистки белков: диализ, избирательная денатурация, высаливание, гель-фильтрация, ультрацентрифугирование, ионообменная и аффинная хроматография – их принцип и практическое использование.
- 8) Классификация белков. Простые белки: общая характеристика альбуминов, глобулинов, гистонов, протаминов и глютелинов.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

В какой зоне рН находится изоэлектрическая точка пептида гли – ала – вал

- а) кислой
- б) щелочной
- в) нейтральной

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Название аминокислоты – заряд радикала

1. серин
  2. лизин
  3. глутаминовая кислота
- а) незаряженный
  - б) отрицательно заряженный
  - г) положительно заряженный

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К методам очистки белков от низкомолекулярных примесей относятся

1. кипячение
2. высаливание
3. диализ
4. гель-фильтрация на сефадексе

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Белки наиболее подвижны в электрическом поле в изоэлектрическом состоянии, потому что при этом белки имеют положительный заряд.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

1) Молекулярная масса, размеры и формы молекул белков. Общая характеристика физико-химических свойств белков. Растворимость и осаждаемость белков. Факторы стабилизации белковой молекулы в растворах.

2) Принцип метода диализа, его практическое значение.

3) Электрические свойства белков. Механизм возникновения электрического заряда белков. Изоэлектрическая точка. Электрофоретическое разделение белков сыворотки крови на бумаге, протеинограмма здорового человека.

4) Высаливание белков. Высаливающие агенты. Механизм высаливания. Практическое использование высаливания.

5) Денатурация белков. Факторы, механизм, практическое использование денатурации белков.

6) Аффинная хроматография и гель-фильтрация: принцип метода и его значение.

7) Классификация белков.

8) Простые белки: общая характеристика альбуминов, глобулинов, гистонов, протаминов и глютелинов.

7.3. Разбор с преподавателем методов осаждения белков из растворов серноокислым аммонием, кипячением, солями тяжелых металлов, органическими кислотами и концентрированной азотной кислотой; метода количественного определения белка в моче по Бранденбергу-Робертсу-Стольникову; метода диализа и гелефильтрации на сефадексе (молселекте).

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа № 1. Высаливание белков сыворотки крови серноокислым аммонием.**

Реакция высаливания обусловлена дегидратацией макромолекул белка с одновременной нейтрализацией электрического заряда. Высаливание белков серноокислым аммонием может быть использовано для разделения белков друг от друга и получения их в кристаллическом виде. Например, глобулины сыворотки крови, имеющие большой молекулярный вес и меньший заряд легче высаливаются, чем альбумины. Глобулины осаждаются в полунасыщенном, а альбумины - в насыщенном растворе серноокислого аммония.

Высаливание белков – обратимый процесс. Осадок белка может вновь раствориться в воде после уменьшения концентрации солей. При этом белок не теряет своих естественных биологических свойств.

*Ход работы.* В пробирку поместить 2 мл сыворотки крови и добавить равный объем насыщенного раствора серноокислого аммония, перемешать. Получается полунасыщенный раствор серноокислого аммония, в котором выпадает осадок глобулина.

Осадок отфильтровать через бумажный фильтр в пробирку. К фильтрату добавить сухой серноокислый аммоний до полного насыщения раствора.

Выпавший осадок альбумина отфильтровать через бумажный фильтр. Проверить фильтрат на отсутствие белка с помощью биуретовой реакции. Для доказательства обратимости высаливания, полученные осадки прямо на фильтрах смочить с 2-3 мл дистиллированной воды и отметить их растворение.

По выполненной работе сделать вывод.

### **Работа № 2. Осаждение белков при кипячении.**

При нагревании почти все белки денатурируют и выпадают в осадок. При этом разрушаются водородные связи, происходит изменение вторичной и третичной структуры белка, белок теряет глобулярную форму и на поверхность молекулы, вместо гидрофильных групп, выходят гидрофобные. В сильноокислых и щелочных средах растворы белков при кипячении не коагулируют и могут дать осадок лишь при добавлении какой-нибудь нейтральной соли (NaCl). В этих случаях устойчивость белка в растворе зависит от приобретения положительного заряда в сильно-кислой среде и отрицательного заряда в щелочной. Наиболее легко белки подвергаются тепловой денатурации в изоэлектрической среде.

Клинико-диагностическое значение. Осаждение белков кипячением используется для качественного обнаружения белка в моче.

*Ход работы.* В 5 пробирок налить по 0,5 мл сыворотки. В 3-ю пробирку добавить 10 капель 1% раствора уксусной кислоты, для создания кислой среды. В 4-ю пробирку 10 капель 1% раствора уксусной кислоты и 5 капель насыщенного раствора поваренной соли. В 5-ю пробирку добавить 5 капель 10% раствора щелочи.

Все пробирки прокипятить. После кипячения во 2-ю пробирку добавить 1-2 капли 1% раствора уксусной кислоты.

Записать в таблицу результаты осаждения белка при кипячении. Отметить появление осадка плюсом, а отсутствие минусом и указать в каждом случае причины появления или отсутствия осадка белка.

Реакция среды	Нейтральная	Слабокислая	Сильнокислая	Сильнокислая с электролитом	Щелочная
Результат					
Вывод					

### **Работа № 3. Осаждение белков солями тяжелых металлов.**

Осаждение белков солями тяжелых металлов происходит при небольших концентрациях этих солей. Белки при взаимодействии с солями тяжелых металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.) адсорбируют их, образуя с ними солеобразные и комплексные соединения, растворимые в избытке солей. Клиническое значение: способность белка прочно связывать ионы тяжелого металла, в виде нерастворимых осадков в воде, позволяет использовать их как противоядие при отравлении солями ртути, меди, свинца и другими тяжелыми металлами.

А) Осаждение белков медным купоросом.

Налить в пробирку 1 мл раствора белка и по каплям добавить 10% раствор  $\text{CuSO}_4$  до образования осадка, нерастворимого в воде. При добавлении 10% раствора  $\text{CuSO}_4$  в большом объеме наблюдают растворение осадка в избытке реактива. Растворение осадка в избытке солей называется адсорбционной пептизацией. Данное явление происходит вследствие возникновения одноименного положительного заряда на частицах белка.

Б) Осаждение белков уксуснокислым свинцом.

К 1,0 мл раствора белка добавить 2-5 капель 5% раствора уксуснокислого свинца до образования осадка.

По выполненной работе сделать вывод.

#### **Работа № 4. Осаждение белков органическими кислотами.**

Некоторые органические кислоты вызывают необратимые осаждение белков. Клинико-диагностическое значение: сульфосалициловая кислота используются для обнаружения малых количеств белка в биологических жидкостях (спинномозговой жидкости, моче, экссудатах). Трихлоруксусная кислота используется для получения безбелкового фильтрата крови в лабораторной практике.

*Ход работы.* К 0,5-1,0 мл раствора белка добавить равный объем 10% раствора сульфосалициловой кислоты или 5% раствора трихлоруксусной кислоты. Отметить выпадение белого осадка.

#### **Работа № 5. Осаждение белков концентрированной азотной кислотой (проба Геллера).**

Выпадение белка в осадок при действии некоторых минеральных кислот связано с дегидратацией белковых частиц и образованием комплексных солей белка с кислотами. Клинико-диагностическое значение: в избытке всех минеральных кислот, за исключением азотной, выпавший осадок белка растворяется. Поэтому реакция осаждения белков азотной кислотой используется для качественного, а также для количественного (см. ниже) анализа мочи (проба Геллера).

*Ход работы.* К 1 мл концентрированной азотной кислоты осторожно по стенке пробирки, наклонив ее под углом 45° так, чтобы обе жидкости сразу не смешивались, наложить равный объем раствора белка.

На границе двух жидкостей образуется осадок в виде белого кольца.

По работе сделать вывод.

#### **Работа № 6. Количественное определение белка в моче по методу Брандберга-Робертса-Стольниковца.**

Клинико-диагностическое значение. В норме моча не содержит белка в количестве, обнаруживаемом обычными химическими методами. Белок в моче появляется при заболеваниях почек, при нарушении белкового состава крови.

*Принцип метода.* В основе метода лежит проба Геллера – денатурация белка азотной кислотой. Экспериментально установлено, что при наслаивании на азотную кислоту, растворы, содержащие 0,0033% белка, дают белое колечко в промежутке между второй и третьей минутами после наслаивания. Если колечко появляется непосредственно после наслаивания раствора белка на азотную кислоту, то путем последовательного разведения исследуемого материала достигают такого максимального разведения, при котором появляется кольцо между второй и третьей минутами. Умножая разведение на 0,0033%, получается процентное содержание белка в моче.

*Ход работы.* Приготовить 2 ряда пробирок (по 8 в каждом). Во все пробирки первого ряда прилить по 1 мл концентрированной азотной кислоты.

В пробирках второго ряда развести исследуемую мочу методом кратных разведений. Для этого в первую пробирку и вторую пробирки этого ряда налить по 1 мл исследуемой мочи, во вторую и все последующие - по 1 мл дистиллированной воды.

После перемешивания из второй пробирки перенести 1мл жидкости в третью, затем после перемешивания такой же объем из третьей пробирки перенести в четвертую и т.д. до конца ряда. Из последней пробирки 1мл жидкости вылить. Таким образом, получается следующий ряд разведений исследуемой мочи: в первой пробирке моча исходной концентрации, во 2-ой – разведена в 2 раза, в 3-ей – в 4 раза, в 4-ой – в 8 раз, в 5-ой - в 16, в 6-ой - в 32, в 7-ой – в 64, в 8-ой – в 128.

После разведения мочи произвести поочередное наслаивание содержимого каждой пробирки на концентрированную азотную кислоту. По секундомеру отметить, в какой пробирке белое кольцо образовалось через 2-3 минуты после начала опыта.

Примерный расчет. Между 2-ой и 3-ей минутами белое кольцо образовалось в 5-ой пробирке, где разведение мочи 1:16. Следовательно, концентрация белка в исходной порции мочи равна:  $0,0033\% \times 16 = 0,05\%$ .

## **Работа № 7. Очистка белков от низкомолекулярных примесей методом диализа.**

*Принцип метода* основан на неспособности молекул белка (коллоидных частиц) проникать через полупроницаемую мембрану (пергамент, целлофан, колодий и др.), в то время как низкомолекулярные примеси легко проходят через поры этих мембран. Метод диализа широко используется для разделения и очистки белков и других биополимеров от примесей солей и низкомолекулярных органических соединений. Основанный на этом же принципе метод гемодиализа (вивидиффузия), применяется для лечения больных с почечной недостаточностью (аппарат «искусственная почка»).

*Ход работы.* В подготовленный колодиевый или целлофановый мешочек поместить 1 мл сыворотки крови (раствора яичного белка) и 3-4 мл 6% раствора хлористого натрия, аккуратно поместить их в стакан с дистиллированной водой. Через 30-60 минут с небольшими порциями диализуемого раствора белка (содержимое мешочка) и диализата

(наружная жидкость) провести пробы на хлориды и белок, чтоб удостовериться в том, что соль диффундировала, а белок остался в мешочке.

*Для обнаружения белка провести биуретовую реакцию.*

*Принцип метода.* Реакция основана на способности пептидной группы белков и полипептидов образовывать с ионами меди в щелочной среде комплексные соединения фиолетового цвета. Реакция позволяет обнаружить наличие пептидной связи в исследуемом веществе и, следовательно, является универсальной реакцией для обнаружения веществ белковой природы. Свое название реакция получила от производного мочевины биурета, который дает в данных условиях то же окрашивание, что и белок.

*Техника проведения работы.* В пробирку добавить 5 капель раствора белка, 10 капель раствора едкого натра и 1 каплю раствора сульфата меди. Отметить появление красно-фиолетового окрашивания.

Для обнаружения хлоридов к 0,5-1 мл раствора добавить 1-2 капли 1% раствора азотной кислоты и 1-2 капли 1% раствора азотнокислого серебра и отметить выпадение творожистого осадка.

### **Работа № 8. Очистка от низкомолекулярных примесей методом гельфильтрации на сефадексе (молселекте).**

Основным свойством декстранового геля, как хроматографического материала, является способность разделять вещества согласно размерам молекул. Крупные молекулы при хроматографии не проникают в частицы геля и элюируются в свободном объеме, т.е. в свободном пространстве между частицами геля. Применяя сефадексы (молселекты) разных типов с разными размерами частиц и изменяя условия хроматографии; гельфильтрацию на сефадексах (молселектах) можно использовать для разделения смесей в зависимости от молекулярной массы, для определения чистоты веществ, а также в целях обессоливания и концентрирования растворов высокомолекулярных соединений и др.

Расчеты показывают, что на сефадексе Г-25 (молселекте Г-25) молекулы массой 5600 уже будут элюировать в свободном объеме, а соли и органические вещества с молекулярной массой в пределах 1000 проникают в частицы декстранового геля, обладая коэффициентом распределения 0,7-1,0. Это позволяет сравнительно легко отделить с помощью сефадекса Г-25 (молселекта Г-25) соли и низкомолекулярные органические примеси из растворов белков и других молекул.

*Ход работы.* Для проведения работы открыть подготовленную колонку, дать профильтроваться воде над слоем геля и наслоить пипеткой 1-1,5 мл 2% раствора гемоглобина или другого окрашенного белка с равным объемом 3% раствора хлористого натрия. Как только раствор профильтруется (войдет в гель), ополоснуть стенки колонки небольшим количеством дистиллированной воды и начать элюирование дистиллированной водой со скоростью тока примерно 0,5 мл в минуту. Элюаты объемом 2,5-3 мл собирать в отдельные пробирки. Через 12-15 минут элюирование прекратить, в исходном растворе белка и в отдельных фракциях элюата проверить

наличие белка по окраске содержимого пробирок и наличие хлоридов реакцией с азотнокислым серебром (см. выполнение предыдущей работы).

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача.

При электрофорезе на бумаге белков сыворотки крови больного Р.С. получили следующие результаты: альбумины-48,5%,  $\alpha$ 1-глобулины-12,6%,  $\alpha$ 2-глобулины-7,3%,  $\beta$ -глобулины-14,8%,  $\gamma$ -глобулины-16,8%. Выделите изменения, обнаруженные в белковом спектре крови больного и рассчитайте величину белкового коэффициента, если общее содержание белка в крови у данного больного составляло 62 г/л.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Методы установления молекулярной массы белков.
2. Электрофоретические методы разделения белков в диагностике заболеваний.
3. Генно-инженерные методы получения белков.
4. Применение денатурирующих агентов в биологических исследованиях и медицине.

**Задание на дом:** Сложные белки.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020

- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР-МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.



### Лабораторное занятие № 3

**1. Тема и ее актуальность:** «Сложные белки».

**2. Учебные цели:** ознакомиться и закрепить у студентов знания о структуре и биологической роли сложных белков: нуклео-, глико-, хромо-, фосфо- и липопротеинов; овладеть методом выделения муцина слюны и выявления в нем углеводного компонента, методом обнаружения гемоглобина в исследуемом материале с использованием пробы Тейхмана, методом выделения казеиногена из молока, методом гидролиза казеина и открытия в гидролизате фосфорной кислоты, а также турбидиметрическим методом определения липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- классификацию белков, основные группы сложных белков;
- характер общего строения сложных белков - глико-, хромо-, нуклео-, фосфо- и липопротеинов;
- биологическую роль гликопротеинов сыворотки крови и слизистых оболочек;
- структуру и биологические функции ДНК и РНК;
- основные формы и производные гемоглобина;
- особенности строения фосфо- и липопротеинов;
- состав, содержание и функции липопротеинов плазмы крови.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком выделения муцина слюны и выявления в нем углеводного компонента;
- навыком обнаружения гемоглобина в исследуемом материале с использованием пробы Тейхмана;
- навыком выделения казеиногена молока;
- навыком гидролиза казеина и открытия в гидролизате фосфорной кислоты;
- навыком определения ЛПНП в сыворотке крови турбидиметрическим методом.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- схематически представить строение гликопротеинов и протеогликанов;
- схематически представить первичную и вторичную структуры РНК и ДНК;
- схематически представить структуру гема, охарактеризовать связи гема и глобина;
- интерпретировать изменения количества липопротеинов в сыворотке крови

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Сложные белки, общая характеристика, классификация.
- 2) Нуклеопротеины – строение, классификация, биологическая роль. Строение простетической группы нуклеопротеинов. Первичная и вторичная

структура нуклеиновых кислот. Отличия ДНК и РНК. Уровни упаковки ДНК в составе хроматина.

3) Глюкоконьюгаты. Классификация. Гликопротеины. Характеристика простетической группы гликопротеинов – классификация, структура, химические свойства углеводов. Гликопротеины слизей.

4) Гликопротеины плазмы крови. Методы их исследования. Биологическая роль отдельных представителей (трансферрин, гаптоглобин, церрулоплазмин, транскортин и др.).

5) Протеогликаны. Строение простетической группы – гликозаминогликанов. Принцип построения протеогликановых комплексов. Роль гиалуроната (гиалуроновой кислоты) в организации экстрацеллюлярного вещества соединительной ткани.

6) Хромопротеины. Общая характеристика железосодержащих хромопротеинов.

7) Строение гемоглобина. Формы гемоглобина (Hb A, Hb P, Hb F, Hb S). Понятие о гемоглобинопатиях.

8) Производные гемоглобина. Схема строения и образования окси-, карб-, карбокси- и метгемоглобина. Помощь при отравлении угарным газом и метгемоглобинемии.

9) Структура и биологическая роль миоглобина.

10) Структура и роль отдельных представителей фосфопротеинов (молока, яиц).

11) Роль протеинкиназ и фосфопротеинфосфатаз в структурно-функциональной модификации клеточных белков.

12) Общая характеристика липопротеинов и их биологическая роль.

13) Липопротеины сыворотки крови: строение, методы разделения, характеристики отдельных фракций (хиломикроны, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП).

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Трансферрин переносит в крови

- а) гемоглобин
- б) ионы меди
- в) ферритин
- г) железо

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Характеристика - биополимер

- 1. адениловая кислота включается в структуру
- 2. тимидиномонофосфат – составной компонент
- 3. транскортин – представитель

4. к хромопротеинам относится
5. в гидролизате белка обнаружены только аминокислоты - это
6. белок, выполняющий функцию регулятора гена – это
  - а) ДНК
  - б) РНК
  - в) фосфопротеин
  - г) миоглобин
  - д) гистон
  - е) гликопротеин

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К группе простых белков относятся

1. инсулин
2. казеин
3. гемоглобин А
4. кортикотропин
5. альбумин сыворотки крови
6. глютелин

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Трансферрины относятся к простым белкам, потому что имеют простетическую группу.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Нуклеопротеины – строение, классификация. Биологическая роль ДНК и РНК.
- 2) Роль гистонов в укладке молекулы ДНК в хромосоме.
- 3) Характеристика простетической группы гликопротеинов – классификация, структура, химические свойства углеводов.
- 4) Биологическая роль гликопротеинов слизистых оболочек.
- 5) Основные группы гликозаминогликанов.
- 6) Хромопротеины. Общая характеристика железосодержащих хромопротеинов.
- 7) Формы гемоглобина (Hb A, Hb P, Hb F, Hb S).
- 8) Помощь при отравлении угарным газом.
- 9) Характеристика связи простетической группы с белковой частью в фосфопротеинах.
- 10) Примеры наиболее распространенных фосфопротеинов и их биологическая роль.
- 11) Значение реакций фосфорилирования-дефосфорилирования в регуляции активности клеточных белков.
- 12) Липопротеины плазмы крови: общая схема строения, химический состав и функции отдельных фракций, методы разделения (ультрацентрифугирование, электрофорез).
- 13) Атерогенные и антиатерогенные фракции липопротеинов плазмы крови, коэффициент атерогенности.

7.3. Разбор с преподавателем пробы Тейхмана; метода выделения муцина слюны и определения в нем углеводного компонента; метода выделения казеиногена из молока, гидролиза казеина и обнаружения в гидролизате фосфорной кислоты; турбидиметрического метода определения ЛПНП в сыворотке крови.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

### Работа № 1. Проба Тейхмана.

Проба позволяет обнаружить наличие очень небольших количеств крови в исследуемом материале. Широко используется в судебно-медицинской практике.

Проба основана на том, что при действии на гемоглобин концентрированных кислот происходит отщепление свободного гема, который в присутствии солей соляной кислоты переходит в гемин, выпадающий в форме характерных кристаллов ромбовидной формы.

*Ход работы.* Приготовить мазок крови и осторожно подсушить его, держа стекло высоко над пламенем спиртовки. Прибавить 2-3 кристаллика NaCl и 1-2 капли концентрированной уксусной кислоты, тщательно перемешать стеклянной палочкой и нагреть до кипения на небольшом пламени.

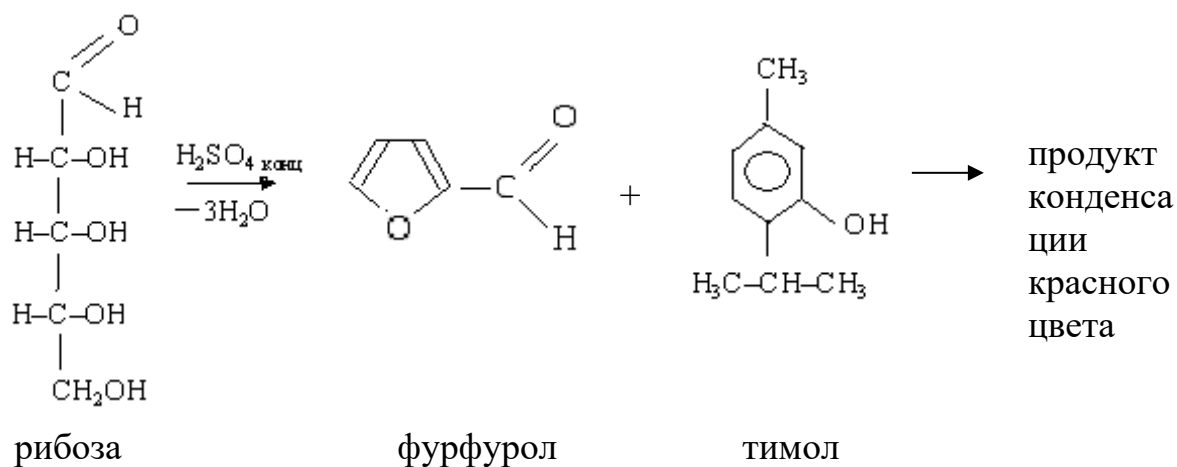


После охлаждения стекла исследовать мазок под микроскопом. Кристаллы гемина зарисовать в протоколе.

Кристаллы гемина под микроскопом.

### Работа № 2. Выделение муцина слюны и определение в нем углеводного компонента.

Углевод в муцине можно обнаружить с помощью реакции Молиша. Реакция основана на дегидратации гексоз и пентоз с образованием оксиметилфурфура и фурфура при действии концентрированной серной кислоты, которые дают с тимолом продукт конденсации красного цвета.



*Ход работы.* В пробирку собирают около 2 мл слюны и по каплям (4-5 капель) приливают концентрированную уксусную кислоту. Выпадает осадок муцина, трудно растворимый в избытке уксусной кислоты. Жидкость из

пробирки осторожно сливают. Со сгустком муцина проделывают реакцию Молиша, доказывающую присутствие в белке углеводов. Для этого к сгустку муцина добавить 0,5-1,0 мл 1% спиртового раствора тимола. Содержание пробирки перемешать, по стенке пробирки наложить равный объем концентрированной серной кислоты. Появляется красное окрашивание.

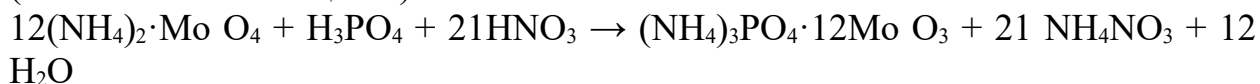
### **Работа № 3. Выделение казеиногена из молока.**

В молоке казеиноген содержится в виде растворимой кальциевой соли. При подкислении достигается изоэлектрическая точка, и казеиноген выпадает в осадок в свободном виде. Избыток кислоты мешает осаждению, т.к. при рН ниже изоэлектрической точки (рН=4,7) молекулы белка перезаряжаются, и казеиноген вновь переходит в раствор.

*Ход работы.* Молоко (2 мл) разбавляют равным объемом дистиллированной воды и осаждают казеиноген добавлением 2 капель 10% раствора уксусной кислоты. Казеин выделяется в виде хлопьевидного осадка, который отфильтровывают и промывают на фильтре дистиллированной водой (2-3 раза). Небольшие порции осадка снимают с фильтра стеклянной палочкой и употребляют для цветных реакций на белки (провести биуретовую пробу).

### **Работа № 4. Гидролиз казеина и открытие в гидролизате фосфорной кислоты.**

*Ход работы.* 100 мг порошка казеина растворяют в пробирке в 3 мл 10% раствора едкого натра или кали. Пробирку закрывают пробкой со стеклянной трубкой в качестве холодильника, закрепляют ее на асбестовой сетке металлической лапкой и нагревают. Через час после начала кипения жидкости гидролиз прекращают, жидкости дают остыть и нейтрализуют ее концентрированной азотной кислотой (12-15 капель) до слабокислой реакции на лакмус. При нейтрализации выпадает осадок высокомолекулярных продуктов неполного гидролиза белков (пептоны). После отстаивания жидкость фильтруют, с фильтром проделывают молибденовую пробу на фосфорную кислоту (к 20 каплям молибденового реактива добавляют 2-3 капли гидролизата и кипятят несколько минут на голом огне). Выпадает небольшой кристаллический осадок фосфорномолибденовокислого аммония (лимонно-желтого цвета).



желтый кристаллический осадок

### **Работа № 5. Определение липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови турбидиметрическим методом.**

*Клинико-диагностическое значение.* Содержание ЛПНП (β-липопротеинов) в крови колеблется в зависимости от возраста, пола и составляет в норме 3-4,5 г/л. Увеличение концентрации ЛПНП наблюдается при атеросклерозе, механической желтухе, острых гепатитах, хронических

заболеваниях печени, сахарном диабете, гликогенозах, ксантоматозе и ожирении.

*Принцип метода.* Метод основан на способности ЛПНП образовывать с гепарином комплекс, который под действием хлорида кальция выпадает в осадок. По степени помутнения раствора судят о концентрации ЛПНП в сыворотке крови.

*Ход работы.* 1. В пробирку вносят 2 мл раствора хлорида кальция и 0,2 мл сыворотки крови. Содержимое пробирки перемешивают.

2. Определяют оптическую плотность раствора ( $E_1$ ) против раствора хлорида кальция при красном светофильтре (630нм) в кювете на 0,5 см.

3. Раствор из кюветы переливают в пробирку, добавляют микропипеткой 0,04 мл 1% раствора гепарина и точно через 4 мин снова определяют оптическую плотность раствора ( $E_2$ ) в тех же условиях.

4. Рассчитывают концентрацию ЛПНП (с, г/л) по стандартной формуле:

$$C = (E_2 - E_1) \times 10, \text{ где } 10 - \text{ эмпирический коэффициент}$$

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. В приемное отделение больницы поступил 67-летний мужчина с жалобами на сжимающие боли в груди и сильную одышку. Цвет лица и конечностей синюшный, кровь, взятая на анализ, шоколадного цвета. Больной сообщил, что долгое время страдает от стенокардии и принимает препараты изосорбита тринитрата и нитроглицерин. Что послужило причиной резкого ухудшения состояния больного?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Роль гликопротеинов в специфическом связывании лигандов. Белки-рецепторы.
2. Наследственные нарушения первичной структуры и функций гемоглобина – наследственные гемоглобинопатии.
3. Роль белков-гистонов в структурной организации и функционировании хроматина.
4. Аллергия на казеин: диагностика и лечение.
5. Модифицированные и патологические липопротеины плазмы крови.

**Задание на дом:** Контрольное занятие по модулю «Строение, свойства и функции белков».

## Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др.М.: МИА, 2015. – 495 с..

2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.

4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020

5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020

6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)

7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>

8. <http://www.xumuk.ru/>

9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов

Хайбуллина З.Г.

Глазутдинова Л.Р.

### Лабораторное занятие № 4

**1. Тема и ее актуальность:** Контрольное занятие по модулю «Строение, свойства и функции белков».

**2. Учебные цели:** проверить и закрепить знания студентов о структуре, свойствах простых и сложных белков, методах их анализа, имеющих значение для клинической медицины.

**Формируемые компетенции:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1. Общая характеристика, элементный состав, история изучения белков. Формирование представления о белках как о классе соединений и важнейшем компоненте живых организмов. Исследования Мульдера, Данилевского, Фишера и др.

2. Структура, свойства, классификация и общая характеристика протеиногенных аминокислот. Пептидная связь. Особенности пептидной связи.

3. Первичная структура белков (умение писать структуру пептидов). Зависимость биологических, свойств белков от первичной структуры. Методы исследования первичной структуры.

4. Конформация пептидных цепей в белках (вторичная, надвторичная и третичная структуры). Слабые внутримолекулярные взаимодействия в пептидной цепи; дисульфидные связи.

5. Четвертичная структура белков. Кооперативные изменения конформации протомеров на примере гемоглобина, аллостерических ферментов.

6. Биологические функции белков. Способность к специфическим взаимодействиям. Специфическое узнавание как основа биологических функций всех белков. Комплементарность структуры центра связывания белка и лиганда; зависимость связывания от концентрации лиганда.

7. Глобулярные и фибриллярные белки. Пространственные конфигурации ( $\alpha$ -кератиновая,  $\beta$ -кератиновая) фибриллярных белков, их свойства.

8. Общая характеристика физико-химических свойств белков. Растворимость и осаждаемость белков. Факторы стабилизации белковой молекулы в растворах.

9. Высаливание белков. Высаливающие агенты. Механизм высаливания. Практическое использование высаливания.

10. Денатурация белков. Факторы, механизм, практическое использование денатурации белков.

11. Электрические свойства белков. Механизм возникновения электрического заряда белков. Изоэлектрическая точка. Электрофоретическое разделение белков сыворотки крови на бумаге, протеинограмма здорового человека.

12. Количественные методы определения белка. Принцип определения содержания белка крови биуретовым методом. Нормальное содержание белка крови. Гипо-, гиперпротеинемия. Белковый коэффициент крови.



13. Принципиальная схема устройства и работа фотоэлектроколориметра (ФЭК). Способ определения концентрации веществ с помощью калибровочного графика.

14. Принципы методов диализа и хроматографии, их его практическое значение.

15. Классификация белков. Простые белки: общая характеристика альбуминов, глобулинов, гистонов, протаминов, глютелинов.

16. Сложные белки, общая характеристика, классификация.

17. Нуклеопротеины – строение, классификация, биологическая роль.

Уровни упаковки ДНК в хроматине.

18. ДНК. Первичная и вторичная структура. Фосфодиэфирные связи между нуклеотидами. Правило комплементарности Чаргаффа. Биологическая роль.

19. РНК. Виды РНК. Первичная и вторичная структура РНК. Строение и функции рибосомы.

20. Глюкоконъюгаты. Классификация. Характеристика простетической группы гликопротеинов. Структура, характер связи углеводов с белковой структурой. Гликопротеины слизи.

21. Гликопротеины плазмы крови. Методы их исследования. Биологическая роль отдельных представителей (трансферрин, гаптоглобин, церулоплазмин, транскортин). Урогликопротеины и их биологическая функция.

22. Протеогликаны. Строение простетической группы – гликозаминогликанов. Принцип построения протеогликановых комплексов. Гиалуронон (гиалуроновая кислота), строение биологическая роль.

23. Хромопротеины, Общая характеристика железосодержащих хромопротеинов. Структура гема и характер связи гема с белком.

24. Строение гемоглобина. Формы гемоглобина (Hb A, Hb P, Hb F, Hb S). Понятие о гемоглобинопатиях, талассемиях.

25. Производные гемоглобина. Схема строения окси-, карб-, карбокси- и метгемоглобина. Условия образования производных гемоглобина. Помощь при отравлении угарным газом и метгемоглобинемии.

26. Липопротеины сыворотки крови. Строение. Методы разделения. Характеристики отдельных фракций (хиломикроны, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП). Аполипопротеины.

27. Фосфопротеины. Строение, характер связи простетической группы и апопротеина. Казеиногены молока. Роль казеиногенов в процессах свертывания и створаживания молока. Фосфопротеины яиц. Фосфопротеины тканевые, роль протеинкиназ.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** компьютеры, плакаты, таблицы, ситуационные задачи.

**7. Содержание занятия:**

Студентам предстоит пройти компьютерное тестирование. Каждому студенту будет предложено ответить на ряд тестовых заданий. Условием допуска до устного собеседования является успешное выполнение не менее 70 % тестов.

При собеседовании студент должен ответить на контрольные вопросы из модуля.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

**Задание на дом:** Общие свойства ферментов. Кинетика ферментативных реакций.

### Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие №5

**1. Тема и ее актуальность:** «Общие свойства ферментов. Кинетика ферментативных реакций».

Молекулы белка выполняют в живых организмах самые разнообразные функции. Одной из наиболее распространенных и важных биологических функций белка является каталитическая. Функцию биологических катализаторов выполняют высокоспецифичные белки - ферменты или энзимы. Природа в ходе развития нашла нетривиальный путь многократного ускорения реакций, позволяющий избежать высоких температур или других жестких воздействий, и именно путь уменьшения величины энергии активации. При этом ферменты не вызывают химическую реакцию, а лишь ускоряют ее в миллионы и более раз ( $10^6 - 10^{14}$  раз). Однако они обладают исключительной «требовательностью» к строению субстрата, высокой чувствительностью к физическим и физико-химическим факторам, к действию веществ, способных нековалентно влиять на их эффективность. Глубокое знание основ функционирования ферментов необходимо для понимания особенностей химических процессов, лежащих в основе жизнедеятельности организмов и формирования профессиональных компетенций врача.

**2. Учебные цели:** закрепить знания студентов о структуре и функциях ферментов, их номенклатуре и классификации, механизме действия; изучить типы специфичности ферментов и влияние температуры, рН среды на скорость ферментативной реакции; освоить основные положения ферментативной кинетики.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- особенности структуры ферментов-протеинов и ферментов-протеидов;
- химическую природу кофакторов, коферментов;
- активный центр и аллостерический регуляторный центр ферментов;
- специфичность ферментов, теорию и виды специфичности;
- классификацию и принципы номенклатуры ферментов;
- влияние на скорость ферментативных реакций температуры, рН среды;
- основные положения кинетики ферментативной реакции.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком сравнения действия ферментов и минеральных катализаторов;
- навыком определения специфичности ферментов;
- навыком определения термолабильности ферментов;
- навыком определения оптимума рН для амилазы слюны.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- схематически представить комплементарность взаимодействия субстрата и активного центра фермента;
- графически изображать зависимость скорости ферментных реакций от температуры и рН среды;

- использовать знания общих свойств ферментов и знания по ферментативной кинетике для решения ситуационных задач  
и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Химическая природа ферментов, их сходство и различия с неорганическими катализаторами.
- 2) Абзимы и рибозимы, их свойства и особенности.
- 3) Современная классификация и номенклатура ферментов.
- 4) Теории энзим-субстратного взаимодействия. Энергия активации. Механизм действия ферментов.
- 5) Структурная организация энзимов. Ферменты-протеины и ферменты-протеиды. Химическая природа коферментов.
- 6) Строение ферментов. Строение активного центра фермента. Функциональные группы, участвующие в формировании активного центра ферментов. Аллостерический центр.
- 7) Специфичность ферментов. Виды специфичности.
- 8) Зависимость ферментативной реакции от температуры. Термостабильные и термолабильные ферменты.
- 9) Зависимость ферментативной реакции от рН среды. Механизм действия рН на активность действия ферментов.
- 10) Кинетика ферментативных реакций. Константа Михаэлиса. Уравнения Михаэлиса-Ментен, Лайнуивера–Берка.
- 11) Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.
- 12) Зависимость скорости реакции от концентрации фермента.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Абсолютной специфичностью к субстрату обладает

- б) пепсин
- в) гексокиназа
- г) амилаза
- д) глюкокиназа
- е) трипсин

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Фермент – класс по классификации

- |                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| 1. липаза                 | а) оксидоредуктаза |
| 2. аланинаминотрансфераза | б) трансфераза     |
| 3. глюкозооксидаза        | в) гидролаза       |

- |                          |              |
|--------------------------|--------------|
| 4. триозофосфатизомераза | г) лиаза     |
| 5. рибонуклеаза          | д) изомераза |
|                          | е) лигаза    |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Фермент от неорганического катализатора отличается

1. способность ускорять реакцию
2. высокая специфичность
3. выход из реакции в неизменном состоянии
4. термолабильность
5. действие в малых концентрациях

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

По химической структуре все биологические катализаторы без исключения являются белками, потому что рибозимы – класс биокатализаторов, являющихся по структуре РНК.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Перечислите доказательства белковой природы ферментов.
- 2) Отличия ферментов от неорганических катализаторов.
- 3) Отличие ферментов-протеинов от ферментов-протеидов.
- 4) Устройство молекулы фермента: кофермент, апофермент, активный центр, аллостерический центр.
- 5) Виды специфичности ферментов.
- 6) Факторы, влияющие на скорость ферментативной реакции: температура, рН. Механизм действия.
- 7) Классификация и номенклатура ферментов.
- 8) Константа Михаэлиса и ее физический смысл.
- 9) Уравнение Михаэлиса-Ментен, анализ уравнения и его графическое выражение.
- 10) Уравнение Лайнуивера-Берка и его графическое выражение. Преимущества графика двойных обратных величин.
- 11) Графическое выражение зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации фермента и субстрата.

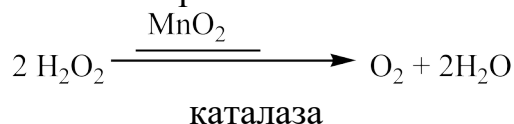
7.3. Разбор с преподавателем методов сравнения действия ферментов и неорганических катализаторов, определения специфичности, термолабильности и рН-оптимума амилазы слюны.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа № 1. Сравнение действия ферментов и минеральных катализаторов: разложение перекиси водорода неорганическим катализатором и ферментом.**

Данная работа доказывает тезис о гораздо большей эффективности белковых катализаторов по сравнению с неорганическими катализаторами. Разложение перекиси водорода может произойти под влиянием  $MnO_2$  или специфического фермента каталазы, содержащегося в эритроцитах крови. В обоих случаях выделяется молекулярный кислород, но в случае каталазы

перекись разлагается гораздо быстрее (бурное выделение пузырьков  $O_2$ ) и с меньшей концентрации катализатора.



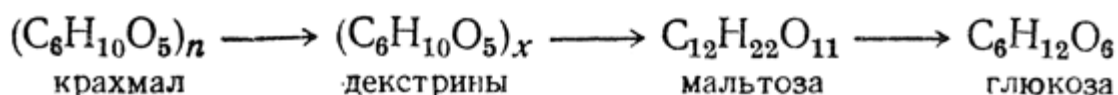
*Ход работы.* Налить в 2 пробирки по 2-3 мл 1% раствора  $H_2O_2$ . В одну пробирку прибавить небольшое количество порошка  $MnO_2$ , во вторую - 1-2 мл гемолизированной разведенной крови (в соотношении 1:1000). Обе пробирки встряхнуть и отметить выделение пузырьков молекулярного кислорода.

## Работа № 2. Специфичность ферментов.

Одно из более характерных свойств ферментов - их высокая специфичность. Ферменты специфичны как в отношении типа катализируемых реакций, так и в отношении субстратов, на которые они воздействуют. Большинство ферментов обладает абсолютной специфичностью, действуя только на какой-либо один субстрат. Высокая специфичность ферментов определяется соответствием пространственной конфигурации активного центра фермента и субстрата.

Амилаза слюны ускоряет гидролиз только полисахаридов (таких как крахмал, гликоген) до мальтозы, но не оказывает действие на дисахариды.

Гидролиз крахмала под влиянием ферментов слюны идет согласно схеме:

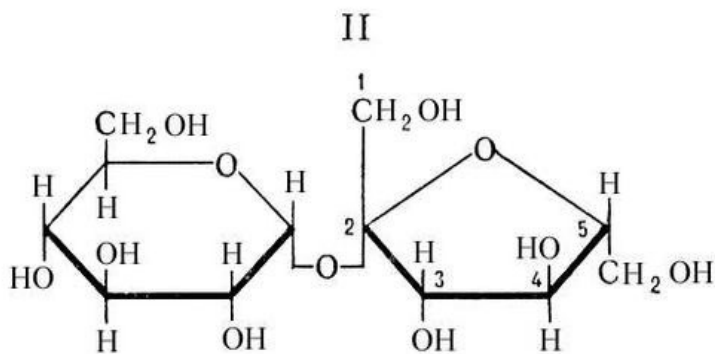


Гидролиз крахмала под действием амилазы проходит через стадию образования декстринов. Крахмал дает с йодом синее окрашивание, амилодекстрины («осколки», образующиеся после гидролиза некоторых внутренних гликозидных связей)- фиолетовое, эритро- и ахродекстрины (олигосахариды с меньшей молекулярной массой) – соответственно красно-бурое и желтое (цвет йода в воде). Конечные продукты гидролиза – мальтоза и глюкоза – имеют свободные альдегидные группы и дают реакцию Троммера, которая основана на способности углеводов при нагревании восстанавливать гидрат окиси меди (голубого цвета) в гидрат закиси (желтого цвета). При дальнейшем нагревании гидрата закиси переходит в красную закись меди.

О расщеплении крахмала можно судить на основании двух реакций:

1) реакции на крахмал с йодом и 2) реакции Троммера.

Сахароза не имеет свободной альдегидной или кетонной группы, поэтому не дает реакции Троммера. Реакция Троммера может быть положительной только в том случае, если сахароза расщепится на свои составные части – глюкозу и фруктозу.



*Ход работы.* Споласкивают рот, в чистую пробирку собирают 2-3 мл слюны, которую разводят в 5 раз.

В две пронумерованные пробирки приливают по 5 капель разведенной слюны. В 1 пробирку добавляют 10 капель 1% раствора крахмала, во 2- 10 капель 1% раствора сахарозы. Обе пробирки помещают на 10 минут в термостат или водную баню при температуре 38°C, после чего содержимое пробирок делят на 2 части, с одной продельывают реакцию на крахмал, с другой реакцию Троммера.

*Качественная реакция на крахмал*

К исследуемой жидкости добавить 1-2 капли раствора Люголя. При наличии крахмала отметьте появление темно-синего окрашивания.

*Реакция Троммера*

К 5 каплям исследуемой жидкости прибавляют 5 капель 10% раствора NaOH и 5 капель раствора CuSO<sub>4</sub> и нагревают. В присутствии глюкозы и мальтозы выпадает желтый осадок гидрата закиси меди или красный осадок закиси меди. Полученный результат занести в таблицу.

№ п/п	Субстрат	Фермент	Температура	Реакция на крахмал с йодом	Реакция Троммера	Выводы
1.						
2.						

Сделайте вывод о субстратной специфичности фермента.

### **Работа № 3. Термолабильность ферментов.**

Большинство ферментов термолабильны - при нагревании до 60-80° утрачивают каталитическую активность. Степень инактивирования зависит от длительности теплового воздействия. При низких температурах ферменты хорошо сохраняются, но скорость ферментативного катализа снижается. В термолабильности ферментов можно убедиться на примере действия ферментов слюны: амилазы и мальтазы.

*Ход работы.* В чистую пробирку отливают небольшое количество разведенной слюны (2-3мл) и кипятят ее в течение 5-8 минут, после чего охлаждают В 3 пронумерованные пробирки наливают по 10 капель 1% раствора крахмала. В 1 пробирку добавляют 10 капель слюны, разведенной в 5 раз, во 2-ю 10 капель прокипяченной слюны, в 3-ю 10 капель воды



(качестве контроля). Все пробирки помещают в термостат или водяную баню при температуре 38° на 10 минут. После этого проводят качественные реакции на крахмал и реакцию Троммера на продукты расщепления.

*Реакция на крахмал.* К 5 каплям исследуемого раствора приливают 1 каплю раствора йода в йодистом калии. В присутствии крахмала появляется синее окрашивание. Полученный результат занести в таблицу.

№ п/п	Субстрат	Фермент	Температура	Реакция на крахмал йодом	Реакция Троммера	Выводы
1.						
2.						
3.						

#### **Работа № 4. Влияние реакции среды (оптимум pH) на действие ферментов слюны.**

Для проявления максимальной каталитической активности ферментов требуются определенные условия, в том числе оптимальная концентрация водородных ионов. Каждый фермент наиболее активен в пределах довольно узкой зоны pH, называемой оптимум pH. Активность ферментов уменьшается, если pH меняется в любую сторону от оптимального значения. Отклонение pH от оптимума влияет на степень ионизации фермента и субстрата, может нарушить связь между белковой частью фермента и их простетическими группами, может влиять на связывание субстрата с ферментами.

Оптимальное значение pH для некоторых ферментов

Фермент	pH
Пепсин	1,5-2,5
Трипсин	8,0-9,0
Сахараза кишечная	6,2
Амилаза слюны	6,9-7,0
Липаза желудочного сока	6,0
Липаза панкреатическая	7,0-8,5
Каталаза	7,0

*Ход работы.* В 7 предварительно пронумерованных пробирок наливают 0,2 м раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия и 0,1 м раствор лимонной кислоты в соотношениях, указанных в таблице. Получают буферные растворы с pH от 5,6 до 8,0. В каждую пробирку добавляют по 10 капель 1% раствора крахмала, по 10 капель слюны, разведенной в 100 раз. Перемешивают содержимое пробирок и помещают их в водяную баню или термостат при температуре 38° на 5-10 минут (в зависимости от индивидуальных особенностей активности слюны).

№ п/п	Кол-во 0,2 м р-ра Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , мл	Кол-во р-ра лимонной к-ты, мл	рН смеси	Кол-во 0,5% р-ра крахмала на 1% р-р NaCl	Кол-во разведенной слюны(1:100), мл	Окрашивание с йодом
1.	0,58	0,42	5,6	по 10 капель	по 10 капель	
2.	0,63	0,37	6,0			
3.	0,69	0,31	6,4			
4.	0,77	0,23	6,8			
5.	0,87	0,13	7,2			
6.	0,94	0,06	7,6			
7.	0,97	0,03	8,0			

Затем во все пробирки добавляют по 1 капле раствора йода в йодистом калии, перемешивают, наблюдают окраску и определяют рН, при котором амилаза действует наиболее активно. В зависимости от активности слюны ее можно разводить не в 100, а в 50 или 10 раз.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. Трипсин – фермент, часто используемый в препаративной биохимии для очистки белковых препаратов в ходе анализа. Объясните, почему молекулы трипсина не атакуют друг друга, ведь трипсин относится к протеолитическим ферментам, гидролизующим пептидные связи, а сам трипсин – белок?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Основные этапы развития энзимологии.
2. Рибозимы – биологические катализаторы небелковой природы.
3. Кофакторы ферментов класса оксидоредуктаз и трансфераз.

**Задание на дом:** Регуляция активности ферментов. Изоферменты. Медицинская энзимология.

## Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## **Лабораторное занятие № 6**

**1. Тема и ее актуальность:** «Регуляция активности ферментов. Изоферменты. Медицинская энзимология».

**2. Учебные цели:** студенты должны освоить механизмы активирования и ингибирования ферментов, лежащие в основе регуляции обмена веществ и действия многих лекарств, единицы измерения ферментативной активности, методы количественного определения ферментов, основные направления медицинской энзимологии; охарактеризовать значение определения активности ферментов для диагностики заболеваний.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- механизмы активирования ферментов;
- классификацию и механизм действия ингибиторов;
- единицы измерения активности ферментов;
- механизмы количественного определения ферментов;
- множественные формы ферментов, изоферменты;
- мультиэнзимные комплексы;
- основные направления медицинской энзимологии – энзимопатологию, энзимодиагностику, энзимотерапию.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения влияния активаторов и ингибиторов на активность амилазы ротовой жидкости;
- навыком определения конкурентного торможения сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой;
- навыком определения активности амилазы ротовой полости по Вольгемуту;
- навыком определения активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови по Севелу и Товареку фотоколориметрическим методом.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- объяснять механизм активирования и ингибирования ферментов;
- графически изображать изменения кинетических характеристик фермента в присутствии различных видов активаторов и ингибиторов;
- определять активность ферментов в биологических средах;
- решать ситуационные задачи по энзимопатологии и энзимодиагностике;
- оценить диагностическую значимость определения активности ферментов в биологических средах

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Ингибиторы ферментов. Классификация, механизм действия.
- 2) Конкурентное ингибирование.
- 3) Неконкурентное ингибирование.

- 4) Активаторы ферментов. Типы активирования.
- 5) Механизм активирующего влияния ионов металлов, анионов.
- 6) Активация путем ограниченного протеолиза.
- 7) Аллостерическое активирование.
- 8) Методы определения активности ферментов.
- 9) Единицы активности ферментов.
- 10) Изоферменты. Множественные формы ферментов.
- 11) Мультиферментные комплексы.
- 12) Основные направления медицинской энзимологии: энзимодиагностика, энзимопатология, энзимотерапия.
- 16) Имобилизованные ферменты (ИФ).
- 17) Иммуноферментный анализ (ИФА).

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Константа Михаэлиса

- а) численно равна  $\frac{1}{2} V_{max}$
- б) не зависит от рН
- в) численно равна  $[S]$ , при которой скорость равна  $\frac{1}{2} V_{max}$
- г) зависит от концентрации фермента

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Ингибитор фермента – подавляемый фермент

- |                      |                          |
|----------------------|--------------------------|
| 1. малоновая кислота | а) ацетилхолинэстераза   |
| 2. прозерин          | б) сукцинатдегидрогеназа |
| 3. аспирин           | в) моноаминоксидаза      |
| 4. ниаламид          | г) циклооксигеназа       |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Путем частичного протеолиза активируются следующие ферменты

1. трипсин
2. гликогенфосфоорилаза
3. пепсин
4. плазмин
5. протеинкиназа А
6. гликогенсинтетаза

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

С увеличением константы Михаэлиса сродство фермента к субстрату возрастает, потому что между константой Михаэлиса и

сродством фермента к субстрату прямо пропорциональная зависимость.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Типы ингибирования ферментов.
- 2) Механизм действия конкурентных и неконкурентных ингибиторов. Примеры.
- 3) Типы активирования ферментов: аллостерическое, частичный протеолиз, фосфорилирование-дефосфорилирование, ассоциация-диссоциация субъединиц, ионы металлов, анионы.
- 4) Единицы активности ферментов: катал, международная единица активности, молекулярная активность, удельная активность.
- 5) Определение понятия изоферменты. Различия между изоферментами и множественными формами ферментов.
- 6) Примеры ферментов, имеющих изоферментный спектр (креатинкиназа, щелочная фосфатаза, лактатдегидрогеназа), описание их изоформ.
- 7) Диагностическое значение определения изоферментного спектра лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, щелочной фосфатазы в крови.
- 8) Мультиферментные комплексы и их типы.
- 9) Энзимопатология. Примеры заболеваний, связанных с генетическими дефектами ферментов.
- 10) Энзимотерапия. Примеры использования ферментов в качестве лекарственных средств.
- 11) Энзимодиагностика. Примеры ферментов, используемых в диагностике заболеваний.
- 12) Определение понятия иммобилизованные ферменты (ИФ). Преимущества ИФ при использовании их в практических целях.
- 13) Способы иммобилизации ферментов и материалы (носители), используемые в современной практике.
- 14) Принцип и практическое значение иммуноферментного анализа (ИФА).

7.3. Разбор с преподавателем метода определения влияния активаторов и ингибиторов на активность амилазы ротовой полости, определения конкурентного торможения сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой, определения активности амилазы ротовой полости по Вольгемуту и определения активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови по Севелу и Товареку.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа № 1. Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы ротовой жидкости.**

Целью данной работы является установление активирующего и ингибирующего влияния различных ионов на каталитическую активность ферментов. Так, например, ионы натрия и хлора стимулируют активность амилазы слюны, а ионы меди, наоборот, тормозят ее.

*Ход работы.* Споласкивают рот, в чистую пробирку собирают 3мл слюны и разводят ее в 10 раз (добавить 27 мл дистиллированной воды). В три

пробирки налить по 10 мл разведенной в 10 раз слюны. В первую пробирку добавить 1 мл 1% раствора NaCl, во вторую-1 мл 1% раствора CuSO<sub>4</sub>, в третью- 1 мл дистиллированной воды (контроль). После этого в каждую пробирку прилить по 4 мл 0,5% раствора крахмала, пробирки встряхнуть и поместить в водяную баню или в термостат с температурой 38<sup>0</sup>С на 10 мин. После истечения указанного времени с содержимым каждой пробирки проделать качественную реакцию на крахмал и пробу Троммера: к 5 каплям исследуемой жидкости прибавить 5 капель 10% раствора NaOH и 5 капель раствора CuSO<sub>4</sub> и нагреть.

Полученные результаты занесите в таблицу, определите тип активирования и тип ингибирования.

№ п/п	Субстрат	Фермент	Добавляемое вещество	Проба на крахмал	Проба Троммера	Вывод

### **Работа № 2. Конкурентное торможение сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой.**

*Принцип метода* основан на изменении окраски метиленовой сини при восстановлении его в ходе окислительно-восстановительной реакции. При дегидрировании янтарной кислоты сукцинатдегидрогеназой акцептором водорода является метиленовая синь, которая при восстановлении обесцвечивается. Чем быстрее обесцвечивается метиленовая синь, тем выше активность сукцинатдегидрогеназы. Ингибирование фермента замедляет скорость обесцвечивания метиленовой сини.

*Ход работы.* В три пронумерованные пробирки поместить 3-4 капли мышечной кашицы и добавить: в первую – 0,8 мл воды, во вторую- 0,2 мл 1% раствора малоновой кислоты и 0,6 мл воды, в третью – 0,8 мл 1% раствора малоновой кислоты. Во все три пробирки добавляют по 1 мл 1% раствора янтарной кислоты и по 1 капле 1% раствора метиленовой сини. После перемешивания добавляют по 3 капли вазелинового масла. Пробирки ставят в водяную баню, нагретую до 37<sup>0</sup>С. Через 5 мин наблюдают изменение окраски раствора. Сравните степень уменьшения голубого окрашивания в 3-х пробирках и сделать вывод о механизме действия малоновой кислоты на активность сукцинатдегидрогеназы.

### **Работа № 3. Определение активности амилазы ротовой жидкости по Вольгемуту.**

Амилаза - фермент, осуществляющий гидролитическое расщепление полисахаридов до декстринов и мальтозы. Конечные продукты действия амилазы не дают цветной реакции с йодом. Наиболее богаты амилазой слюнные и поджелудочная железы.

*Клинико-диагностическое значение* имеет определение активности амилазы в крови, куда она попадает из поджелудочной железы (40%) и слюнных желез (60%). Амилазная активность крови по Вольгемуту в норме составляет 25-125 Ед/л. При остром панкреатите в первые сутки заболевания активность



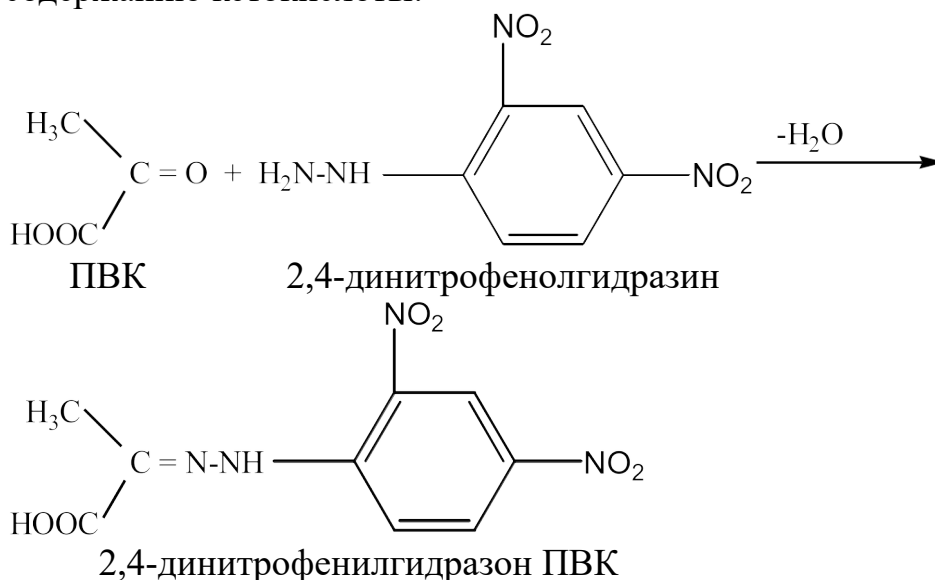


Амилокластическая активность слюны										
---------------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

*Расчет.* Берется количество слюны в последней пробирке с желтой окраской. Если это четвертая пробирка, то разведение слюны в ней – 160 раз. Составляется пропорция: 1). 160 мл слюны расщепляет 2 мл 0,1% р-ра крахмала; 2) 1 мл слюны расщепляет X мл 0,1% р-ра крахмала, т.е. амилокластическая активность слюны составляет 320 ед.

#### **Работа № 4. Фотоколориметрический метод исследования активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови по Севелу и Товареку.**

*Принцип метода.* Метод основан на определении скорости образования пирувата в ходе окисления лактата с участием лактатдегидрогеназы сыворотки крови. Пируват с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) образует соответствующий гидразон, имеющий красно-бурое окрашивание в щелочной среде, интенсивность которого прямо пропорциональна содержанию кетокислоты:



*Ход работы.* Сыворотку крови разводят в 3 раза дистиллированной водой. Вносят в пробирку 0,1 мл разведенной сыворотки, 0,3 мл раствора НАД<sup>+</sup> и ставят на 5 мин в водяную баню при 37<sup>0</sup>С (для прогревания смеси).

Во вторую пробирку добавляют 0,8 мл раствора пироглутамата натрия и 0,2 мл раствора лактата натрия и нагревают на водяной бане при 37<sup>0</sup>С.

Выливают содержимое второй пробирки в первую, быстро перемешивают стеклянной палочкой, не вынимая пробирки из бани, и отмечают время начала инкубации. Через 25 мин реакцию останавливают, прибавляя 0,5 мл раствора 2,4-ДНФГ, и оставляют пробирку на 20 мин при комнатной температуре (для образования гидразона).

К смеси приливают 5 мл раствора NaOH, содержимое перемешивают стеклянной палочкой и через 10 мин (после развития окраски) измеряют экстинкцию опытной пробы против контрольной на ФЭЖе при длине волны

520-560 нм (светофильтр зеленый) в кювете с толщиной слоя 1 см. Контрольную пробу готовят как опытную, но разведенную сыворотку добавляют после инкубации.

*Расчет.* Активность фермента рассчитывают по калибровочному графику.

*Оформление работы.* Рассчитать активность фермента в исследуемой сыворотке крови, сделать вывод о возможных причинах изменений активности фермента.

*Практическое значение работы.* Определение активности лактатдегидрогеназы используется в клинико-биохимических лабораториях для диагностики и установления прогноза заболевания. В норме активность фермента составляет 0,8-4,0 ммоль/ (ч \* л) и возрастает, как правило, у больных с повреждением миокарда, скелетных мышц, почек, а также при анемиях, опухолевых поражениях, остром гепатите и т.д.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. Зависимость  $V$  от  $[S]$  для реакции, катализируемой транскарбамоилазой, выражается сигмоидной (S-образной) кривой. После воздействия на фермент солями ртути (II) каталитическая активность фермента резко возрастает, а кривая зависимости скорости реакции от концентрации субстрата становится гиперболической. Какие выводы о механизме активации фермента ионами ртути можно сделать? Приведите примеры других ферментов, активируемых подобным образом.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Конкурентные ингибиторы ферментов как лекарственные препараты.
2. Особенности строения, кинетики и регуляции активности аллостерических ферментов.
3. Сериновые протеазы. Применение ингибиторов протеолиза в медицине.
4. Термостабильные ДНК-полимеразы (Taq-полимераза) и их использование в методе полимеразной цепной реакции (ПЦР).
5. Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и его использование в клинической и экспериментальной биохимии.
6. Энзимодиагностика заболеваний.
7. Применение ферментов в качестве лекарственных препаратов.
8. Иммуобилизованные ферменты.

**Задание на дом:** Биологические мембраны. Общие свойства гормонов. Механизмы трансдукции гормональных сигналов.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 7

**1. Тема и ее актуальность:** «Биологические мембраны. Общие свойства гормонов. Механизмы трансдукции гормональных сигналов».

**2. Учебные цели:** изучить структуру и свойства биологических мембран; закрепить знания о классификации, особенностях биологического действия гормонов, молекулярных механизмах передачи регуляторных сигналов гормонов стероидной и белковой природы.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- строение, свойства и функции биологических мембран;
- химическую природу гормонов;
- основные отличительные особенности гормонов;
- молекулярные механизмы внутриклеточной передачи гормональных сигналов: аденилатциклазная,  $Ca^{2+}$ -зависимая, инозитолтрифосфатная, диацилглицероловая системы.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- методами обнаружения гормонов белковой природы.

Для **формирования профессиональных компетенций студент должен уметь:**

- интерпретировать изменения биохимических и физиологических показателей при недостаточном и избыточном образовании некоторых гормонов белковой природы;
- по изменению биохимических показателей предположить характер нарушения функции эндокринных желез, секретирующих гормоны белковой природы

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Строение биологических мембран. Характеристика липидов и белков биологических мембран. Свойства биологических мембран (кристалличность, жидкость, асимметричность, текучесть, температура плавления).
- 2) Типы переноса веществ через биомембраны.
- 3) История изучения гормонов.
- 4) Современные представления о гормонах. Классификация гормонов по месту выработки, химической природе, действию на обмен веществ.
- 5) Особенности биологического действия гормонов. Типы гормонального влияния.
- 6) Жизненный цикл гормонов.
- 7) Типы рецепторов гормонов. Особенности гормон-рецепторного взаимодействия. G-белки.
- 8) Молекулярные механизмы внутриклеточной передачи гормональных сигналов. Цитозольный механизм действия липофильных гормонов.

9) Мембранно-цитозольный и мембранный механизм передачи гормональных сигналов. Действие через цАМФ, цГМФ, инозитол-1,4,5-трифосфат, диацилглицерол, NO и ионы  $Ca^{2+}$ .

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Транспорт углекислого газа через биомембраны происходит путем

- а) простой диффузии
- б) облегченной диффузии
- в) первичного активного транспорта
- г) вторичного активного транспорта

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Метаболический эффект - гормон

- |                       |                 |
|-----------------------|-----------------|
| 1. анаболический      | а) инсулин      |
| 2. катаболический     | б) адреналин    |
| 3. гипергликемический | в) глюкагон     |
| 4. гипогликемический  | г) соматотропин |
|                       | д) тестостерон  |
|                       | е) кортизол     |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К гормонам белково-пептидной природы относятся

- 1. тестостерон
- 2. инсулин
- 3. глюкагон
- 4. соматотропин
- 5. кортизол

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Глюкагон относится к группе гормонов белково-пептидной природы, потому что секретируется  $\alpha$ -клетками инсулярного аппарата поджелудочной железы.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Современные представления о структуре и составе биологических мембран;
- 2) Характеристика свойств биомембран.
- 3) Типы переноса веществ через биомембраны.
- 4) Определение понятия «гормон».
- 5) Функции гормонов.

- 6) Классификация гормонов.
  - 7) Особенности биологического действия гормонов.
  - 8) Отличия системных гормонов от тканевых.
  - 9) Механизм действия гормонов стероидной и белково-пептидной природы.
  - 10) Особенности рецепторной системы инсулина.
- 7.3. Разбор с преподавателем ситуационных задач.
- 7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.  
Представление и обсуждение реферативных сообщений.  
Примерные темы реферативных сообщений:
1. История развития учения о гормонах. Ученые-лауреаты Нобелевских премий, внесшие вклад в биохимию гормонов и эндокринологию.
  2. Гипоталамус – узел перекреста нервно-рефлекторных и гуморальных механизмов регуляции обмена веществ.
  3. Гормоны гипоталамуса. Структура и свойства.
  4. Передача гормональных сигналов через мембранные рецепторы.
  5. Трансдукция гормонального сигнала кортизола в клетках-мишенях.
  6. Тестостерон. Биосинтез, физиологические и биохимические эффекты.
  7. Передача сигнала инсулина. Рецепторы с тирозинкиназной активностью.

- 7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. Суточный объем мочи у пациента, жалующегося на сухость во рту, постоянную жажду и частое мочеиспускание, 4,5 литра, относительная плотность 1,004 (при норме 1,018 и более), глюкоза, белок и кетоновые тела в моче не обнаружены. Какому заболеванию могут соответствовать результаты анализов? Для обоснования ответа:

- а) назовите гормон, синтез и секреция которого нарушена в этом случае;
- б) назовите ткани-мишени, на которые действует этот гормон.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Гипоталамус – узел перекреста нервно-рефлекторных и гуморальных механизмов регуляции обмена веществ.
2. Гормоны гипоталамуса. Структура и свойства.
3. Передача гормональных сигналов через мембранные рецепторы.

**Задание на дом:** Гормоны белково-пептидной и стероидной природы.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## **Лабораторное занятие № 8**

**1. Тема и ее актуальность:** «Гормоны белково-пептидной и стероидной природы».

Гормоны белковой природы представляют собой вещества органической природы, вырабатываемые в специализированных клетках желез внутренней секреции, поступающие в кровь и оказывающие регулирующее действие на обмен веществ и физиологические функции организма. Знание общих аспектов действия гормонов, физиологического и биохимического действие отдельных гормонов необходимо для выявления синдромов эндокринных заболеваний, обусловленных дисбалансом гормонов, а также для назначения эффективного лечения. Знание биохимии стероидных гормонов чрезвычайно важно для понимания адаптивных реакций организма на различные стрессорные ситуации (боль, травма, болезнь, голод, физические напряжения и др.), для усвоения гендерных различий обмена мужского и женского организма, регуляции половыми гормонами метаболизма и функционирования репродуктивных органов, для знакомства с ролью простагландинов, лейкотриенов, тканевых гормонов в регуляции различных физиологических процессов и их участия в развитии ряда патологических состояний (воспаление, аллергические реакции и др.).

**2. Учебные цели:** закрепить знания о структуре, физиологических и метаболических эффектах гормонов белково-пептидной и стероидной природы.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- химическую природу, особенности синтеза, регуляцию синтеза и секреции, транспорт, биологическое действие некоторых гормонов белково-пептидной и стероидной природы;
- действие гормонов белковой (инсулина, глюкагона, тироксина, адреналина) и стероидной (глюкокортикоидов) на обмен веществ;
- проявления недостаточной и избыточной продукции некоторых стероидных, белковых и пептидных гормонов.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком качественного определения инсулина, адреналина, тироксина в сыворотке крови;
- навыком качественного определения фолликулина (эстрогена) и 17-кетостероидов в моче;
- навыком количественного определения адреналина в сыворотке крови по Фолину и 17-кетостероидов в моче.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- интерпретировать изменения биохимических показателей и физиологических функций при недостаточности и избыточной продукции глюкокортикоидов, минералкортикоидов, андрогенов, эстрогенов и



прогестинов, гормонов гипофиза, щитовидной и паращитовидной желез, поджелудочной железы и мозгового слоя надпочечников

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1) Нервно-рефлекторный и эндокринный пути регуляции обмена веществ. Гипоталамус – нервный и гуморальный центр регуляции метаболизма. Структура и биологическая роль либеринов и статинов.

2) Гормоны аденогипофиза: соматотропин, ФСГ, ЛГ, пролактин, тиротропин, кортикотропин. Характеристика структуры, биологической функции этих гормонов, проявления избыточной секреции и их гипопродукции.

3) Гормоны задней доли гипофиза (нейрогормоны). Особенности структуры и эффектов вазопрессина (антидиуретического гормона) и окситоцина. Проявления гипопродукции вазопрессина.

4) Йодированные гормоны щитовидной железы. Структура, биосинтез, секреция, транспорт и поступление в клетки тироксина и трийодтиронина. Их влияние на обмен веществ. Особенности взаимодействия тиротропного гормона и щитовидной железы. Проявления тиреотоксикоза, микседемы, эндемического зоба.

5) Инсулин. Структура, особенности синтеза и секреции инсулина. Влияние на обмен углеводов, жира, белков. Особенности структуры инсулинового рецептора и передачи гормонального сигнала в клетке.

6) Глюкагон. Структура, ткани-мишени, влияние на обмен веществ.

7) Гормоны мозгового слоя надпочечников. Строение, биосинтез, метаболические эффекты адреналина и норадреналина. Особенности действия на обмен углеводов и липидов в печени и скелетных мышцах.

8) Мужские половые гормоны. Структура тестостерона и андростендиона, регуляция секреции, биологическая роль, влияние на обмен веществ, особенности транспорта в крови и метаболизма в жировой ткани и печени. Стероидные анаболизаторы.

9) Женские половые гормоны. Структура эстрадиола, эстрона, эстриола, биологическая роль, влияние на обмен веществ. Прогестерон: структура, биологическая роль. Изменения содержания эстрогенов и прогестерона в крови, в отдельные фазы менструального цикла женщин. Регуляция секреции эстрогенов и прогестинов.

10) Гормоны коркового слоя надпочечников. Классификация, структура адренокортикостероидов и эстрокортикостероидов.

11) Глюкокортикоиды. Структура, субстраты и зона их синтеза, регуляция секреции, влияние на обмен углеводов, липидов, белков. Проявления гипер- и гипокортицизма.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

## 7. Содержание занятия:

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Недостаточность гормонов коркового слоя надпочечников вызывает

- а) кретинизм
- б) микседема
- в) болезнь Аддисона
- г) ксерофтальмия

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Гормон – рецептор гормона

- |              |                    |
|--------------|--------------------|
| 1. инсулин   | а) мембранный      |
| 2. кортизол  | б) внутриклеточный |
| 3. тироксин  |                    |
| 4. адреналин |                    |
| 5. глюкагон  |                    |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К гормонам с анаболическим эффектом относятся

- 1. тестостерон
- 2. эстрадиол
- 3. глюкагон
- 4. адреналин
- 5. инсулин

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Эндемический зоб сопровождается избыточной продукцией тироксина, потому что наблюдается недостаточное поступление йода.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Представители гормонов белковой природы.
- 2) Механизм действия гормонов белковой природы.
- 3) Гипоталамус – вегетативный центр нервно-рефлекторной и эндокринной регуляции обмена веществ.
- 4) Характеристика гормонов гипоталамуса.
- 5) Гормоны передней доли гипофиза: структура, биологические функции гормонов, проявления избыточной секреции и их гипопродукции.
- 6) Тиреоидные гормоны щитовидной железы: структура, синтез, транспорт, влияние на обмен веществ, заболевания, связанные с гипер - и гипопродукцией гормонов.
- 7) Характеристика гормонов, влияющих на кальций-фосфорный обмен.

8) Гормоны поджелудочной железы: структура, синтез, транспорт, влияние на обмен веществ, заболевания, связанные с гипер - и гипопродукцией гормонов.

9) Гормоны мозгового слоя надпочечников: структура, синтез, транспорт, влияние на обмен веществ, заболевания, связанные с гипер - и гипопродукцией гормонов.

10) Характеристика гормонов коры надпочечников и половых желез.

7.3. Разбор с преподавателем метода обнаружения инсулина, адреналина, тироксина в сыворотке крови; 17-кетостероидов в моче; фолликулина (эстрогена); количественного определения адреналина в сыворотке крови по Фолину и 17-кетостероидов в моче.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

### **Работа № 1. Качественные реакции на инсулин.**

Инсулин является типичным гормоном белковой природы, содержащий сульфгидрильные группы цистеина, и дает цветную биуретовую реакцию на белок и реакцию Фоля на содержание SH-групп. Для реакций используют готовый препарат инсулина в ампулах.

а) Биуретовая реакция на пептидную связь.

*Ход работы:* В пробирку добавить 5 капель раствора инсулина, 10 капель раствора 10% раствора едкого натра и 1 каплю 1% раствора сульфата меди. Отметить появление сине-фиолетового окрашивания.

б) Реакция Фоля на серу содержащие аминокислоты.

*Ход работы:* В пробирку налить 5 капель раствора инсулина, добавить 5 капель 30% раствора едкого натра и 1 каплю 5% раствора уксуснокислого свинца. Отметить появление черного осадка.

### **Работа № 2. Качественные реакции на адреналин.**

а) Реакция с хлорным железом.

Ядро пирокатехина адреналина образует с ионами железа соединения типа фенолята.

*Ход работы:* В пробирку поместить 3 капли 0,1% раствора адреналина, прибавить 1 каплю 1% раствора хлорного железа ( $FeCl_3$ ). Отметить появление изумрудно-зеленого окрашивания. При добавлении 1 капли концентрированного раствора аммиака окраска переходит в красную, а затем в коричневую.

б) Диазореакция.

При добавлении к раствору адреналина диазореактива образуется сложное соединение типа азокрасителя красного цвета.

*Ход работы:* Поместить в пробирку 3 капли 1% раствора сульфаниловой кислоты, 3 капли 5% раствора азотистокислого натрия ( $NaNO_2$ ), 5 капель 0,1% раствора адреналина и 3 капли 10% раствора углекислого натрия. Отметить появление красной окраски.

### **Работа № 3. Качественная реакция на тироксин.**

При разрушении тироксина щелочью образуется йодистый калий, из которого йодноватистый калий легко вытесняет свободный йод. Выделившийся йод дает с крахмалом характерное синее окрашивание.

*Ход работы:* Для щелочного гидролиза тиреоидина 5 таблеток тиреоидина тщательно растереть в фарфоровой ступке. Порошок переместить в колбочку для гидролиза, добавить 5 мл. 10% раствора едкого калия (KOH) и 5 мл. дистиллированной воды. Содержимое колбы кипятить 12-15 минут.

Для открытия йода к 1мл. гидролизата добавить по каплям 10% раствора серной кислоты ( $H_2SO_4$ ) до кислой реакции по лакмусу, затем прибавить 3-4 капли 1% раствора крахмала и 5-10 капель 2% раствора йодноватистого калия ( $KIO_3$ ). Отметить появление синего окрашивания.

#### **Работа № 4. Количественное определение адреналина (по Фолину).**

*Принцип метода.* Метод основан на колориметрическом определении интенсивности синего окрашивания, которое образуется при взаимодействии адреналина с реактивом Фолина.

Реактив Фолина состоит из солей фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот, которые при взаимодействии с адреналином восстанавливаются с образованием более низких окислов металлов, комплексы которых окрашиваются в синий цвет.

*Ход работы:* В 2 центрифужные пробирки (опыт и контроль) внести по 1мл 5% раствора трихлоруксусной кислоты. В опытную пробирку прилить 0,1мл сыворотки (плазмы) крови или 0,5мл слюны, в контрольную – такой же объем дистиллированной воды. Пробирки встряхнуть и центрифугировать при 2000 об./мин. В течение 5-6 минут. Надосадочную жидкость осторожно слить в чистые пробирки, добавить по 4мл. 10% раствора углекистого натрия ( $Na_2CO_3$ ) и 0,5мл. рабочего раствора Фолина. Развивается синяя окраска, интенсивность которого измерить в кювете на 10мм при красном светофильтре опыт против контроля.

Количество адреналина в пробе определить по калибровочному графику с содержанием в 10,15 и 20 мкг адреналина в 0,1мл воды и выражают на литр биологической жидкости.

У здорового человека в сыворотке (плазме) крови содержится 100-230 мкг/л, в слюне – 0-30 мкг/л адреналина. При эмоциональном или физическом напряжении, при феохромоцитоме (опухоль мозгового слоя надпочечников) содержание гормона многократно возрастает.

#### **Работа № 5. Качественная реакция на фолликулин (эстрон) с концентрированной серной кислотой.**

В пробирку поместить 20-30 капель спиртового раствора фолликулина и выпарить спирт в кипящей водяной бане в течение 8-10 мин. Добавить 20 капель (осторожно!) концентрированной серной кислоты и пробирку вновь поставить в кипящую водяную баню за 5-10 мин. Жидкость в пробирке приобретает соломенно-желтую окраску, постепенно переходящую в оранжевую.

С масляным раствором фолликулина реакцию проводят при комнатной температуре.

#### **Работа № 6. Качественная реакция на 17-кетостероиды в моче.**

17-кетостероиды – это группа стероидов, имеющих у семнадцатого углеродного атома кетогруппу, например, андростерон, эстрон и др. Частично они являются метаболитами кортизола, кортизона, окисляющихся в печени.

При действии мета-динитробензола на 17-кетостероиды образуется продукт конденсации вишнево-красного цвета.

*Ход работы:* В пробирку поместить 5 капель мочи, 5 капель 30% раствора едкого натра, 5 капель 2% спиртового раствора мета-динитробензола и перемешать. Отметить появление через 2-3 мин вишнево-красного окрашивания.

#### **Работа № 7. Количественное определение 17-кетостероидов в моче.**

Количество 17-кетостероидов в моче у здорового человека составляет у мужчин 7-23мг/сутки и 6-18мг/сутки у женщин. Различные состояния напряжения (стресс) характеризуются повышением их экскреции до 1,5 раз и более. При раке коры надпочечников интенсивность экскреции 17-кетостероидов с мочой возрастает в 2-10 раз.

*Принцип метода.* При взаимодействии 17-кетостероидов с мета-динитробензолом образуются хромогены вишнево-красного окрашивания. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию 17-кетостероидов.

*Ход работы:* В 2 пробирки (контроль и опыт) прилить по 10 мл мочи, по 3 мл 6N соляной кислоты (HCl) и по 0,5 мл ледяной (концентрированной) уксусной кислоты. Смесь взболтать и поставить пробирки в кипящую водяную баню на 15 мин. Затем пробирки охладить и добавить по 10 мл этилового эфира, тщательно перемешать и верхнюю фазу (эфирный экстракт) отсосать в пробирки (контроль и опыт), выпарить эфир досуха в водяной бане при температуре 70-80°C. В обе пробирки прилить по 0,2 мл этилового спирта, по 0,2 мл 3N едкого калия (KOH). В опытную пробирку добавить 0,2 мл 0,2% спиртового раствора мета-динитробензола. Затем пробы поставить в темное место на 1 час для развития окраски. После появления окраски в опытной пробе, в обе пробирки прилить по 4 мл этилового спирта и колориметрировать в кюветах, толщиной 10мм с зеленым светофильтром, опыт против контроля.

Количество 17-кетостероидов находят по калибровочному графику, построенному с 50 и 100 мкг андростенона.

Рассчитать уровень суточной экскреции 17-кетостероидов с мочой (мкг/сутки) учитывая объем суточной мочи (в мг) и результат содержания гормонов в 10 мл мочи по калибровочному графику.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. У больного резко повышено кровяное давление, содержание сахара и свободных жирных кислот выше нормы, глюкозурия. Количество норадреналина и адреналина в плазме крови повышено в 500 раз. С чем это может быть связано?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Тестостерон. Биосинтез, физиологические и биохимические эффекты.
2. Передача сигнала инсулина. Рецепторы с тирозинкиназной активностью.
3. Глюкагон и инсулин. Особенности взаимодействия в периоде абсорбции пищевых веществ.
4. Катехоламины: рецепторы и механизмы действия на обмен углеводов и липидов.
5. Йодированные гормоны щитовидной железы. Регуляция продукции и секреции гормонов щитовидной железы.

**Задание на дом:** Контрольное занятие по модулю «Ферменты. Основы регуляции обмена веществ».

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)

7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 9

**1. Тема и ее актуальность:** Контрольное занятие по модулю «Ферменты. Основы регуляции обмена веществ».

**2. Учебные цели:** проверить и закрепить знания студентов о ферментах, гормонах и методах их анализа, имеющих значение для клинической медицины.

**Формируемые компетенции:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1. Что такое ферменты? История развития учения о ферментах.
2. Общие свойства ферментов. Какие опыты позволяют их обнаружить. Сходства и отличия ферментов и неорганических катализаторов.
3. Химическая природа ферментов. Ферменты-протеиды и ферменты-протеины. Что такое кофактор, апофермент, холофермент, активный и аллостерический центры.
4. Химическая природа кофакторов и коферментов.
5. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, рН, концентрации фермента, графическое изображение зависимости. Термостабильные и термолабильные ферменты.
6. Константа Михаэлиса, ее вывод и физический смысл.
7. Зависимость ферментной реакции от концентрации субстрата. Уравнение Михаэлиса-Ментен. График зависимости. Анализ уравнения Михаэлиса-Ментена. (различные соотношения  $[S]$  и  $K_m$ ). Уравнение Лайнуивера-Берка его графическое выражение.
8. Активаторы ферментов, типы их действия.
9. Ингибиторы ферментов. Специфические и неспецифические, обратимое и необратимое, конкурентное и неконкурентное, ингибирование.
10. Механизм действия ферментов. Влияние ферментов на энергию активации реакции. Механизм действия холинэстеразы.
11. Номенклатура и классификация ферментов. Характеристика отдельных классов и подклассов ферментов. Цифровой шифр ферментов.
12. Единицы выражения активности ферментов.
13. Изоферменты. Значение определения изоферментов в медицинской практике. Изоферменты лактатдегидрогеназы, креатинфосфатазы, щелочной фосфатазы.
14. Понятие о мультиферментных комплексах.
15. Энзимодиагностика различных заболеваний.
16. Понятие и примеры энзимопатий.
17. Понятие о энзимотерапии в медицинской практике.
18. Имобилизованные ферменты (ИФ). Понятие об инженерной энзимологии. Применение ИФ в промышленности, медицине иммуноферментный анализ.



19. Современные представления о понятии «гормон». Гормоны системные и тканевые. Классификация гормонов по месту выработки, химической природе, направленности действия на обмен веществ, механизмам действия.
20. Основные принципы действия системных гормонов на метаболизм: особенности образования и секреции, транспорта в крови и межклеточной жидкости, дистантность действия, «клетки-мишени», характер взаимодействия с рецепторами, уровни регулирующего влияния на тканевые ферменты.
21. Молекулярные механизмы действия гормонов в клетках-мишенях. Характеристика рецепторов и действия липофильных гормонов. Рецепторы гидрофильных белково-пептидных гормонов. Передаточные G-белки. Вторичные мессенджеры: циклические АМФ и ГМФ, инозитолтрифосфат и диацилглицерол.
22. Нервно-рефлекторный и эндокринный пути регуляции обмена веществ. Гипоталамус – нервный и гуморальный центр регуляции метаболизма. Структура и биологическая роль либеринов и статинов.
23. Гормоны аденогипофиза: соматотропин, ФСГ, ЛГ, пролактин, тиротропин, кортикотропин. Характеристика структуры, биологической функции этих гормонов, проявления избыточной секреции и их гипопродукции.
24. Гормоны задней доли гипофиза (нейрогормоны). Особенности структуры и эффектов вазопрессина (антидиуретического гормона) и окситоцина. Проявления гипопродукции вазопрессина.
25. Йодированные гормоны щитовидной железы. Структура, биосинтез, секреция, транспорт и поступление в клетки тироксина и трийодтиронина. Их влияние на обмен веществ. Особенности взаимодействия тиротропного гормона и щитовидной железы. Проявления тиреотоксикоза, кретинизма, микседемы, эндемического зоба.
26. Инсулин. Структура, особенности синтеза и секреции инсулина. Влияние на обмен углеводов, жира, белков. Особенности структуры инсулинового рецептора и передачи гормонального сигнала в клетке.
27. Глюкагон. Структура, ткани-мишени, влияние на обмен веществ. Механизмы регулирующего действия глюкагона на активность ключевых ферментов гликогенеза и гликолиза в печени и липолиза в жировой клетке.
28. Гормоны мозгового слоя надпочечников. Строение, биосинтез, метаболические эффекты адреналина и норадреналина. Особенности действия на обмен углеводов и липидов в печени и скелетных мышцах.
29. Мужские половые гормоны. Структура тестостерона и андростендиона, регуляция секреции, биологическая роль, влияние на обмен веществ, особенности транспорта в крови и метаболизма в жировой ткани и печени. Стероидные анаболизаторы.
30. Женские половые гормоны. Структура эстрадиола, эстрона, эстриола, биологическая роль, влияние на обмен веществ. Прогестерон: структура, биологическая роль. Изменения содержания эстрогенов и прогестерона в

крови, в отдельные фазы менструального цикла женщин. Регуляция секреции эстрогенов и прогестинов.

31. Гормоны коркового слоя надпочечников. Классификация. Характеристика зон образования, структура адренокортикостероидов и эстрокортикостероидов.

32. Глюкокортикоиды. Структура, субстраты и зона их синтеза, регуляция секреции, влияние на обмен углеводов, липидов, белков. Проявления гипер- и гипокортицизма.

33. Альдостерон. Структура, зона образования, регуляция секреции. Влияние на водно-солевой обмен.

34. Кальцитонин. Паратгормон. Д-гормон. Структура, ткани-мишени, влияние на кальций-фосфатный обмен. Особенности превращения витамина Д в Д-гормон (кальцитриол) в печени и почках.

35. Гормоны желудочно-кишечного тракта: гастрин, секретин. Структура, биологические функции.

36. Эритропоэтин. Место образования и регуляция секреции, структура, биологическая роль.

37. Лептин. Структура, физиологические функции.

38. Ренин-ангиотензиновая система. Особенности образования ангиотензина I и ангиотензина II. Биологическая роль ангиотензина II.

39. Калликреин-кининовая система. Брадикинин, особенности синтеза и его биологическая роль.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** компьютеры, плакаты, таблицы, ситуационные задачи.

**7. Содержание занятия:**

Студентам предстоит пройти компьютерное тестирование. Каждому студенту будет предложено ответить на ряд тестовых заданий. Условием допуска до устного собеседования является успешное выполнение не менее 70 % тестов.

При собеседовании студент должен ответить на контрольные вопросы из модуля.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

**Задание на дом:** Введение в обмен веществ. Биохимия питания. Анализ пищеварительных соков. Витамины.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 10

**1. Тема и ее актуальность:** «Введение в обмен веществ. Биохимия питания. Анализ пищеварительных соков. Витамины».

Обмен веществ и энергии – характерная черта живых организмов. По выражению Ф. Энгельса – с прекращением обмена веществ прекращается и жизнь. Обмен веществ обеспечивает организм энергией путем расщепления пищевых веществ, осуществляет превращение пищевых молекул в низкомолекулярные предшественники, используемые в клетках для расщепления или биосинтеза собственных молекул, сборку биополимеров и надмолекулярных структур клеток и тканей, разрушение своих биомолекул нарушенных или выполнивших специфические функции.

Метаболизм – совокупность превращений веществ и энергии в организме, происходящих с участием ферментов. Метаболические пути (ферментативная цепь химических реакций) бывают линейными, разветвленными, циклическими, связаны друг с другом общими метаболитами и образуют единую сетку реакции. Метаболизм складывается из фаз катаболизма и анаболизма. Первая стадия катаболизма превращение полимеров в мономеры – переваривание протекает в желудочно-кишечном тракте, лизосомах; вторая - специфические пути катаболизма и третья – общий путь катаболизма. Анаболизм – синтез молекул из простых предшественников с участием ферментов, затратой энергией макро-эргов или восстановленных эквивалентов НАДН, НАДФН и ФАДН<sub>2</sub>.

Изучением энергетических превращений, которые сопровождают биохимические реакции, занимается биоэнергетика, или биохимическая термодинамика.

Знания биохимии питания и пищеварения, основных и минорных пищевых веществ, путей катаболизма, основ биологического окисления, образования макроэргов совершенно необходимы для усвоения других медико-биологических, специальных клинических дисциплин и формирования профессиональных компетенций студента-медика.

**2. Учебные цели:** овладеть знаниями об основных компонентах пищи и этапах обмена веществ, методами качественного и количественного анализа желудочного сока; усвоить структуру, свойства и биологическую роль жирорастворимых витаминов; овладеть некоторыми методами качественного анализа витаминов.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать**:

- компоненты пищи, макро - и микронутриенты;
- этапы обмена веществ, этап пищеварения;
- химический состав ротовой жидкости, желудочного сока, панкреатического сока, желчи и кишечного сока, их роль в процессах пищеварения;
- патологические компоненты желудочного сока, изменения кислотности желудочного сока при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта;

- классификации, номенклатуру и биологическую роль витаминов и витаминоподобных веществ;
- химическую структуру, биологическую роль суточную потребность жирорастворимых витаминов, характерные признаки а-, гипо- и гипервитаминозов.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком качественного и количественного анализа желудочного сока;
- навыком качественного анализа витаминов.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- давать характеристику основным классам нутриентов и их роли в питании;
- проводить анализ нормальных и патологических компонентов желудочного сока;
- давать клинико-диагностическую оценку результатов исследований состава и кислотности желудочного сока;
- проводить качественное определение витаминов

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Питание как составная часть обмена веществ. Понятие об адекватном питании. Частичная взаимозаменяемость пищевых веществ. Незаменимые компоненты пищи.
- 2) Минеральные вещества пищи. Макро-, микро- и ультрамикроэлементы. Биологическая роль минеральных веществ. Понятие об эндемических заболеваниях: эндемический зоб, флюороз, анемии.
- 3) Основные пищевые вещества. Биологическая ценность различных белков. Суточная потребность. Незаменимые аминокислоты. Азотистый баланс. Нарушение белкового питания. Понятие о квашиоркоре.
- 4) Углеводы и жиры как компоненты пищи. Суточная потребность, значение. Пищевые волокна. Полиненасыщенные жирные кислоты  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 семейства.
- 5) Этапы обмена веществ. Характеристика этапа пищеварения.
- 6) Химический состав пищеварительных соков (слюна, желудочный, панкреатический и кишечный соки, желчь). Виды кислотности желудочного сока.
- 7) Витамины как незаменимые компоненты питания. История развития учения о витаминах. Вклад Н.И. Лунина, Эйкмана, К.Функа, Н.Д.Зелинского, А.М. Баха, В.А. Палладина, П. Сосина и др.
- 8) Номенклатура и классификация витаминов (по растворимости и в зависимости от биологической роли). Первичные и вторичные гиповитаминозы и авитаминозы. Антивитамины. Классификация антивитаминов исходя из механизма действия.

9) Витамин А. Структура, биологическая роль, проявления гипер- и авитаминоза,  $\beta$ -каротин. Суточная потребность. Участие в акте зрения.

10) Витамины группы Д ( $D_2$  и  $D_3$ ). Провитамины Д – эргостерин и 7-дегидрохолестерин. Образование активных форм витамина Д (гидроксилирование). Гормоноподобный механизм действия. Проявления гипо- и ги-первитаминоза Д.

11) Витамин Е. Структура, пищевые источники, суточная потребность. Биологическая функция. Синтетические антиоксиданты.

12) Витаминоподобные вещества. Характеристика (структура, биороль) липоевой кислоты, холина, инозита, витамина U, P,  $B_{15}$ , F.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Пепсин относится к классу

- а) оксидоредуктазы
- б) трансферазы
- в) гидролазы
- г) лиазы
- д) изомеразы
- е) лигазы

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Пептидазы – название фермента

- |                  |                      |
|------------------|----------------------|
| 1. экзопептидаза | а) пепсин            |
| 2. эндопептидаза | б) трипсин           |
|                  | в) химотрипсин       |
|                  | г) карбоксипептидаза |
|                  | д) аминопептидаза    |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Из фенилаланина при гниении белков образуются

- 1. скатол
- 2. фенол
- 3. индол
- 4. крезол
- 5. бензойная кислота

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

В толстом кишечнике протекают процессы гниения белков, потому что в слизистой толстого кишечника не вырабатываются пептидазы.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Основные компоненты пищи.
- 2) Незаменимые компоненты пищи.
- 3) Энергетическая ценность основных классов макронутриентов.
- 4) Пищевые волокна, их роль в питании.
- 5)  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 жирные кислоты, их биологическая роль.
- 6) Незаменимые аминокислоты.
- 7) Этапы обмена веществ. Этап пищеварения.
- 8) Нормальные и патологические компоненты желудочного сока.
- 9) Функции соляной кислоты желудочного сока.
- 10) История развития учения о витаминах.
- 11) Номенклатура и классификация витаминов.
- 12) Определение понятия гиповитаминоз, гиповитаминоз, авитаминоз.
- 13) Антивитамины, классификация на основе механизма действия.
- 14) Примеры применения лекарств, проявляющих свойства антивитаминов.
- 15) Витаминоподобные вещества, примеры.
- 16) Жирорастворимые витамины: строение, суточная потребность, источники, биологическая роль, проявления гиповитаминоза.

7.3. Разбор с преподавателем методов качественного и количественного анализа желудочного сока; методов качественного анализа витаминов.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа № 1. Определение pH слюны.**

Полоску универсальной индикаторной бумаги смочить слюной и сразу же сравнить окраску бумаги с индикаторной шкалой. Отметьте  $pH = \dots$

#### **Работа № 2. Обнаружение в слюне роданистых солей.**

В пробирку собрать 0,5-1,0 мл слюны, прилить равный объем воды и добавить несколько капель 1% раствора  $FeCl_3$ . Отметить появление розового окрашивания.

#### **Работа № 3. Определение кислотности желудочного сока.**

Ориентировочно кислотность (pH) желудочного сока устанавливают с помощью индикатора п-диметиламиноазобензола или с помощью универсальной индикаторной бумаги.

А. Определение pH желудочного сока с помощью п-диметиламиноазобензола.

К 0.5-1.0 мл желудочного сока прибавить 1-2 капли индикатора. При наличии свободной соляной кислоты появляется оранжево-красная окраска.

Зона перехода окраски п-диметиламиноазобензола лежит в пределах pH 2.9- 4.0, ниже 2-х pH 2,9- окраска красная, выше pH 4.0- желтая.

Б. Определение pH желудочного сока с помощью универсальной индикаторной бумаги.

Полоску универсальной индикаторной бумаги погружают в желудочный сок и немедленно сравнивают полученную окраску со цветной шкалой индикатора.

**В. Определение рН желудочного сока с помощью рН метра.**

Выполняется по инструкции к прибору: подключенный к сети рН метр прогревается, затем электроды погружаются в исследуемый желудочный сок, показания снимаются со шкалы прибора.

#### **Работа № 4. Обнаружение в желудочном соке летучих жирных кислот.**

Летучие жирные кислоты (уксусная, масляная, пропионовая) появляются в желудочном соке при недостатке или при отсутствии соляной кислоты в результате брожения компонентов пищи под влиянием ферментов микроорганизмов.

*Ход работы:* В пробирку поместить 1-2 мл желудочного сока, содержащего летучие жирные кислоты, и содержимое пробирки нагреть на спиртовке. Отметить появление резкого запаха (запах брынзы).

#### **Работа № 5. Качественная реакция на молочную кислоту (проба Уфельмана).**

Увеличение содержания молочной кислоты в желудочном соке наблюдается при ряде заболеваний, сопровождающихся ахлоргидрией, особенно при раке желудка.

*Ход работы:* К 1 мл 1% раствора фенола добавить 3-5 капель раствора  $FeCl_3$ . Отметить образование фенолята железа фиолетового цвета.

В пробирку с фенолятом железа добавить по каплям желудочный сок, содержащий молочную кислоту. Отметить переход фиолетовой окраски в желто-зеленую в результате образования молочнокислого железа.

Добавить 1-2 капли соляной кислоты. Жидкость обесцвечивается в следствии разрушения соли.

#### **Работа № 6. Обнаружение крови.**

Реакция основана на окислении бензидина под действием атомарного кислорода, образующегося из пероксида водорода при действии гемоглобина крови (метгемоглобин).

Кровь в желудочном соке появляется при опухолях, язве желудка, гипертрофических гастритах, варикозном расширении вен пищевода и других заболеваниях.

*Ход работы:* В пробирку прилить 1-2 мл желудочного сока, содержащего кровь, добавить 4-5 капель 0,2% спиртового раствора бензидина и 5-6 капель 1% раствора пероксида водорода. Отметить появление синего окрашивания в результате образования дифенохинондиимина - продукта окисления бензидина.

#### **Работа № 7. Обнаружение желчи.**



Желчь в желудочном соке появляется нередко при ахлоргидрических и ахилических гастритах, раке желудка, при антиперистальтических движениях кишечника. В составе желчи химическим путем определяют желчные кислоты и желчные пигменты.

*А. Проба на желчные пигменты (проба Гмелина).*

Реакция основана на окислении азотной кислотой билирубина в биливердин зеленого цвета.

*Ход работы:* В пробирку налить 1-2 мл концентрированной азотной кислоты и осторожно по стенке наслоить желудочный сок, содержащий желчь. Отметить образование на границе наслаивания зеленого кольца.

*Б. Проба на желчные кислоты (реакция Петтенкофера).*

Реакция основана на конденсации желчных кислот с оксиметилфурфуролом, образующимся под влиянием концентрированной серной кислоты из сахарозы. Продукт конденсации имеет красно-фиолетовую окраску.

*Ход работы:* В пробирку поместить 1-2 мл желудочного сока, содержащего желчь, добавить 5-6 капель 5% раствора сахарозы и осторожно по стенке наслоить 1-2 мл концентрированной серной кислоты. Отметить на границе наслаивания образование красно-фиолетового кольца

**Работа № 8. Количественный анализ желудочного сока.**

Определение общей кислотности, свободной соляной кислоты и связанной соляной кислоты в одной порции.

Принцип определения кислотности желудочного сока основан на титровании кислореагирующих веществ 0,1 н раствором едкого натра. Пользуясь различными индикаторами в одной и той же порции желудочного сока, определяют как общую кислотность, так и содержание свободной и связанной соляной кислоты.

Общая кислотность желудочного сока выражается количеством мл 0,1 н раствора щелочи, пошедших на титрование 100 мл желудочного сока в присутствии индикатора фенолфталеина.

В норме общая кислотность равна 40-60 ммоль/л (Е).

Свободная соляная кислота выражается количеством мл 0,1 н. раствора щелочи, пошедших на титрование 100 мл желудочного сока в присутствии индикатора п-диметиламиноазобензола. В норме содержание свободной соляной кислоты равно 20-30 Е.

Связанная соляная кислота находится расчетным путем и в норме составляет 10-20 ммоль/л (Е).

*Ход работы:* Отмерить в колбочку 5 мл желудочного сока, прибавить по 1-2 капли индикаторов фенолфталеина и п-диметиламиноазобензола. Содержимое колбочки оттитровать из бюретки 0,1 н. раствором щелочи. При титровании отметить следующие уровни в бюретке:

I-перед началом титрования;

II- в момент перехода цвета жидкости от красного в оранжевый;

III- в момент перехода цвета жидкости от оранжевого в лимонно-желтый;

IV- в момент перехода цвета жидкости в розовый цвет.

*Расчет:* Предположим, что при титровании в бюретке были отмечены следующие уровни: I-0 мл, II-1,6 мл, III-2,0 мл, IV-2,6 мл.

$$\text{Общая кислотность} = \frac{(IV-I) \times 100}{5} = \frac{(2,6-0) \times 100}{5} = 52 \text{ ммоль/л}$$

$$\text{Свободная соляная кислота} = \frac{(II-I) \times 100}{5} = \frac{(1,6-0) \times 100}{5} = 32 \text{ ммоль/л}$$

Общая соляная кислота:

$$= \frac{\left[ \frac{(III+IV)}{2} \right] \cdot 100}{5} = \frac{\left[ \frac{(2,0+2,6)}{2} - 0 \right] \cdot 100}{5} = 46 \text{ мЭкв/л (E)}$$

$$\text{Связанная соляная кислота} = \text{Общая} - \text{Свободная} = 46 - 32 = 14 \text{ мЭкв/л (E)}.$$

На занятии студент обязан провести определение всех видов кислотности в нормальном желудочном соке и в желудочных соках, имеющих повышенную и пониженную кислотность. Полученные результаты внести в таблицу:

Желудочный сок	Общая кислотность	Свободная соляная кислота	Связанная соляная кислота
Нормальный желудочный сок			
Желудочный сок с повышенной кислотностью			
Желудочный сок с пониженной кислотностью			

### **Работа № 9. Качественная реакция на витамин А с хлорным железом.**

В сухую пробирку налить 1-2 капли рыбьего жира, 10-15 капель хлороформа. Перемешать и добавить 5 капель 1% раствора хлорного железа. Отметить появление ярко-зеленого окрашивания.

### **Работа № 10. Качественные реакции на витамин Д.**

1. Анилиновая проба на витамин Д.

В сухую пробирку налить 5 капель рыбьего жира, 15 капель хлороформа и 5 капель анилинового реактива (15 частей анилина и 1 часть

концентрированной соляной кислоты). Осторожно нагреть на спиртовке и отметить появление красного окрашивания.

### *2. Реакция с серной кислотой.*

В пробу налить 1 каплю масляного раствора витамина Д, 4 капли хлороформа, перемешать и добавить 2 капли концентрированной серной кислоты. Встряхнуть и отметить появление ярко-желтого окрашивания, переходящего в буро-красное.

### **Работа № 11. Качественная реакция на витамин Е с азотной кислотой.**

В сухую пробирку налить 5 капель 1% раствора токоферола, прибавить 10 капель концентрированной азотной кислоты и встряхнуть. После отстаивания эмульсии отметить появление красного окрашивания в верхнем слое.

### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

#### Решение типовой задачи.

Больного беспокоят боли в области желудка после приема пищи, отрыжка с неприятным запахом тухлых яиц.

ответьте:

1. Чем могут быть вызваны такие нарушения?
2. Какие процессы могут быть причиной появления такого запаха?
3. Какое обследование требуется провести больному?
4. Что рекомендуется больному для процесса нормализации пищеварения?

#### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

#### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Ферменты желудочного сока в норме и патологии.
2. Ферменты поджелудочного сока, роль в норме и патологии.
3. Гормональная регуляция функций желудка (гастрин, холецистокинин, гастрингибирующий пептид).
4. Диагностическое значение анализа желудочного сока.

**Задание на дом:** Витамины-коферменты.

## **Литература**

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## **Лабораторное занятие № 11**

**1. Тема и ее актуальность:** «Витамины-коферменты».

**2. Учебные цели:** усвоить структуру, свойства и биологическую роль водорастворимых витаминов; изучить коферментные формы витаминов и их роль; овладеть некоторыми методами качественного и количественного анализа витаминов.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- химическую структуру, биологическую роль суточную потребность водорастворимых витаминов, характерные признаки а-, гипо- и гипервитаминозов.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком качественного и количественного анализа витаминов.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- объяснить роль витаминов в обменных процессах;

- проводить качественное и количественное определение витаминов

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1) Витамин С (аскорбиновая кислота). Структура, суточная потребность, источники, проявления гиповитаминоза. Участие витамина С в окислительно-восстановительных процессах, стероидогенезе и постсинтетической модификации коллагена.

2) Витамин РР, строение и биологическая роль, суточная потребность, источники, проявления гиповитаминоза. Структура и механизм действия пиридиновых коферментов НАД и НАДФ.

3) Витамин В<sub>1</sub>, строение и биологическая роль, суточная потребность, источники, проявления гиповитаминоза. Тиаминдифосфат, структура и функции. Тиаминовые ферменты.

4) Витамин В<sub>2</sub>, строение и биологическая роль, суточная потребность, источники, проявления гиповитаминоза. Структура и механизм действия ФМН и ФАД.

5) Витамин В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота), строение и биологическая роль. Коэнзим А, пантотеинфосфат, структура и функции.

6) Витамин Н, строение и биологическая роль – участие в реакциях карбоксилирования, суточная потребность, источники, проявления гиповитаминоза.

7) Витамин В<sub>6</sub> – пиридоксаль, пиридоксин, пиридоксамин. Строение и биологическая роль, суточная потребность, источники, проявления гиповитаминоза. Структура и механизм действия пиридоксальфосфата, участие в процессах переаминирования и декарбоксилирования аминокислот.

8) Фолиевая кислота. Строение и биологическая роль. Роль ТГФК в транспорте одноуглеродных групп. Суточная потребность. Проявления гиповитаминоза.

9) Витамин В<sub>12</sub>. Общие представления о структуре, суточная потребность. Авитаминоз и причины его возникновения. Биохимические функции витамина В<sub>12</sub>.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Кофермент - это

- а) простетическая небелковая часть активного центра фермента
- б) кофактор, представленный ионом металла
- в) часть аллостерического центра фермента
- г) часть апофермента

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Витамин – специфическое проявление недостаточности

- |                     |                    |
|---------------------|--------------------|
| 1. тиамин           | а) антисеборейный  |
| 2. пиридоксин       | б) антидерматитный |
| 3. биотин           | в) антианемический |
| 4. фолиевая кислота | г) антинеуритный   |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Витамины, коферментные формы которых входят в активный центр ферментов класса оксидоредуктаз – это ...

- 1. витамин К
- 2. витамин РР
- 3. витамин Н
- 4. витамин В<sub>2</sub>
- 5. витамин В<sub>6</sub>

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Отсутствие в пище триптофана способствует развитию гиповитаминоза РР, потому что небольшая часть витамина РР в организме синтезируется из триптофана.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

1) Водорастворимые витамины: строение, суточная потребность, источники, биологическая роль, проявления гиповитаминоза.

2) Коферментные формы витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>3</sub>, РР, Н, Вс, В<sub>12</sub> и типы соответствующих биохимических реакций, в которых участвуют эти коферменты.

3) Метод оценки обеспеченности организма аскорбиновой кислотой.

7.3. Разбор с преподавателем методов качественного и количественного анализа витаминов.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

### Работа № 1. Качественные реакции на витамин РР.

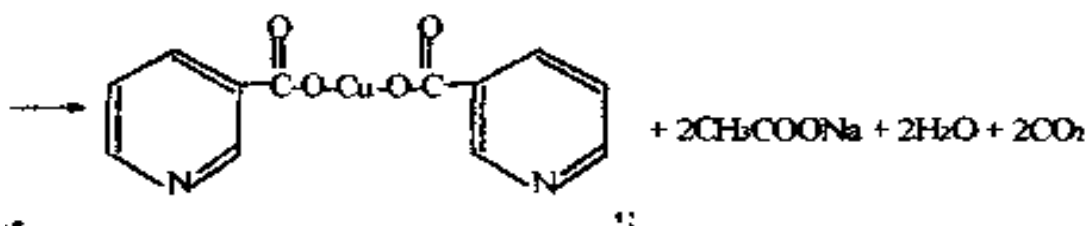
#### 1. Реакция с гидросульфитом натрия.

В пробирку на кончике скальпеля поместить порошок витамина РР, прилить 0,5-1,0 мл 10% раствора бикарбоната натрия и 0,5-1,0 мл свежеприготовленного 5% раствора гидросульфита натрия. Отметить появление продукта восстановления витамина РР желтого цвета.

#### 2. Реакция с раствором уксусно-кислой меди.

К 1 мл 0,1% раствора никотиновой кислоты добавить 1 мл 10% раствора бикарбоната натрия, прилить равный объем 5% раствора уксусно-кислой меди.

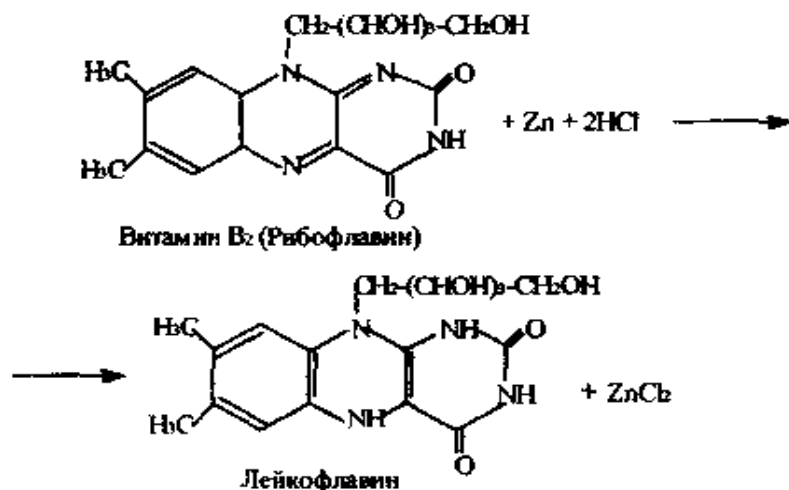
Отметить появление голубого окрашивания и выпадения осадка медной соли



никотиновая кислота  
медная соль никотиновой кислоты синего цвета  
синего цвета, образующегося по следующей реакции:

### Работа № 2. Реакция восстановления рибофлавина.

Реакция основана на способности рибофлавина восстанавливаться. Окрашенный в желтый цвет рибофлавин при восстановлении приобретает розовый цвет, а затем обесцвечивается, так как восстановленная форма витамина В<sub>2</sub> бесцветна. Механизм реакции может быть представлен следующим уравнением:



*Ход работы:* 10 капель взвеси рибофлавина в воде (0,025%) налить в пробирку, добавить туда же 5 капель концентрированной соляной кислоты и поместить небольшой кусочек металлического цинка. Выделяющийся водород восстанавливает рибофлавин и раствор изменяет окраску из желтой в красную и розовую, а затем обесцвечивается.

### Работа № 3. Качественная реакция на витамин В<sub>6</sub>.

*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% раствора витамина В<sub>6</sub> приливают равное количество 1% раствора хлорного железа и перемешивают. Развивается красное окрашивание.

### Работа № 4. Определение тиамин в поливитаминных препаратах.

*Принцип метода* основан на способности тиамин окисляться феррицианидом калия в щелочной среде в тиохром, который после экстракции из раствора бутиловым спиртом дает в ультрафиолетовых лучах сине-голубое окрашивание.

*Ход работы.* Драже из поливитаминов размять в ступке, добавить 30 мл 0,1н раствор HCl и тщательно размешать. В 3 пробирки добавить:

1. Контроль - 5 мл 0,1 н раствор HCl.
2. Опыт - 1 мл раствора витаминов + 4 мл дистиллированной воды.
3. Стандарт - 5 мл стандартного раствора тиамин.

Во все пробирки прилить по 1,5 мл окислительной смеси (щелочного раствора феррицианида калия), осторожно встряхнуть до полного перемешивания, во все пробирки налить по 5 мл н-бутанола, интенсивно встряхивать в течение 5 минут. Подождать расслаивания жидкости. Все пробирки поместить в штатив флуороскопа и сравнить флуоресценцию раствора в 3-х пробирках.

*Вывод:*



## Работа № 5. Определение рибофлавина в поливитаминных препаратах.

*Принцип метода.* Основан на способности рибофлавина давать в ультрафиолетовых лучах желто-зеленую флюоресценцию, интенсивность которой зависит от концентрации рибофлавина.

*Ход работы.* Экстракт готовится как в предыдущей работе.

В 3 пробирки добавить:

1. Контроль - 7 мл воды.
2. Опыт - 2 мл экстракта из драже + 5 мл воды.
3. Стандарт - 1 мл стандартного р-ра + 5 мл воды.

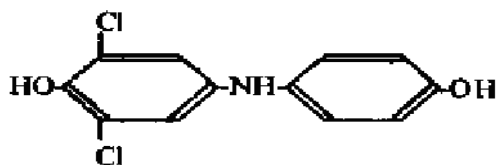
Поместить пробирки в штатив флуороскопа и сравнить флюоресценцию в 3-х пробирках.

*Вывод:*

## Работа № 6. Количественное определение аскорбиновой кислоты по Тильмансу.

Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол, который в кислой среде имеет красную окраску, а при восстановлении обесцвечивается; в щелочной среде окраска синяя. Реакцию проводят в кислой среде для предотвращения разрушения витамина С.

Химизм реакции:



Восстановленная бесцветная лейкоформа 2,6-дихлорфенолндофенола

### А. Определение содержания аскорбиновой кислоты в капусте.

Отвешивают 1 г капусты на весах, растирают в ступке с 2 мл 10% раствора HCl, приливают 8 мл дистиллированной воды и гомогенат фильтруют. Отмеряют в колбочку для титрования 2 мл фильтрата, добавляют

10 капель 10% раствора HCl и титруют 0,001 н раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски, сохраняющейся в течение 30 сек.

Производят расчет содержания витамина С в 100 г капусты по формуле:

$$X = \frac{0,088 \times A \times \Gamma \times 100}{B \times V}, \text{ где}$$

X - содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г продукта;

0,088- содержание аскорбиновой кислоты, мг;

A - результат титрования 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолом, мл;

B - объем экстракта, взятый на титрование, мл;

V - количество продукта, взятое для анализа, г;

Г - общее количество экстракта;

100- пересчет на 100 г продукта.

#### *Б. Определение витамина С в картофеле.*

Отвешивают 5 г картофеля на весах, растирают в ступке с 20 каплями 10% раствора HCl (чтобы картофель не темнел), постепенно приливают 15 мл дистиллированной воды. Полученную массу сливают в колбочку для титрования, ополаскивают ступку водой, сливают ее в колбочку для титрования и титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски.

Вычисляют содержание аскорбиновой кислоты по формуле, приведенной выше.

Содержание аскорбиновой кислоты в 100 г капусты составляет 25-60 мг, в 100 г шиповника 500-1500 мг, в 100 г хвои 200-400 мг, в 100 г картофеля - 1-5 мг.

#### *В. Определение витамина С в лекарственных растениях.*

*Ход работы.* На аптечных весах берут навески лекарственного сырья (листья крапивы, цветы тысячелистника и др.) по 0,5 г, шиповник, очищенный от семян – 0,2 г. Исследуемый материал растирают в ступке с 5 мл 2% раствора HCl. Вытяжку фильтруют через тонкий слой ваты в мерную колбу на 100 мл. Извлечение витамина С из той же навески повторяют 3 раза с 5 мл соляной кислоты, фильтруя каждый раз полученную вытяжку в ту же мерную колбу. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой. Для титрования отбирают 10 мл вытяжки в стаканчик и титруют 0,001 н раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски, сохраняющейся в течение 90 сек.

Содержание витамина С в растительном сырье (кг) производят по формуле:

$$X = \frac{0,088 \times A \times 100 \times 1000}{10 \times B}, \text{ где}$$

X – содержание аскорбиновой кислоты в мг/кг;

0,088- масса аскорбиновой кислоты, соответствующая 1 мл 0,001н раствора 2,6-ДХФИФ, мг;

A - результат титрования 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолом, мл;

B - навеска исследуемого материала, г;

100- разведение взятой пробы;

1000 – коэффициент пересчета на 1 кг сырья;

10 – объем жидкости, взятый на титрование, мл.

Результаты исследования оформить в виде таблицы и сделать вывод о значении исследованного растительного материала как источника витамина С. В выводе указать, целесообразно ли применение данного лекарственного растения с целью профилактики С-витаминной недостаточности.

Таблица

Материал	Навеска, г	Объем 2,6-ДХФИФ	Содержание аскорбиновой кислоты, мг/кг

*Г. Определение содержания аскорбиновой кислоты в моче.*

В колбочку отмеривают 10 мл мочи, приливают 10 мл дистиллированной воды, перемешивают, подкисляют 20 каплями 10% раствора HCl и титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски.

Содержание аскорбиновой кислоты в моче рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,088 \times A \times B}{B}, \text{ где}$$

X - содержание аскорбиновой кислоты, мг/сут.; 0,088- содержание аскорбиновой кислоты, мг;

A - результат титрования 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола, мл;

B - объем мочи, взятый для титрования, мл;

B - среднее суточное количество мочи (для расчета можно принять 1500 мл).

*Д. Определение содержание аскорбиновой кислоты в слюне.*

В колбочку вносят 2 мл исследуемой слюны, 20 мл дистиллированной воды, 0,5 мл ледяной уксусной кислоты, содержимое перемешивают. Смесь отфильтровывают 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до слаборозовой окраски.

Содержание аскорбиновой кислоты вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,088 \times A \times 100}{B}, \text{ где}$$

X - содержание аскорбиновой кислоты в мг/100 мл.

A - количество мл индикатора, пошедшего на титрование (1 мл 0,001 н раствора индикатора соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты).

Содержание аскорбиновой кислоты в норме составляет 0,1 мг/100 мл.

### **Работа № 7. Количественное определение витамина Р в чае по Левенталю.**

В основе метода лежит способность рутина окисляться перманганатом калия. В качестве индикатора применяется индигокармин, который вступает в реакцию с перманганатом калия после того, как окислится весь рутин (флавоноид).

*Ход работы.* К 100 мг чая приливают 50 мл горячей дистиллированной воды и проводят экстракцию в течение 5 мин. 10 мл экстракта чая отмеривают в колбочку, добавляют 10 мл дистиллированной воды, 5 капель 0,1% раствора индигокармина (появляется синее окрашивание). Титруют из микробюретки 0,05 н раствором  $\text{KMnO}_4$  до появления устойчивой желтой окраски.

Содержание витамина Р в чае рассчитывают по следующей формуле:

$$3,2 \times A \times V \times 100$$

$X = \frac{\dots}{\dots}$ , где

$$V_2 \times P \times 1000$$

X - содержание витамина Р в образце, в %;

3,2 - стандартный пересчетный коэффициент (экспериментально установлено, что 1 мл 0,05 н раствора  $\text{KMnO}_4$  окисляет 3,2 мкг рутина);

A - результат титрования 0,05 н раствором перманганата калия, мл;

V - объем, в котором растворена взятая для анализа навеска, мл;

100 - общее количество вещества для расчета процентного содержания, г;

$V_2$  - объем раствора, взятого для титрования, мл;

P - навеска, мг;

1000 - перевод микрограммов в миллиграммы.

### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

#### Решение типовой задачи.

Задача. У больного, страдающего хроническим алкоголизмом, наблюдается потеря аппетита, нарушение секреторной и моторной функции желудочно-кишечного тракта, потеря памяти, галлюцинации. Больной предъявляет жалобы на одышку, учащенное сердцебиение, боли в сердце, покалывание и онемение конечностей. На какое заболевание могут указывать эти симптомы? Объясните механизм возникновения этих симптомов?

#### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

#### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Витамины D. Структура, метаболизм, биохимические функции, применение в медицине.
2. Витамин B<sub>12</sub> - история открытия, участие в обмене веществ, проявления недостаточности.
3. Биофлавоноиды (витамин P) – растительные антиоксиданты.
4. Витаминоподобные вещества - представители, отличия от витаминов, биологическая роль.
5. Витамин F. Особенности структуры полиненасыщенных жирных кислот, источники, участие в обмене веществ.
6. Антивитамины.

**Задание на дом:** Энергетический обмен. Общие пути катаболизма.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base

of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 12

**1. Тема и ее актуальность:** «Энергетический обмен. Общие пути катаболизма».

**2. Учебные цели:** закрепить знания о процессах образования и использования энергии в биосистемах, ферментах биологического окисления и общих путях катаболизма.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- классификацию организмов по источнику энергии и углерода;
- особенности строения и механизма действия окислительных ферментов;
- этапы унификации энергетических субстратов в клетках;
- общие пути катаболизма.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком качественного обнаружения сукцинатдегидрогеназы в биологическом материале;
- навыком количественного определения пировиноградной кислоты в моче.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- написать окислительно-восстановительные превращения коферментов НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, ФМН, ФАД, КоQ, железопорфиринов;
- охарактеризовать этапы унификации окислительных субстратов в животном организме;
- написать химизм этапов декарбоксилирования пировиноградной кислоты и цикла трикарбоновых кислот;
- интерпретировать результаты определения пировиноградной кислоты в моче

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Обмен веществ и энергии как единая сопряженная система. Классификация организмов по типу питания и источнику энергии.
- 2) Биохимическая термодинамика. Экзергонические и эндергонические реакции в клетке.
- 3) Биологическое окисление. Роль отечественных и зарубежных ученых в развитии учения и биоокисления (Лавуазье, Бах, Палладин, Митчелл, Скулачев);
- 4) Энергетическое (сопряженное) и свободное окисление, их локализация в клетке.
- 5) Структурная организация митохондрий. Внутримитохондриальная локализация ферментов биоокисления.
- 6) Дегидрирование субстратов как начальный этап биоокисления. Характеристика пиридиновых и флавиновых дегидрогеназ. Первичные, вторичные, аутооксидабельные и неаутооксидабельные дегидрогеназы.

7) Цепь передачи электронов митохондрий. Последовательность реакций дыхательной цепи. Понятие о редокс-потенциалах компонентов дыхательной цепи.

8) Экзергонические и эндергонические реакции в клетке. Энергетическая ценность белков, жиров и углеводов.

9) Макроэргические соединения. Типы макроэргических соединений.

10) Строение АТФ и его роль в биоэнергетике.

11) Фазы катаболизма. Этапы унификации субстратов окисления.

12) Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Строение мультиэнзимного пируватдегидрогеназного комплекса. Последовательность реакций.

13) Цикл трикарбоновых кислот Кребса. Последовательность реакций. Регуляция скорости ЦТК.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Это совокупность всех химических реакций, протекающих *in vivo*

- а) ассимиляция
- б) диссимиляция
- в) анаболизм
- г) катаболизм
- д) метаболизм
- е) межклеточный обмен

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Организм – источник энергии

- |                |   |
|----------------|---|
| 1. хемотрофы   | а) используют энергию квантов света       |
| 2. автотрофы   | б) используют энергию химических связей   |
| 3. фототрофы   | в) получают органические вещества с пищей |
| 4. гетеротрофы | г) сами синтезируют органические вещества |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Катаболизм – это процесс

- 1. конвергентный (сходящийся)
- 2. экзергонический
- 3. сопровождающийся высвобождением энергии
- 4. дивергентный (расходящийся)
- 5. эндергонический
- 6. сопровождающийся потреблением энергии

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.



Окислительное декарбоксилирование пирувата относится к общему пути катаболизма, потому что пировиноградная кислота образуется в ходе метаболизма углеводов, аминокислот, глицерина и высших жирных кислот.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Развитие учения о биологическом окислении. Отличие биоокисления от окисления *in vitro*.
- 2) Характеристика ферментов биологического окисления.
- 3) Этапы унификации энергетических субстратов.
- 4) Макроэргические соединения: структура и свойства.
- 5) Общие пути катаболизма.
- 6) Реакция окислительного декарбоксилирования пирувата.
- 7) Химизм реакций цикла Кребса.
- 8) Регуляция скорости цикла Кребса.

7.3. Разбор с преподавателем метода обнаружения сукцинатдегидрогеназы в биологическом материале и количественного определения пировиноградной кислоты в моче.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа № 1. Количественное определение пировиноградной кислоты в моче.**

*Принцип метода.* Пировиноградная кислота является одним из промежуточных продуктов углеводного обмена. Пировиноградная кислота взаимодействует с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде, образуя 2,4-динитрофенилгидразоны пировиноградной кислоты желто-оранжевого цвета, интенсивность окрашивания которых пропорциональна концентрации пировиноградной кислоты.

Гидразоны  $\alpha$ -кетоглутаровой, щавелевоуксусной, дегидроаскорбиновой кислот в щелочной среде нестойки и быстро разлагаются.

*Ход работы.* Контрольная и опытная пробы ставятся одновременно, пользуются сухой химической посудой. Берут 2 пробирки: в контрольную наливают 1мл воды в опытную 1 мл мочи. Затем в обе пробирки приливают по 1 мл 2,5% спиртового раствора КОН, перемешивают в течение 1 минуты, а затем приливают по 0,5мл 0,1 % раствора 2,4-динитрофенилгидразина и оставляют стоять на 15 минут при комнатной температуре. Колориметрируют на ФЭК против контроля на реактивы (проба с водой) в кювете толщиной 5мм с синим светофильтром. Расчеты выполняют по калибровочному графику, при этом находим содержание ПВК в моче в мкг/мл. Найденную величину умножаем на суточный диурез (1500 мл для мужчин и 1200 мл для женщин) и получаем содержание ПВК в суточной моче. В норме экскреция ПВК с мочой составляет 10-25 мг в сутки (113,7-283,9 мкмоль/сут).

Увеличение выделения ПВК с мочой наблюдается при авитаминозе и гиповитаминозе В<sub>1</sub>. Содержание ПВК в крови и экскреция с мочой возрастает также при сахарном диабете, сердечной недостаточности, гиперфункции

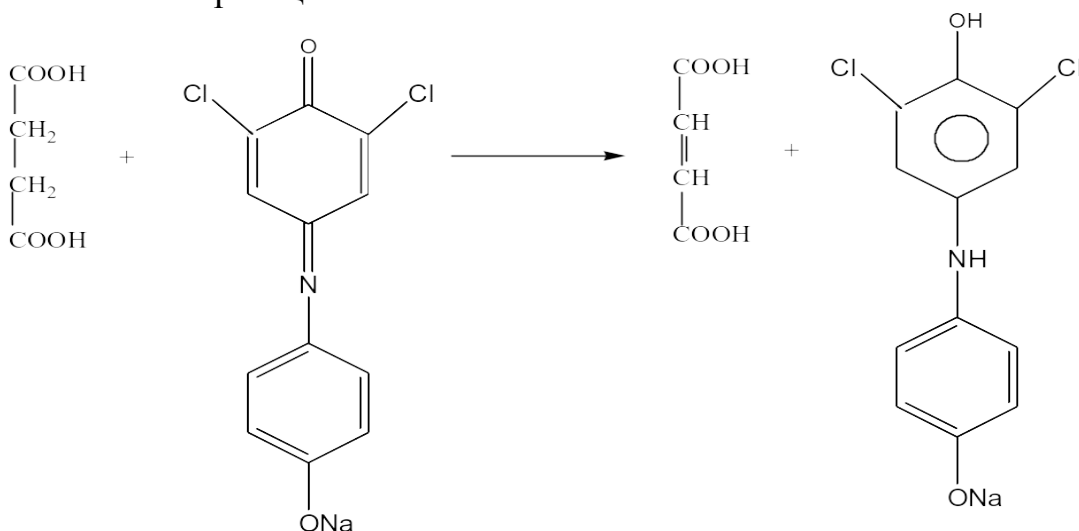
гипофизарно-адреналовой системы. При наркозе содержание ПВК в крови, напротив, снижается.

## Работа №2. Качественное определение активности сукцинатдегидрогеназы мышц.

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) окисляет янтарную кислоту в фумаровую. Коферментом СДГ является флавинадениндинуклеотид. В условиях опыта в качестве акцептора водорода при окислении сукцината используется натриевая соль 2,6-дихлорфенолиндофенола.

В щелочной среде окисленная форма 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия окрашена в синий цвет, восстановленная форма - бесцветна. Активность СДГ мышц определяется при добавлении к мышечной кашице растворов сукцината и натриевой соли окисленной формы 2,6-дихлорфенолиндифенола. Если СДГ активна, то интенсивность синей окраски ослабляется благодаря восстановлению красителя.

Химизм реакции:



*Ход работы.* В 2 пробирки отмерить по 3мл фосфатного буфера с рН 7,4. В одну пробирку добавить 5 капель 5% раствора янтарной кислоты и для нейтрализации 5 капель 0.1н раствора едкого калия, в другую прилить 10 капель дистиллированной воды. В обе добавить по 1мл 0,001н раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола и по 50 мг хорошо измельченной ткани поперечнополосатой мышечной ткани только что убитого животного. Обе пробирки поместить в термостат на 20 минут при 37°C. Затем сравнить интенсивность окраски в контрольной и опытной пробирках. Сделать выводы.

### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

#### Решение типовой задачи.

Задача. Для определения активности НАД-зависимых ферментов используется способность восстановленной формы пиридиновых коферментов поглощать свет при длине волны 340 нм. Определите

состав инкубационной среды для спектрофотометрического определения активности митохондриальной малатдегидрогеназы а) по возрастанию светопоглощения при 340 нм, б) по убыванию светопоглощения при 340 нм.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. История развития учения о биологическом окислении.
2. Цикл трикарбоновых кислот – общий метаболический котел клетки.
3. Регуляция общего пути катаболизма

**Задание на дом:** Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование. Свободное окисление.

## Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

### **Лабораторное занятие № 13**

**1. Тема и ее актуальность:** «Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование. Свободное окисление».

**2. Учебные цели:** усвоить знания о механизмах сопряженного и свободного окисления, сформировать представления о связи энергетического обмена с анаболическими и катаболическими процессами обмена веществ.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- последовательность реакций дыхательной цепи;
- механизм окислительного фосфорилирования;
  - ингибиторы тканевого дыхания, разобщители окисления и фосфорилирования;
- основные типы и биологический смысл свободного окисления.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения активности пероксидазы в растительном материале по методу А.Н. Бояркина;
- навыком обнаружения активности цитохромоксидазы;
- навыком подсчета энергетической эффективности окисления различных биосубстратов.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- написать схему полной и укороченной дыхательной цепи митохондрий;
- объяснить механизм сопряжения дыхания и фосфорилирования, различия величин коэффициента  $P_i/O$  при окислении субстратов с участием пиридинных (НАД-зависимых) и флавиновых (ФАД-зависимых) дегидрогеназ;
- объяснить механизмы разобщения дыхания и фосфорилирования; терморегуляторную функцию тканевого дыхания бурого жира, значение процессов окисления в буром жире для младенцев

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Пути синтеза АТФ в клетке. Понятие о субстратном фосфорилировании.
- 2) Реакции дыхательной цепи. Структурная организация компонентов дыхательной цепи, дыхательные комплексы. Биологическая функция  $CoQ10$ .
- 3) Факторы, определяющие порядок передачи электронов по дыхательной цепи. Ингибиторы тканевого дыхания.
- 4) Сопряженное окислительное фосфорилирование. Хемосмотическая теория сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Строение и механизм действия протонной АТФ-синтазы.
- 5) Количественная оценка окислительного фосфорилирования, стехиометрический коэффициент  $P_i/O$ . Механизмы регуляции тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, дыхательный контроль.

- 6) Разобшители окислительного фосфорилирования. Природные и синтетические разобшители.
- 7) Терморегулятрная роль тканевого дыхания, бурый жир.
- 8) Гипоэнергетические состояния, тканевая гипоксия.
- 9) Пути свободного окисления: пероксидазный, оксигеназный, диоксигеназный, свободно-радикальный. Активные формы кислорода.
- 10) Перекисное окисление липидов (ПОЛ). Роль ПОЛ в норме и патологии.
- 11) Антиоксидантная система. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Бурая жировая ткань

- а) в больших количествах присутствует у взрослых, чем у детей
- б) содержит большее число митохондрий, по сравнению с белой жировой тканью
- в) проявляет высокую степень сопряжения между окислением и фосфорилированием

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Характер окисления – тип реакции окисления

- 1. сопряженное окисление
- 2. свободное окисление
- 3. сопряженное окисление
- а) окисление, не связанное с синтезом АТФ
- б) окисление субстратов в дыхательной цепи одновременной с аккумуляцией энергии в связях АТФ
- в) синтез АТФ за счет энергии квантов света
- г) монооксигеназное окисление соединений, связанное с их одновременным гидроксильрованием
- д) окисление, связанное с накоплением энергии в связях АТФ

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Разобшующим действием обладают

- 1. салицилаты
- 2. тиреоидные гормоны
- 3. ненасыщенные жирные кислоты
- 4. барбитураты
- 5. цианиды
- 6. термогенины

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Движение электронов по дыхательной цепи заряжает внутреннюю мембрану митохондрий, а синтез АТФ разряжает ее, так как движение протонов через  $F_0$ -канал в матриксе митохондрий запускает фосфорилирование АДФ протонной АТФ-азой.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Пути синтеза АТФ в клетке.
- 2) Организация дыхательной цепи, дыхательные комплексы.
- 3) Биологическая функция  $CoQ10$ .
- 4) Ингибиторы тканевого дыхания.
- 5) Хемиосмотическая теория сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.
- 6) Устройство и функционирование протонной АТФ-синтазы.
- 7) Стехиометрический коэффициент  $P_i/O$ .
- 5) Механизмы регуляции тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, дыхательный контроль.
- 6) Разобщители окислительного фосфорилирования. Природные и синтетические разобщители.
- 7) Терморегуляторная функция тканевого дыхания, бурый жир.
- 8) Гипоэнергетические состояния, тканевая гипоксия.
- 9) Пути свободного окисления: пероксидазный, оксигеназный, диоксигеназный, свободно-радикальный. Активные формы кислорода.
- 10) Перекисное окисление липидов (ПОЛ). Роль ПОЛ в норме и патологии.
- 11) Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты.

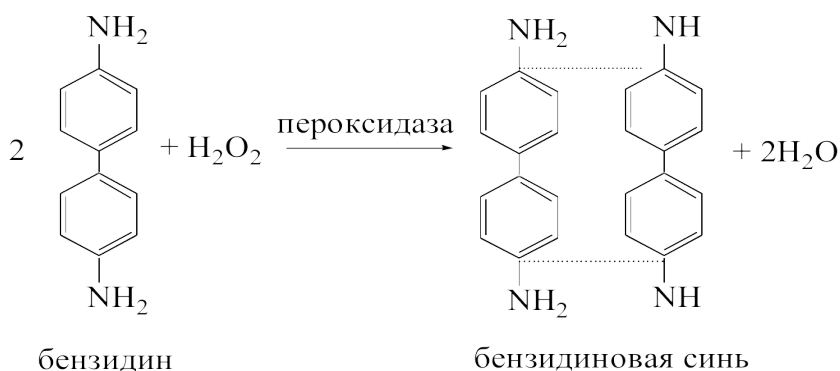
7.3. Разбор с преподавателем метода определения активности пероксидазы в растительном материале по методу А.Н. Бояркина и обнаружения активности цитохромоксидазы.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа № 1. Определение активности пероксидазы в растительном материале по методу А. Н. Бояркина.**

**Принцип метода.** Метод основан на непрерывном измерении светопоглощения бензидиновой сини, образующейся при окислении бензидина под действием пероксидазы.

Реакция описывается уравнением:



**Ход определения.** Навеску 100 мг растительного материала (свежие листья растений) помещают в ступку и растирают, прибавляя порциями 10 мл дистиллированной воды. Растиертую массу переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят водой до метки. Содержимое колбы настаивают 10 мин, а затем сливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 10 мин при 3000 об/мин.

Ставят кюветы в кюветодержатель прибора: слева контрольную и справа опытную. Шкалу правого отсчетного барабана устанавливают на нулевую отметку и с помощью оптических клиньев приводят стрелку гальванометра в нулевое положение.

Правый отсчетный барабан ставят на деление 0,250 (исходная экстинкция), при этом стрелка гальванометра отклоняется в сторону.

В левую (контрольную) кювету добавляют 2 мл воды, а в правую (опытную) вносят 2 мл раствора пероксида водорода пипеткой с широким носиком (чтобы сильная струя перемешала жидкость в кювете). Одновременно с первой каплей жидкости включают секундомер.

В опытной кювете раствор синеет, по мере нарастания интенсивности окраски, стрелка гальванометра приближается к нулевому положению. Отмечают время от начала приливания раствора пероксида водорода до достижения стрелкой гальванометра нулевого положения. Повторяют определения трижды и берут среднее значение времени.

**Расчет.** Активность фермента рассчитывают по формуле  $X = \frac{\Delta E \cdot 25 \times 1000}{t \times d \times 0,1 \times 2}$

$$t \times d \times 0,1 \times 2$$

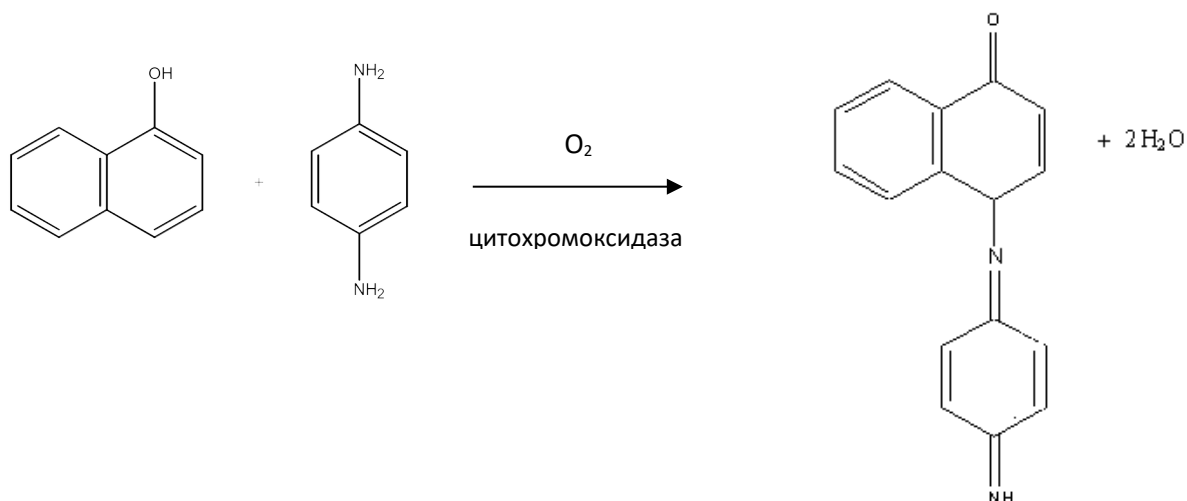
где X-активность пероксидазы, Е х с<sup>-1</sup> х кг<sup>-1</sup> (Е-единица экстинкции); ΔЕ – изменение экстинкции, равное 0,250; t-время реакции, с; d-толщина слоя кюветы, равная 2; 1000-коэффициент перерасчета граммов в килограммы; 0,1-навеска, г; 2-объем пробы, мл.

## Работа № 2. Обнаружение активности цитохромоксидазы.

При добавлении к срезам тканей α-нафтола и парафенилендиамина происходит окрашивание тканей вследствие образования индофеноловой сини. Эта реакция катализируется цитохромоксидазой.

Химизм реакции:





$\alpha$ -нафтол + p-фенилендиамин

индофеноловая синь

*Ход работы.* На часовое стекло взять срез свежей ткани, например печени или мышцы, на него нанести по 1 капле 1% спиртового раствора  $\alpha$ -нафтола и 1% водного раствора парафенилендиамина. Появление синего окрашивания на срезе ткани указывает на присутствии в ней активной цитохромоксидазы.

Анализ и оформление результатов проведенных лабораторных работ.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

**Задача.** Подсчитайте количество АТФ, которое теоретически может образоваться при окислении янтарной кислоты до щавелевоуксусной и изоцитрата до сукцинил-КоА при условии, что митохондрии не разобщены.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Теории сопряжения окисления и фосфорилирования.
2. Регуляция окислительного фосфорилирования.
3. Ингибиторы передачи электронов по дыхательной цепи.
4. Разобщители окислительного фосфорилирования. Лекарственные препараты – разобщители.
5. Тканевая гипоксия. Антигипоксанты.
6. «Митохондриальные» болезни.

**Задание на дом:** Контрольное занятие по модулю «Биохимия питания. Биоэнергетика».

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 14

**1. Тема и ее актуальность:** Контрольное занятие по модулю «Биохимия питания. Биоэнергетика».

**2. Учебные цели:** закрепить основные теоретические положения биоэнергетики; выявить степень усвоения студентами материала данного модуля.

**Формируемые компетенции:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1. Состав пищи человека. Основные пищевые вещества. Понятие о заменимых и незаменимых компонентах пищи.
2. Белки. Суточная потребность. Пищевая ценность различных белков. Незаменимые аминокислоты. Азотистый баланс.
3. Углеводы и жиры. Суточная потребность. Основные пищевые углеводы. Незаменимые жирные кислоты. Потребность в  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 полиненасыщенных жирных кислотах в зависимости от возраста.
4. Минорные компоненты пищи. Минеральные вещества пищи. Региональные патологии, связанные с недостатком микроэлементов в пище и воде.
5. Витамины. Классификация по физико-химическим свойствам и по биологической роли. Номенклатура витаминов. Алиментарные и вторичные гиповитаминозы и авитаминозы у взрослых и детей. Причины возникновения. Гипервитаминозы.
6. Токсические и вредные компоненты пищи. Алкоголь. Антивитамины.
7. Водорастворимые витамины: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, РР, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, Н, фолиевая кислота, С, Р, структура, суточная потребность, пищевые источники биологические функции, проявления гипо-, а- и гипервитаминоза.
8. Жирорастворимые витамины А, Д, Е, К. Структура, суточная потребность, пищевые источники биологические функции, проявления гипо-, а- и гипервитаминоза.
9. Структура и биохимические функции коферментов НАД, НАДФ, ФМН, ФАД, КоА, карбоксибиотина, пиридоксальфосфата, убихинона, гемма.
10. Основные этапы обмена веществ. Методы изучения обмена веществ. Исследования на целых организмах, срезах тканей, субклеточных структурах, ферментов, радиоизотопная индикация.
11. Химический состав пищеварительных соков: слюны, желудочного, панкреатического и кишечного соков, желчи.
12. Экзергонические и эндергонические реакции в живой клетке. Структура основных макроэргических соединений: ди- и трифосфонуклеозиды, ацилфосфаты, енолфосфаты, гуанидинфосфаты, тиоловые эфиры.
13. Схема катаболизма основных пищевых веществ и унификации энергетических субстратов.
14. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Пируватдегидрогеназный комплекс.

15. Цикл трикарбоновых кислот Кребса. Последовательность реакций и характеристика ферментов.
16. Дегидрирование субстратов и окисление водорода как источник энергии. Первичные и вторичные дегидрогеназы, аутооксидабельные и неаутооксидабельные ферменты.
17. Терминальное окисление: убихинон, цитохромы, цитохромоксидаза. Структурная организация цепи переноса электронов и транспорта протонов. Ингибиторы тканевого дыхания.
18. Окислительное фосфорилирование. Редокс-потенциалы окисляемых субстратов и кислорода. Коэффициент P<sub>i</sub>/O. Строение и функция протонной АТФ-синтазы.
19. Разобщение тканевого дыхания и фосфорилирования: терморегуляторная функция тканевого дыхания. Особенности дыхания бурой жировой ткани и значение для детей младшего возраста.
20. Избирательная проницаемость митохондриальной мембраны для субстратов, АДФ и АТФ. АТФ/АДФ антипортер.
21. Связь между путями катаболизма и цепью переноса электронов и протонов. Дыхательный контроль. Аллостерические механизмы регуляции цикла лимонной кислоты.
22. Понятие о субстратном фосфорилировании. Примеры.
23. Физиологические механизмы регуляции тканевого дыхания и фосфорилирования, дыхательный контроль.
24. Характеристика путей свободного окисления: пероксидазного, оксигеназного, диоксигеназного.
25. Свободно радикальное окисление. Активные формы кислорода. Роль процессов ПОЛ в норме и патологии.
26. Антиоксидантная система. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** компьютеры, плакаты, таблицы, ситуационные задачи.

**7. Содержание занятия:**

Студентам предстоит пройти компьютерное тестирование. Каждому студенту будет предложено ответить на ряд тестовых заданий. Условием допуска до устного собеседования является успешное выполнение не менее 70 % тестов.

При собеседовании студент должен ответить на контрольные вопросы из модуля.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

**Задание на дом:** Переваривание углеводов. Сахар крови. Обмен гликогена.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 15

**1. Тема и ее актуальность:** «Переваривание углеводов. Сахар крови. Обмен гликогена».

Углеводы представляют основной класс макронутриентов, обеспечивающий более 50% энергетической потребности организма. Помимо «топливной» роли не менее важна структурная роль углеводов как компонентов протеогликанов межклеточного матрикса, других важных структурных гликопротеинов (коллаген), гликолипидов, рецепторных и антигенных комплексов биомембран. Углеводы входят в состав нуклеиновых кислот, ряда гормонов (эритропоэтин, тиреотропин), защитных белков муцинов, иммуноглобулинов. Знания метаболизма углеводов и основ его регуляции необходимы для формирования способности дать правильную оценку изменениям уровня гликемии, глюкозурии, изменений содержания активности амилазы, понимания механизмов развития патологических изменений при сахарном диабете и других эндокринных заболеваниях, голодании, недостаточности функции печени и почек, поджелудочной железы, ряде наследственных ферментопатий.

**2. Учебные цели:** восстановить представления о структуре и свойствах углеводов, закрепить знания по перевариванию и всасыванию углеводов; усвоить основные пути тканевых превращений глюкозы, молекулярные механизмы депонирования и мобилизации гликогена, механизмы регуляции уровня сахара в крови; научиться определять и интерпретировать уровень глюкозы в крови и активность альфа-амилазы в крови и моче.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать**:

- структуру и свойства основных пищевых углеводов;
- биологическую роль углеводов в организме человека;
- неперевариваемые углеводы и их биологическую роль;
- переваривание и всасывание углеводов в желудочно-кишечном тракте;
- транспорт глюкозы в клетки;
- основные пути тканевых превращений глюкозы;
- гликогенез; пути распада гликогена в печени и других тканях; физиологическое значение и регуляцию этих процессов;
- гликогеновые болезни;
- нейрогормональную регуляцию сахара в крови; механизмы поддержания гликемии в норме и их нарушения.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть**:

- навыком определения концентрации глюкозы в сыворотке крови глюкозооксидазным методом;
- навыком качественного обнаружения глюкозы в моче при помощи индикаторной бумаги «Глюкотест»;
- навыком определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови, моче.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь**:

- охарактеризовать клиническое значение определения содержания глюкозы в крови и моче;
- охарактеризовать клиническое значения определения активности амилазы в крови и моче;
- интерпретировать результаты определения содержания глюкозы в крови и теста толерантности к глюкозе

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Структура и свойства основных пищевых углеводов – поли-, олигосахаридов. Биологическая роль углеводов в организме человека.
- 2) Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте. Ферменты, особенности их действия. Полостное и пристеночное пищеварение. Неперевариваемые углеводы - пищевые волокна, их роль в питании.
- 3) Качественное и количественное определение активности амилазы. Нормы активности и диагностическая ценность определения амилазы крови и мочи.
- 4) Особенности всасывания углеводов – активный транспорт и облегченная диффузия. Роль белков семейства ГЛЮТ в трансмембранном переносе глюкозы.
- 5) Гексокиназная реакция и ее биологический смысл. Основные пути тканевых превращений глюкозы.
- 6) Гликоген. Структура, содержание в отдельных тканях, биологическая роль.
- 7) Гликогенез. Основные этапы и ферменты гликогенеза.
- 8) Распад гликогена в тканях. Пути распада, ферменты распада гликогена. Особая роль гликогена печени как источника глюкозы для поддержания нормального уровня глюкозы крови.
- 9) Ключевые регуляторные ферменты обмена гликогена. Нейро-гуморальная регуляция обмена гликогена в печени: молекулярные механизмы действия глюкагона, адреналина и инсулина.
- 10) Гликогенозы. Общее понятие. Краткая характеристика болезни Гирке, лимитдекстриноза, болезни Мак-Ардля, генерализованного гликогеноза, агликогеноза.
- 11) Сахар крови. Методы его определения и нормы содержания в зависимости от метода определения. Понятие о сахарной кривой. Диагностическая ценность определения сахара крови и построения сахарной кривой.
- 12) Нейрогуморальные механизмы поддержания уровня сахара крови. Гипергликемические и гипогликемические гормоны. Почечный порог для глюкозы.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Концентрационный почечный порог для глюкозы составляет...

ммоль/л

а) 2,2-4,4

б) 3,3-5,5

в) 5,5-6,0

г) 6,0-8,0

д) 9,0-10

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Гликогеноз – дефектный фермент

1. болезнь Форбса-Кори      а) фосфорилаза мышц

2. болезнь МакАрдля      б) гликогенсинтетаза

3. агликогеноз      в) амило-1,6-глюкозидаза

4. болезнь Гирке      г) глюкозо-6-фосфатаза

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Инсулинозависимый белок-транспортер глюкозы ГЛЮТ-4 обнаруживается в клетках

1. скелетных мышц

2. печени

3. жировой ткани

4. слизистой оболочки кишечника

5. центральной нервной системы

6. сердечной мышцы

7. паренхимы почек

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Гексокиназа активна при низкой концентрации глюкозы в крови в постабсорбтивном периоде, потому что она отличается более высоким сродством к глюкозе по сравнению с глюкокиназой.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

1) Структура и свойства основных пищевых углеводов.

2) Функции углеводов в организме человека.

3) Неперевариваемые углеводы и их биологическая роль.

4) Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте.

5) Транспорт глюкозы в клетки.

6) Основные пути тканевых превращений глюкозы.

7) Синтез и распад гликогена, гормональная регуляция обмена гликогена.

8) Гликогеновые болезни.

9) Нейрогормональная регуляция сахара в крови; механизмы поддержания гликемии в норме и их нарушения.

7.3. Разбор с преподавателем глюкозооксидазного метода определения концентрации глюкозы в сыворотке крови; метода качественного

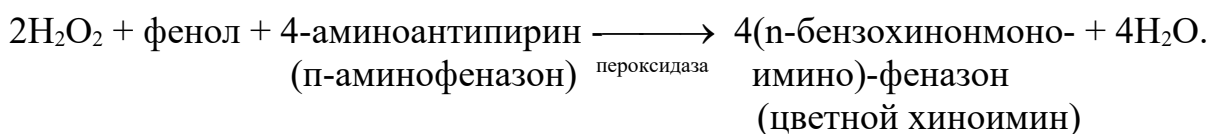
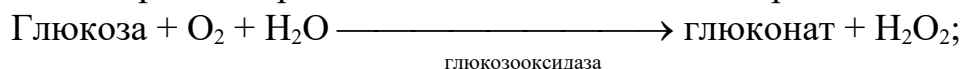


обнаружения глюкозы в моче при помощи индикаторной бумаги «Глюкотест»; метода определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови, моче.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа № 1. Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови глюкозооксидазным методом.**

*Принцип метода.* Глюкоза в присутствии фермента глюкозооксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием пероксида водорода, при разрушении которого под влиянием пероксидазы происходит конденсация фенола и р-аминоантипирина в окрашенное соединение. Реакция протекает по схеме:



Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации глюкозы в крови.

*Ход работы:* 1. В пробирки внести реактивы в соответствии с указанными объемами:

Отмерить, мл	Опытная проба	Стандартная проба	Контрольная проба
Сыворотка крови	0,02	-	-
Стандартный раствор глюкозы	-	0,02	-
Дистиллированная вода	-	-	0,02
Реактив для определения глюкозы	3,0	3,0	3,0

Пробы перемешивают и инкубируют 30 мин. в термостате при 37<sup>0</sup>С. Измеряют оптическую плотность опытной (E<sub>1</sub>) и стандартной пробы (E<sub>2</sub>) против контрольной в кювете 0,5 см, при длине волны 480-520 нм. Измерение должно быть проведено до истечения 5 минут.

Содержание глюкозы определяют путем *расчета* по формуле:

$$C \text{ глюкозы (ммоль/л)} = E_1/E_2 \times 10$$

Сопоставить с нормой содержания у здоровых людей и сделать вывод.

**Работа № 2. Качественное обнаружение глюкозы в моче при помощи индикаторной бумаги «Глюкотест».**

*Принцип метода.* “Глюкотест” приготавливается путем пропитки полосок фильтровальной бумаги 0,5x5 см смесью, содержащей глюкозооксидазу, пероксидазу и краситель. При смачивании бумаги раствором, содержащим глюкозу, происходит окисление глюкозы под действием фермента глюкозооксидазы. Образующаяся при этом перекись водорода разлагается ферментом пероксидазой с окислением содержащего в тесте красителя.

Интенсивность изменения окраски в определенной степени пропорциональна содержанию глюкозы в растворе, поэтому “Глюкотест” используется и для полуколичественного определения содержания глюкозы в моче (от 1,0 до 20 г/л и выше).

*Ход работы.* Бумажку “Глюкотест” погрузить в исследуемую мочу так, чтобы нанесенная на бумажку желтая полоса была смочена. Немедленно извлечь бумажку, положить смоченным концом на пластмассовую пластинку и через 2 мин сравнить изменившуюся окраску цветной полосы со шкалой, имеющейся в комплекте. Содержание глюкозы в моче определяют по наиболее совпадающему со шкалой цвету полоски.

*Клинико-диагностическое значение определения содержания глюкозы в моче.* В моче здорового человека глюкоза практически не обнаруживается. В суточном количестве мочи может содержаться до 125-130 мг глюкозы. Почечный порог глюкозы зависит от величины гипергликемии, продолжительности ее, состояния почек и многих других причин. Различают гипергликемическую глюкозурию и нормогликемическую. Концентрационный почечный порог – предельно низкая концентрация вещества, при которой оно появляется в моче - для глюкозы – 9-10 ммоль/л. Нормогликемическая глюкозурия связана, главным образом, с нарушением реабсорбции глюкозы в почечных канальцах.

### **Работа № 3. Определение активности альфа-амилазы в сыворотке крови и моче.**

*Принцип метода.* Альфа-амилаза катализирует гидролиз нерастворимого цветного крахмального субстрата с образованием синего растворимого в воде красителя. Количество освобожденного красителя пропорционально активности фермента.

*Ход определения.* Для определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови или моче готовят параллельно опытную и контрольную пробы и анализируют в следующей последовательности:

Компоненты	Пробы крови, мл		Пробы мочи, мл	
	опытная	контрольн ая	опытная	контрольн ая
Суспензия субстрата	1	1	1	1
Инкубация в течение 5 мин. при + 37°С				
Сыворотка крови	0,10	-	-	-
Моча	-	-	0,05	-
Дистиллированная вода	-	0,10	-	0,05
Инкубация в течение 15 мин. при 37°С				
Осаждающий раствор	2	2	2	2
Активность амилазы		Норма: 130-150 Е/л		Норма: 1,00-2,00 Е/мл

Пробы перемешивают, оставляют стоять на 15 мин, центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин. Затем измеряют оптическую плотность опытной пробы против контрольной на ФЭКе при длине волны 590 нм в кюветах с толщиной слоя 5,0 мм.

Активность фермента находят по калибровочному графику.

*Клинико-диагностическое значение определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови и моче:* у человека альфа-амилаза секретируется поджелудочной и слюнными железами, небольшая ее активность обнаруживается в ткани печени и скелетной мускулатуры. Молекулярная масса фермента относительно низка ( $\approx 48000$ ), поэтому он фильтруется в клубочках почек и содержится в моче.

У здоровых людей в сыворотке активность фермента от 140 до 350 Е/л, в моче - от 1000 до 2000 Е/л. Активность амилазы увеличивается, главным образом, при заболеваниях поджелудочной железы (при остром панкреатите). К повышению активности альфа-амилазы сыворотки крови приводят заболевания слюнных желез, хронические заболевания почек.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. У новорожденного ребенка после кормления молоком наблюдались беспокойство, срыгивания, рвота, метеоризм, диарея. После перевода на искусственное кормление смесью, содержащей из углеводов только глюкозу, было отмечено быстрое купирование диспепсических расстройств. Подумайте, недостаточность какого фермента, участвующего в переваривании углеводов, может вызвать подобную картину заболевания. Напишите схему реакции, катализируемую этим ферментом. Какую пробу необходимо провести для диагностики данной энзимопатии? Опишите методику проведения этой пробы и ее возможные результаты.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Нарушения переваривания и всасывания углеводов.
2. Неперевариваемые углеводы и их роль в питании.
3. Механизмы трансмембранного переноса моносахаридов в клетки. Белки-транспортеры глюкозы (ГЛЮТы).
4. Сравнительная характеристика методов определения глюкозы крови.
5. Пробы с сахарной нагрузкой: методика проведения, типы гликемических кривых, диагностическое значение.
6. Регуляция метаболизма гликогена.
7. Гликогеновые болезни.

**Задание на дом:** Тканевой обмен углеводов. Регуляция обмена углеводов.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## **Лабораторное занятие № 16**

**1. Тема и ее актуальность:** «Тканевой обмен углеводов. Регуляция обмена углеводов».

**2. Учебные цели:** сформировать и закрепить у студентов системные знания об основных путях метаболизма глюкозы, о клеточных и нейрогуморальных механизмах регуляции углеводного обмена.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- этапы, ключевые регуляторные ферменты, энергетическую эффективность анаэробного и аэробного дихотомического окисления глюкозы, спиртового брожения;
- этапы, ключевые регуляторные ферменты, биологическую роль глюконеогенеза;
- этапы, ключевые регуляторные ферменты, биологическую роль пентозофосфатного окисления глюкозы;
- особенности обмена галактозы и фруктозы в организме человека;
- основные механизмы клеточной и нейрогуморальной регуляции метаболизма углеводов.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком выделения гликогена из мышечной ткани.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен уметь:

- оценить значение аэробного и анаэробного дихотомического окисления глюкозы в разных физиологических состояниях организма;
- оценить роль и выраженность глюконеогенеза при некоторых физиологических и патологических состояниях;
- объяснить причины и последствия лактоацидоза;
- оценить роль и выраженность пентозофосфатного окисления глюкозы в физиологических условиях

и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Общая характеристика путей окисления глюкозы в клетке, их взаимосвязь и биологическое значение.
- 2) Анаэробный дихотомический путь распада глюкозы - гликолиз. Последовательность реакций, ферменты, химизм и обратимость отдельных этапов гликолиза.
- 3) Энергетическая ценность и биологическое значение гликолиза. Ключевые ферменты, регуляция их активности.
- 4) Спиртовое брожение. Последовательность реакций, ферменты отдельных этапов и их химизм. Конечные продукты окисления и энергетическая ценность спиртового брожения.
- 5) Аэробный дихотомический путь распада глюкозы. Основные фазы этого пути.

- 6) Понятие о челночных механизмах переноса восстановительных эквивалентов через митохондриальные мембраны. Химизм и биологический смысл глицерофосфатного челночного механизма.
- 7) Энергетическая ценность аэробного дихотомического окисления глюкозы. Сходство и различия аэробного и анаэробного путей распада глюкозы. Соотношение этих путей в тканях. Эффект Пастера.
- 8) Судьба молочной кислоты. Пути ее использования. Цикл Кори.
- 9) Глюконеогенез. Ключевые ферменты глюконеогенеза. Химизм ключевых реакций глюконеогенеза. Биологическое значение глюконеогенеза.
- 10) Гормональная регуляция дихотомического окисления углеводов и глюконеогенеза. Действие инсулина, адреналина, глюкокортикоидов.
- 11) Апотомический путь окисления глюкозы. Основные этапы этого пути. Химизм и ферменты окислительного этапа.
- 12) Схема неокислительного этапа превращений пентоз в апотомическом окислении глюкозы.
- 13) Ключевые ферменты пентозофосфатного пути окисления глюкозы. Биологическая роль этого пути метаболизма. Основные механизмы регуляции этого пути метаболитами (глюкозо-6-фосфатом) и гормонами (инсулин, адреналин, норадреналин).
- 14) Особенности тканевых превращений фруктозы, галактозы. Нарушения обмена фруктозы и галактозы.
- 15) Регуляция обмена углеводов и механизмы действия на обмен углеводов адреналина, глюкагона, глюкокортикоидов, соматотропина, инсулина.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Коферментом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы является

- а) биотин
- б) ТДФ
- в) ФАД
- г) НАД<sup>+</sup>
- д) НАДФ<sup>+</sup>

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Фермент – катализируемая реакция

1. гексокиназа
  2. альдолаза
  3. фосфоглюкомутаза
  4. фосфогексоизомераза
- а) фруктозо-1,6-дифосфат → ГАФ + ДОАФ
  - б) глюкоза + АТФ → глюкозо-6-фосфат + АДФ

в) глюкозо-6-фосфат → фруктозо-6-фосфат

г) глюкозо-6-фосфат → глюкозо-1-фосфат

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Гипогликемическое действие оказывают

1. тироксин
2. инсулин
3. соматотропин
4. эстрадиол
5. глюкагон
6. адреналин
7. тестостерон

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Пируват в процессе глюконеогенеза транспортируется в митохондрии и там карбоксилируется в оксалоацетат, потому что пируваткарбоксилаза содержится в митохондрии.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Пути окисления глюкозы в тканях: их значение и взаимосвязь.
- 2) Анаэробное и аэробное дихотомическое окисление глюкозы: этапы, ключевые регуляторные ферменты, энергетическая эффективность.
- 3) Спиртовое брожение: химизм реакций, энергетическая ценность.
- 4) Химизм и биологический смысл глицерофосфатного челночного механизма.
- 5) Судьба молочной кислоты: цикл Кори.
- 6) Глюконеогенез: химизм реакций, ключевые ферменты, биологическое значение.
- 7) Пентозофосфатный путь окисления глюкозы: этапы, ключевые регуляторные ферменты, энергетическая эффективность.
- 8) Особенности обмена галактозы и фруктозы в организме человека.
- 9) Клеточная и нейрогуморальная регуляция метаболизма углеводов.

7.3. Разбор с преподавателем метода выделения гликогена из мышечной ткани.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа №1. Определение гликогена в мышечной ткани.**

При экстракции используется способность гликогена к растворению в кислой среде. Применение трихлоруксусной или хлорной кислот в качестве экстрагирующего агента одновременно дает возможность освобождения раствора от примесей белков, нуклеиновых кислот и других полимерных соединений. Гликоген, подобно белкам, обладает резко выраженными гидрофильными свойствами, поэтому его легко можно осадить из раствора при высаливании солями щелочных и щелочноземельных металлов, солями тяжелых металлов, спиртом.

*Ход работы.* Забить животное, быстро выделить 5 г мышечной ткани и поместить в фарфоровую ступку, замороженную в лед. Ткань измельчить,

залить 2 мл 5% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и растереть пестиком. Добавить 3 мл 5% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и вновь тщательно растереть пестиком. Полученную кашку отцентрифугировать при 3000 об/мин и по 1 мл надосадочной жидкости перенести в 2 пробирки. В первой из них провести йодную пробу на гликоген, добавив 2-3 капли реактива Люголя. Отметить появление характерной красно-бурой окраски раствора, интенсивность которой зависит от концентрации глюкозы. Во вторую пробирку прилить 1 мл 10%-ного раствора ацетата свинца и отметить выпадение осадка.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. Девочке в возрасте 5 лет необходимо было определить уровень глюкозы в крови для выявления сахарного диабета. Девочка перед проведением пробы в лаборатории очень волновалась, плакала. Содержание глюкозы в крови оказалось равным 7,0 ммоль/л. Можно ли утверждать после такого исследования, что у ребенка сахарный диабет?

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Наследственный дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.
2. Метаболизм фруктозы и галактозы и его нарушения.
3. Пути обмена лактата в печени и мышцах.
4. Глюкуроновый путь обмена глюкозы.
5. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза в печени.
6. Глюкокортикоиды – влияние на углеводный обмен.
7. Клеточные механизмы регуляции: эффект Пастера.
8. Химизм и биороль апотомического окисления глюкозы.

**Задание на дом:** Обмен нейтрального жира и жирных кислот. Эйкозаноиды.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016



- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 17

**1. Тема и ее актуальность:** «Обмен нейтрального жира и жирных кислот. Эйкозаноиды».

**2. Учебные цели:** восстановить представления о структуре, свойствах и биологической роли жирных кислот, триацилглицеридов, сформировать и закрепить знания о переваривании, всасывании, транспорте и тканевом обмене нейтрального жира, глицерина и свободных жирных кислот, научиться некоторым методам анализа обмена липидов.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- структуру, свойства и биологическую роль предельных и непредельных жирных кислот, триацилглицеридов;
- особенности переваривания триацилглицеридов и всасывания продуктов их гидролиза;
- тканевой синтез и распад триацилглицеридов и регуляцию этих процессов основными липогенетическими и липолитическими гормонами;
- пути образования и использования глицерина в тканях, энергетическую эффективность окисления глицерина;
- пути использования ацетил-КоА в клетке;
- этапы тканевого синтеза и распада свободных жирных кислот, энергетическую эффективность их окисления;
- структуру, биосинтез и биологическую роль кетоновых тел;
- классификацию, структуру, биосинтез и биологическую роль эйкозаноидов.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком количественного определения триацилглицеридов в сыворотке крови;
- навыком обнаружения кетоновых тел (ацетона).

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- представить формулы наиболее распространенных в организме жирных кислот;
- интерпретировать изменения и нарушения переваривания и всасывания жира;
- оценить интенсивность липолиза и липогенеза при изменении содержания отдельных гормонов;
- охарактеризовать клинико-диагностическое значение определения триацилглицеридов в сыворотки крови;
- интерпретировать причины и последствия развития кетонемии и кетонурии и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Структура свободных жирных кислот, триацилглицеридов. Биологическая роль нейтрального жира в организме.

- 2) Переваривание нейтрального жира в желудочно-кишечном тракте. Ферменты расщепления и особенности их действия.
- 3) Структура и биологическая роль желчных и парных желчных кислот.
- 4) Качественное и количественное определение липазы панкреатического сока, диагностическое значение.
- 5) Особенности всасывания и транспорта липидов в крови организма человека. Роль липопротеинлипазы и ее связь с гепарином.
- 6) Мобилизация жира из жировых депо. Тканевые липазы. Гормоны, стимулирующие липолиз. Механизм стимуляции липолиза адреналином.
- 7) Пути образования и распад глицерина в тканях. Энергетическая ценность окисления глицерина до  $\text{CO}_2$  и воды.
- 8) Тканевое окисление жирных кислот. Этапы окисления. Перенос жирных кислот в митохондриях с помощью карнитина. Ферменты и химизм отдельных фаз окисления жирных кислот.
- 9) Энергетическая эффективность одного оборота  $\beta$ -окисления. Формула для расчета энергетической эффективности окисления жирных кислот.
- 10) Пути использования ацетил-КоА в тканях.
- 11) Кетоновые тела. Образование кетоновых тел из ацетил-КоА. Биологическое значение кетоновых тел.
- 12) Кетонемия, кетонурия и возможные причины их возникновения. Качественная реакция на обнаружение ацетона в моче.
- 13) Биосинтез жирных кислот. Синтетаза жирных кислот. Условия синтеза жирных кислот. Механизм переноса ацетил-КоА из митохондрий в цитоплазму.
- 14) Ферменты и химизм отдельных этапов синтеза жирных кислот.
- 15) Особенности синтеза непредельных жирных кислот. Витамин F.
- 16) Синтез нейтрального жира в тканях. Роль глюкозы в синтезе жира в жировой ткани.
- 17) Определение триглицеридов в сыворотке крови. Принцип метода, диагностическое значение.
- 18) Липолитические и липогенетические гормоны. Влияние на тканевый обмен триглицеридов инсулина, тироксина, половых гормонов, адреналина, норадреналина, простагландинов.
- 19) Эйкозаноиды: классификация, структура, биосинтез, биологическая роль.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Ключевым ферментом синтеза нейтрального жира является

- а) фосфатидилфосфатаза
- б) глицеролкиназа

- в) глицеролфосфатацилтрансфераза
- г) диацилглицеролацилтрансфераза

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Липопротеин - содержание в сыворотке крови

- 1. хиломикроны      а) 3,0-4,5 г/л
- 2. ЛПОНП            б) 0,1-0,5 г/л
- 3. ЛПНП             в) 1,25-4,25 г/л
- 4. ЛПВП             г) 0,8-1,5 г/л

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Продуктами переваривания жиров являются

- 1. свободные жирные кислоты
- 2.  $\alpha$ -моноацилглицерол
- 3. глицерол
- 4.  $\beta$ -моноацилглицерол

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

У взрослых активность лингвальной липазы высокая, потому что оптимум рН этой липазы 4,0-4,5.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Переваривание жиров в ЖКТ, ферменты переваривания, факторы эмульгирования жиров и активации соответствующих ферментов.
- 2) Ресинтез жиров и транспорт в лимфе и крови.
- 3) Молекулярный механизм жиромобилизующего действия адреналина или норадреналина.
- 4) Полное окисления глицерина до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , этапы окисления, энергетическая ценность (в АТФ).
- 5) Этапы окисления и биосинтеза жирных кислот.
- 6) Обмен кетоновых тел.
- 7) Эйкозаноиды: классификация, структура, биосинтез, биологическая роль.

7.3. Разбор с преподавателем метода количественного определения триацилглицеридов в сыворотке крови и определения кетоновых тел.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа № 1. Количественное определение триацилглицеридов в сыворотке крови.**

*Принцип метода.* Триацилглицерины (ТАГ) омыляются гидроксидом калия с образованием глицерина, при окислении которого образуется формальдегид. Реактив, содержащий ацетилацетон, взаимодействует с формальдегидом с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого определяют фотометрически.

*Ход определения.* ТАГ определяют, внося реактивы в 3 пробирки с притертой пробкой в следующей последовательности:

Компоненты	Раствор, мл		
		опытная проба	эталонная проба

Сыворотка крови, мл	0,1	-	-
Эталонный раствор триолеина, мл	-	0,1	-
Дистиллированная вода, мл	-	-	0,1
Изопропанол, мл	4	4	4
	Перемешивают и добавляют мерной ложечкой адсорбент		
	0,4 г	0,4 г	0,4 г
	Встряхивают на смесителе в течение 15 мин.		
	Центрифугируют при 3000 об/мин 5 мин. В 3 пробирки:		
Надосадочная жидкость, мл	2	2	2
Раствор КОН, мл	0,5	0,5	0,5
	Инкубируют в водяной бане при 60°C в течение 15 мин.		
	Охлаждают в холодной воде		
Окислительный раствор, мл	0,5	0,5	0,5
	Оставляют на 10 мин. при комнатной температуре		
Реактив на формальдегид (ацетилацетон), мл	0,5	0,5	0,5
	Инкубируют в водяной бане при 60°C в течение 30 мин.		

После охлаждения измеряют оптическую плотность опытной ( $E_o$ ) и эталонной ( $E_э$ ) проб против контрольной пробы на ФЭКе при длине волны 410 нм в кюветах на 10 мм.

*Расчет.* Содержание ТАГ рассчитывают по формуле:

$$X = E_o / E_э \times 3,39$$

где X - содержание ТАГ в сыворотке крови, ммоль/л,

$E_o$  и  $E_э$  - оптическая плотность опытной и эталонной проб,

3,39 - пересчетный коэффициент.

Сопоставить с нормой содержания ТАГ в сыворотки крови у здоровых людей и сделать вывод.

В норме содержание ТАГ в сыворотке крови составляет 0,15-1,71 ммоль/л или 0,5-1,5 г/л;

погранично-высокая триацилглицеринемия – 1,5-2,0 г/л (1,71-2,3 ммоль/л);

высокая (выраженная) гипертриглицеринемия-2,0-5,0 г/л (2,3-5,6 ммоль/л);

очень высокая (тяжелая) гипертриглицеринемия > 5,0 г/л (> 5,6 ммоль/л).

*Клинико-диагностическое значение определения ТАГ в сыворотки крови.*

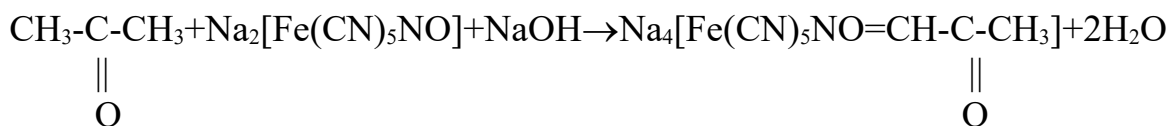
Наибольшее значение имеет определение содержания ТАГ в крови для установления типа дислиппротеинемий. Повышение содержания ТАГ в

крови (гипертриацилглицеринемия) отмечается при гиперлипопротеинемии I, IIб, III, IV и V типов, беременности, ожирении, вирусном гепатите, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, геморрагической лихорадке, нефротическом синдроме, алкоголизме, жировой инфильтрации печени, алкогольном и билиарном циррозе печени, панкреатите, гликогенозах I, III и VI типов, сахарном диабете, гипотиреозе и др.

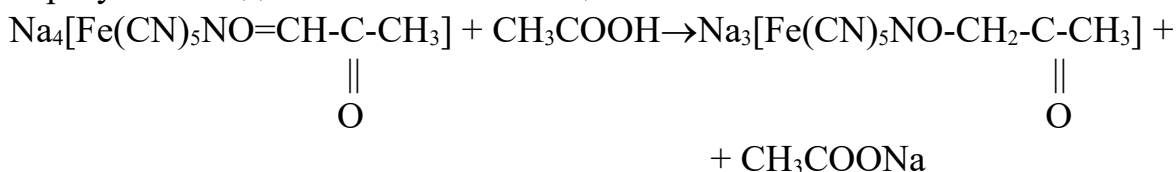
Снижение содержания ТАГ в крови (гипотриацилглицеринемия) может быть выявлено при гипо- и абеталипопротеинемии, хронической обструктивной болезни легких, инфаркте мозга, гипертиреозе, лактозурии, недостаточности питания, синдроме мальабсорбции, терминальной стадии поражения паренхимы печени.

### Работа № 2. Реакция на кетоновые тела (ацетон).

Ацетон и ацетоуксусная кислота в щелочной среде образуют с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание (проба Легала).



После подкисления пробы концентрированной уксусной кислотой образуется соединение вишневого цвета:



*Ход работы.* На часовое стекло наливают 1 каплю мочи, 1 каплю 10% раствора едкого натра и 1 каплю свежеприготовленного нитропруссид натрия. При наличии кетонурии появляется оранжево-красное окрашивание. Добавляют 3 капли концентрированной уксусной кислоты - появляется вишневое окрашивание. Реакцию можно проводить в пробирке. Реакция неспецифична. Креатинин мочи дает аналогичное окрашивание с нитропруссидом, но при добавлении концентрированной уксусной кислоты жидкость не окрашивается в вишневый цвет.

*Клинико-диагностическое значение определения кетоновых тел.*

К кетоновым телам относятся ацетоуксусная кислота, β-оксимасляная кислота и ацетон. Ацетоуксусная и β-оксимасляная кислота являются продуктами неполного окисления жирных кислот. В крови в норме они содержатся в незначительных количествах (0,01-0,02 г/л), так как в тканях быстро окисляются до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.

Кетоновые тела появляются в моче (кетонурия) при увеличении их содержания в крови. В норме с мочой выделяется минимальное количество кетоновых тел (20-50 мг за сутки), которое не обнаруживается используемыми качественными пробами. Кетонурия появляется при сахарном диабете, голодании, гликогенозах и др.

Длительно продолжающиеся желудочно-кишечные заболевания у детей могут вызвать кетонемию в результате голода и истощения. Кетонемией сопровождаются углеводное голодание у детей, длительная физическая нагрузка.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. У спортсмена перед ответственным стартом в крови повысилось содержание глюкозы до 6,5 ммоль/л и уровень СЖК (свободные жирные кислоты) до 1,2 ммоль/л (норма 0,4-0,9 ммоль/л). Какова причина этих изменений в крови?

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Эссенциальные (незаменимые) факторы питания липидной природы.
2. Нарушения переваривания и всасывания липидов.
3. Гормональная регуляция синтеза и мобилизации жиров.
4. Биохимические аспекты ожирения.
5. Нарушения обмена жирных кислот и кетоновых тел. Кетонемия и кетонурия.

**Задание на дом:** Обмен холестерина и сложных липидов. Регуляция обмена липидов.

### **Литература**

#### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

#### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020

- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.



## Лабораторное занятие № 18

**1. Тема и ее актуальность:** «Обмен холестерина и сложных липидов. Регуляция обмена липидов».

**2. Учебные цели:** студенты должны усвоить переваривание, всасывание, основные пути метаболизма и биологическую роль холестерина и фосфолипидов; сформировать и закрепить у студентов знания об основах молекулярных механизмах развития атеросклероза, желчнокаменной болезни, дислипотеинемий; научиться методу количественного определения холестерина в сыворотке крови.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- структуру, биологическую роль, содержание в сыворотке крови холестерина;
- транспортные формы в плазме крови холестерина. Состав и роль различных классов липопротеинов;
- пути метаболизма холестерина в сыворотке крови, тканях и печени;
- основные этапы синтеза холестерина;
- структуру и роль первичных и основных парных желчных кислот;
- понятие об атеросклерозе, желчнокаменной болезни, дислипотеинемиях;
- классификацию сложных липидов;
- структуру, биологическую роль основных групп сложных липидов;
- синтез и распад глицерофосфолипидов: последовательность реакций;
- взаимопревращение глицерофосфолипидов;
- понятие о жировой инфильтрации печени, липотропных факторах.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения содержания общего холестерина в сыворотке крови и плазме ферментативным колориметрическим методом;
- навыком определения холестерина в ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП;
- навыком расчета коэффициента атерогенности.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- представить структуру и объяснить биологические функции холестерина;
- применять знания об обмене холестерина и желчных кислот для понимания молекулярных механизмов развития атеросклероза, желчнокаменной болезни и принципов их лечения;
- интерпретировать результаты определения в сыворотке крови содержания общего холестерина, альфа- и бета-холестерина, хиломикрон, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП;
- представить структуру и объяснить биологические функции фосфолипидов;
- применять знания об обмене фосфолипидов для понимания молекулярных механизмов развития жировой инфильтрации печени и принципов ее профилактики и лечения

и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Переваривание холестерина и всасывание холестерина. Понятие об экзогенном и эндогенном холестерине.
- 2) Основные этапы синтеза холестерина. Химизм реакции образования мевалоновой кислоты. Ключевой фермент синтеза холестерина. Скваленовый путь синтеза холестерина.
- 3) Биологическая роль холестерина. Пути использования холестерина в различных тканях.
- 4) Структура и биологическая роль желчных и парных желчных кислот. Биосинтез желчных кислот.
- 5) Особенности обмена холестерина в организме человека. Роль липопротеинлипазы, печеночной липазы, липопротеинов, ЛХАТ, апопротеинов в транспорте холестерина в крови:  $\alpha$ - и  $\beta$ -холестерин, коэффициент атерогенности, АХАТ, накопление холестерина в тканях. Пути распада и выведения холестерина.
- 6) Содержание холестерина в сыворотке крови. Принцип метода определения и диагностическая ценность определения содержания общего холестерина в сыворотке крови.
- 7) Роль холестерина в патогенезе атеросклероза, желчнокаменной болезни.
- 8) Типы дислипидемий.
- 9) Структура глицеролфосфатов и сфинголипидов.
- 10) Биологическая роль сложных липидов в организме.
- 11) Переваривание сложных липидов в желудочно-кишечном тракте. Ферменты расщепления и особенности их действия.
- 12) Особенности всасывания продуктов расщепления фосфолипидов.
- 13) Транспорт фосфолипидов в крови организма человека.
- 14) Тканевый распад фосфолипидов. Ферменты расщепления фосфоглицеридов.
- 15) Синтез фосфолипидов. Синтез фосфоглицеридов путем активации азотистых оснований и через стадию фосфатидной кислоты. Роль ЦТФ.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Причиной семейной гиперхолестеремии является

- а) неправильное питание в семье
- б) поступление избытка холестерина с пищей
- в) мутации в гене апоС-I
- г) мутации в гене липопротеинлипазы
- д) мутации в гене белка-рецептора ЛПНП

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Метаболический процесс – регуляторный фермент

1. биосинтез холестерина а) карнитинацилтрансфераза I
2.  $\beta$ -окисление жирных кислот б) ГМГ-КоА-синтетаза
3. биосинтез кетонных тел в) ацетил-КоА-редуктаза
4. биосинтез желчных кислот г) ГМГ-КоА-редуктаза
5. биосинтез жирных кислот д) 7- $\alpha$ -гидроксилаза

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Биохимические функции ЛХАТ

1. катализирует реакцию:  $\text{XС} + \text{Ацил-КоА} \rightarrow \text{ЭфирXС} + \text{КоА-SH}$
2. катализирует реакцию:  
 $\text{XС} + \text{фосфатидилхолин} \rightarrow \text{Эфир XС} + \text{лизофосфатидилхолин}$
3. переносит эфиры XС с ЛПВП на хиломикроны
4. активирует «обратный» транспорт XС из периферических тканей в печень

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Липостатины подавляют синтез эндогенного холестерина, потому что они являются ингибиторами ключевого фермента этого процесса - гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Скваленовый путь биосинтеза холестерина в печени, ключевой регуляторный фермент.
- 2) Роль и значение ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, лецитинхолестеролацилтрансферазы (ЛХАТ) в транспорте холестерина.
- 3) Пути превращения холестерина в коже, печени, половых железах, коре надпочечников.
- 4) Состав и функция желчи.
- 5) Характеристика различных типов дислипидемий.
- 6) Обмен фосфолипидов.

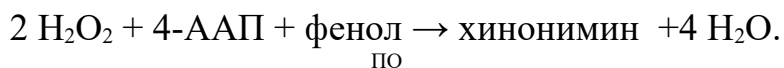
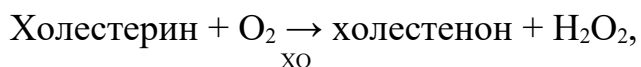
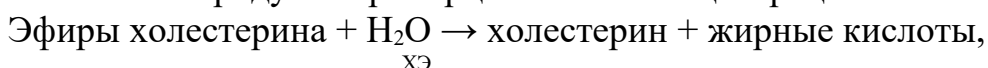
7.3. Разбор с преподавателем ферментативного колориметрического метода определения содержания общего холестерина в сыворотке и плазме крови; метода определения холестерина в ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа № 1. Определение содержания общего холестерина в сыворотке и плазме крови ферментативным колориметрическим методом.**

*Принцип метода.* Определение основано на ферментативном (с участием холестеролаэстеразы - ХЭ) гидролизе эфирсвязанной фракции холестерина и окислении всего содержащегося в исследуемой биологической жидкости свободного холестерина под влиянием холестеролоксидазы (ХО). Реакция сопровождается высвобождением пероксида водорода, вызывающего катализируемое пероксидазой (ПО) превращение 4-аминоантипирина (4-ААП) и фенола в окрашенное соединение (хинонимин) розово-малинового

цвета с максимумом поглощения при 500 нм. Интенсивность окраски образовавшегося продукта пропорциональна концентрации холестерина.



*Ход работы.* Приготовить опытные пробы (0,02 мл сыворотки крови и 2 мл рабочего реагента), холостую пробу (0,02 мл дистиллированной воды и 2 мл рабочего реагента) и пробу с калибратором (0,02 мл калибратора и 2 мл рабочего реагента). Рабочий реагент обязательно вносить в пробирки после проб, содержащих холестерин. Пробирки встряхнуть и инкубировать при температуре 37°C. Через 10 минут после начала инкубации пробирки повторно встряхнуть и инкубировать еще 20 минут при температуре 37°C. Окрашенные пробы фотометрировать при 500 нм в кювете с длиной оптического пути 5 мм относительно холостой пробы. Окраска стабильна в течении двух часов при комнатной температуре. Концентрацию холестерина в исследуемых пробах рассчитать по формуле:

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

где:  $E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{к}}$  – оптическая плотность исследуемой пробы и пробы с калибратором, соответственно. При результате выше 13 ммоль/л пробы следует развести в два раза дистиллированной водой, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

*Ход работы.* Приготовить пробы:

Компоненты реакционной смеси	Опытная проба, мл	Калибровочная проба	Холостая проба, мл
Сыворотка крови	0,02	-	-
Дистиллированная вода	-	-	0,02
Калибратор	-	0,02	-
Рабочий реагент	2,00	2,00	2,00

Реакционные смеси перемешать и инкубировать в течение 20 минут при температуре 37°C. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против холостой пробы при длине волны 500 нм в кюветах с шириной слоя 5 мм. Окраска раствора стабильна в течение 2 часов при предохранении от прямого солнечного света.

*Расчет.* Содержание холестерина в сыворотке крови (С) в ммоль/л определяют по формуле:

$$C = 5,17 \times E_{\text{оп}}/E_{\text{к}},$$

где:  $E_{\text{оп}}$  и  $E_{\text{к}}$  – оптическая плотность исследуемой пробы и пробы с калибратором, соответственно;

5,17 – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л.

При результате выше 13 ммоль/л пробы следует развести в два раза дистиллированной водой, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

*Интерпретация результатов анализа:*

Уровень холестерина в крови (показатели концентрации холестерина в сыворотке крови):

нормальный (желаемый) - < 5,2 ммоль/л,

погранично-высокий – 5,2 - 6,2 ммоль/л,

высокий - > 6,2 или 6,7 ммоль/л соответственно для мужчин и женщин старше 20 лет;

умеренная гиперхолестеринемия – 6,2-7,5 или 6,5-7,8 ммоль/л;

тяжелая гиперхолестеринемия - > 7,5 или > 7,8 ммоль/л.

## **Работа № 2. Определение холестерина в ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП.**

### **Расчет атерогенности.**

*Принцип метода.* Способ основан на определении концентрации общего холестерина в пробах сыворотки крови до осаждения атерогенных апо-В-содержащих липопротеинов (ЛПОНП, ЛПНП и их «ремнанты») и после такового  $\alpha$ -холестерина (холестерина ЛПВП) в супернатанте с дополнительным расчетом холестеринового коэффициента (индекса) атерогенности. Содержащиеся в сыворотке крови ЛПОНП и ЛПНП образуют нерастворимые комплексы с фосфорновольфрамовой кислотой и ионами магния, полученная после осаждения преципитата надосадочная жидкость используется для определения холестерина ЛПВП (ЛПВП-ХС).

*Ход работы.* К 1,0 мл сыворотки крови прилить 0,1 мл  $MgCl_2$  на 4% водном растворе фосфорновольфрамовой кислоты. Инкубировать в течение 30 мин при 4<sup>0</sup>С (в ледяной воде) с целью полного выпадения в осадок ЛПОНП и ЛПНП. Центрифугировать пробу в течение 15 мин при 3000 об/мин. В супернатанте определить содержание  $\alpha$ -холестерина (ЛПВП-ХС). Для этого в сухую пробирку поместить 2,1 мл реактива Либермана-Бурхарда и осторожно по стенке пробирки добавить 0,1 мл супернатанта и далее проводить определение как описано в работе № 1.

По разнице содержания холестерина в цельной крови (общий ХС, см. работу №1) и в ЛПВП рассчитать уровень холестерина фракций ЛПОНП и ЛПНП.

*Расчет* холестеринового коэффициента атерогенности ( $K_{xc}$ ) произвести по формуле:

$$K_{xc} = \frac{\text{Общий ХС} - \text{ЛПВП-ХС}}{\text{ЛПВП-ХС}}$$

*Клинико-диагностическое значение.* Оптимальный уровень ЛПВП-ХС ( $\alpha$ -холестерина) 0,4-0,6 г/л. Определение уровня ЛПВП-ХС способствует выявлению риска развития ИБС. Снижение уровня ЛПВП-ХС на каждые 0,05 г/л ниже среднего ведет к увеличению риска развития ИБС на 25 %.

Повышенный уровень ЛПВП-ХС расценивается как антиатерогенный фактор.

Следует учитывать, что изменение содержания ЛПВП-ХС может наблюдаться при ряде заболеваний и состояний. Так, повышение уровня ЛПВП-ХС отмечается при первичном билиарном циррозе печени, хроническом гепатите, алкоголизме, хронических интоксикациях. Снижение уровня ЛПВП-ХС наблюдается при сахарном диабете, заболеваниях почек и печени, гиперлипопротеинемии IV типа, острых бактериальных и вирусных инфекциях.

Для определения тактики лечения и профилактики возникновения ИБС важно совместно оценивать уровень в сыворотке крови общего холестерина и ЛПВП-ХС. Индекс атерогенности  $K_{\text{ХС}}$ , который в норме у здоровых лиц варьирует в пределах 2-4, более точно отражает благоприятное и неблагоприятное сочетание липопротеинов (ЛП) с точки зрения риска развития ИБС и атеросклероза, так как характеризует отношение атерогенных ЛП к содержанию антиатерогенных ЛП в сыворотке крови. Этот коэффициент у новорожденных не более 1, достигает 2,5 у здоровых мужчин 20-30 лет и 2,2 – у здоровых женщин того же возраста; у мужчин 40-60 лет без клинических проявлений атеросклероза от 3 до 3,5; у лиц с ИБС он больше 4, нередко достигая 5-6; у лиц старше 90 лет не превышает 3.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. У женщин содержание общего холестерина в крови и частота заболевания атеросклерозом ниже, чем у мужчин, однако желчнокаменная болезнь у них встречается в 3-4 раза чаще. Объясните эти особенности. Для этого перечислите факторы, способствующие и препятствующие образованию желчных камней. Опишите, как влияют эстрогены на обмен холестерина.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Желчные кислоты: структура, биологическая функция метаболизм и его регуляция.
2. Желчнокаменная болезнь, молекулярные аспекты.
3. Модифицированные липопротеины. Роль в формировании атеросклероза и других заболеваний.
4. Вторичные гиперлипопротеинемии.
5. Жировое перерождение печени.
6. Молекулярные механизмы патогенеза атеросклероза.
7. Липопротеины и их роль в патогенезе атеросклероза.

**Задание на дом:** Контрольное занятие по модулю «Обмен углеводов и липидов».

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 19

**1. Тема и ее актуальность:** Контрольное занятие по модулю «Обмен углеводов и липидов».

**2. Учебные цели:** закрепить знания о структуре и функциях углеводов и липидов; основных этапов метаболических превращений углеводов, регуляции их обмена; основных путях обмена липидов, их регуляции и важнейших нарушений липидного обмена; выявить степень усвоения студентами данного раздела биохимии.

**Формируемые компетенции:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1. Структура и свойства основных пищевых углеводов. Биологическая роль углеводов в организме человека.
2. Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте. Ферменты, особенности их действия.
3. Особенности всасывания углеводов. Превращения глюкозы в процессе ее всасывания.
4. Качественное и количественное определение активности амилазы. Нормы активности и диагностическая ценность определения амилазы крови и мочи.
5. Основные пути тканевых превращений глюкозы.
6. Гликоген. Структура, содержание в отдельных тканях, биологическая роль.
7. Гликогенез. Основные этапы и ферменты гликогенеза.
8. Распад гликогена в тканях. Пути распада, ферменты распада гликогена.
9. Нейро-гуморальная регуляция обмена гликогена в печени: молекулярные механизмы действия глюкагона, адреналина и инсулина.
10. Гликогенозы. Общее понятие. Краткая характеристика болезни Гирке, лимитдекстриноза, болезни Мак-Ардля, генерализованного гликогеноза, агликогеноза.
11. Сахар крови. Методы его определения и нормы содержания в зависимости от метода определения. Понятие о сахарной кривой. Диагностическая ценность определения сахара крови и построения сахарной кривой.
12. Нейро-гуморальные механизмы поддержания уровня сахара крови. Гипергликемические и гипогликемические гормоны. Почечный порог для глюкозы.
13. Общая характеристика путей окисления глюкозы в клетке, их взаимосвязь и биологическое значение.
14. Анаэробный дихотомический путь распада глюкозы - гликолиз. Последовательность реакций, ферменты, химизм и обратимость отдельных этапов гликолиза.
15. Энергетическая ценность и биологическое значение гликолиза. Ключевые ферменты, регуляция их активности.
16. Гликогенолиз. Энергетическая ценность гликогенолиза.



17. Спиртовое брожение. Последовательность реакций, ферменты отдельных этапов и их химизм. Конечные продукты окисления и энергетическая ценность спиртового брожения.
18. Аэробный дихотомический путь распада глюкозы. Основные фазы этого пути. Представить схематически аэробное дихотомическое расщепление глюкозы.
19. Понятие о челночных механизмах переноса восстановительных эквивалентов через митохондриальные мембраны. Химизм и биологический смысл глицерофосфатного челночного механизма.
20. Энергетическая ценность аэробного дихотомического окисления глюкозы. Сходство и различия аэробного и анаэробного путей распада глюкозы. Соотношение этих путей в тканях. Эффект Пастера.
21. Судьба молочной кислоты. Пути ее использования. Цикл Кори.
22. Глюконеогенез. Ключевые ферменты глюконеогенеза. Химизм ключевых реакций глюконеогенеза.
23. Напишите схематически глюконеогенез из некоторых аминокислот, глицерина, молочной кислоты. Каково биологическое значение глюконеогенеза?
24. Энергетические расходы при глюконеогенезе. В каких тканях протекает глюконеогенез?
25. Гормональная регуляция дихотомического окисления углеводов и гликогенеза. Действие инсулина, адреналина, глюкокортикоидов.
26. Аптомиический путь окисления глюкозы. Основные этапы этого пути. Химизм и ферменты окислительного этапа.
27. Схема неокислительного этапа превращений пентоз в аптомиическом окислении глюкозы.
28. Ключевые ферменты пентозофосфатного пути окисления глюкозы. Биологическая роль этого пути метаболизма. Основные механизмы регуляции этого пути метаболитами (глюкозо-6-фосфатом) и гормонами (инсулин, адреналин, норадреналин).
29. Особенности тканевых превращений фруктозы, галактозы. Основные причины развития фруктозурии и галактоземии.
30. Регуляция обмена углеводов и механизмы действия на обмен углеводов адреналина, глюкагона, глюкокортикоидов, соматотропина, инсулина.
31. Структура основных классов липидов: свободных жирных кислот, триацилглицеридов, холестерина и холестеридов, глицеролфосфатов, сфинголипидов. Биологическая роль липидов в организме.
32. Переваривание нейтрального жира в желудочно-кишечном тракте. Ферменты расщепления и особенности их действия.
33. Структура и биологическая роль желчных и парных желчных кислот.
34. Качественное и количественное определение липазы панкреатического сока, диагностическое значение.
35. Особенности всасывания и транспорта липидов в крови организма человека. Роль липопротеинлипазы и ее связь с гепарином.

36. Мобилизация жира из жировых депо. Тканевые липазы. Гормоны, стимулирующие липолиз. Механизм стимуляции липолиза адреналином.
37. Пути образования и распад глицерина в тканях. Энергетическая ценность окисления глицерина до  $\text{CO}_2$  и воды. Представьте схему распада глицерина и охарактеризуйте этапы, приводящие к синтезу АТФ.
38. Тканевое окисление жирных кислот. Этапы окисления. Перенос жирных кислот в митохондриях с помощью карнитина. Ферменты и химизм отдельных фаз окисления жирных кислот.
39. Энергетическая эффективность одного оборота  $\beta$ -окисления. Формула для расчета энергетической эффективности окисления жирных кислот.
40. Пути использования ацетил-КоА в тканях.
41. Кетоновые тела. Образование кетоновых тел из ацетил-КоА. Биологическое значение кетоновых тел.
42. Кетонемия, кетонурия и возможные причины их возникновения. Качественная реакция на обнаружение ацетона в моче.
43. Биосинтез жирных кислот. Синтетаза жирных кислот. Условия синтеза жирных кислот. Механизм переноса ацетил-КоА из митохондрий в цитоплазму.
44. Ферменты и химизм отдельных этапов синтеза жирных кислот.
45. Особенности синтеза непредельных жирных кислот. Витамин F.
46. Синтез нейтрального жира в тканях. Роль глюкозы в синтезе жира в жировой ткани. Определение триглицеридов в сыворотке крови. Принцип метода, диагностическое значение.
47. Липолитические и липогенетические гормоны. Влияние на тканевый обмен триглицеридов инсулина, тироксина, половых гормонов, адреналина, норадреналина, простагландинов.
48. Тканевый распад фосфолипидов. Ферменты расщепления фосфоглицеридов.
49. Синтез фосфолипидов. Синтез фосфоглицеридов путем активации азотистых оснований и через стадию фосфатидной кислоты. Роль ЦТФ.
50. Количественное определение лецитина в сыворотке крови. Принцип метода, диагностическая ценность.
51. Переваривание холестерина и всасывание холестерина. Понятие об экзогенном и эндогенном холестерине.
52. Основные этапы синтеза холестерина. Химизм реакции образования мевалоновой кислоты. Ключевой фермент синтеза холестерина. Представьте схематически скваленовый путь синтеза холестерина.
53. Биологическая роль холестерина. Пути использования холестерина в различных тканях. Биосинтез желчных кислот.
54. Особенности обмена холестерина в организме человека. Роль липопротеинлипазы, печеночной липазы, липопротеинов, ЛХАТ, апопротеинов в транспорте холестерина в крови:  $\alpha$ - и  $\beta$ -холестерин, коэффициент атерогенности, АХАТ, накопление холестерина в тканях. Пути распада и выведения холестерина.

55. Содержание холестерина в сыворотке крови. Принцип метода определения и диагностическая ценность определения холестерина по Ильку.
56. Роль холестерина в патогенезе атеросклероза, желчнокаменной болезни.
57. Влияние на обмен липидов адреналина, норадреналина, половых гормонов, йодированных гормонов щитовидной железы, инсулина, лактикотропина.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** компьютеры, плакаты, таблицы, ситуационные задачи.

**7. Содержание занятия:**

Студентам предстоит пройти компьютерное тестирование. Каждому студенту будет предложено ответить на ряд тестовых заданий. Условием допуска до устного собеседования является успешное выполнение не менее 70 % тестов.

При собеседовании студент должен ответить на контрольные вопросы из модуля.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

**Задание на дом:** Переваривание и всасывание белков. Общие пути обмена аминокислот.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020

- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## **Лабораторное занятие № 20**

**1. Тема и ее актуальность:** «Переваривание и всасывание белков. Общие пути обмена аминокислот».

**2. Учебные цели:** углубить и закрепить знания о составе пищеварительных соков; ознакомиться со свойствами протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта, процессами переваривания, всасывания и гниения белков; усвоить общие пути превращения аминокислот — реакции переаминирования, дезаминирования и декарбоксилирования аминокислот; ознакомиться с методами определения активности некоторых протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта и активности трансаминаз в сыворотке крови с последующей интерпретацией полученных результатов.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- основные протеолитические ферменты желудочно-кишечного тракта;
- механизм всасывания аминокислот и пути их использования;
- токсические продукты гниения белков и способы их обезвреживания;
- особенности тканевого распада белков;

общие пути метаболизма аминокислот: переаминирование, дезаминирование, декарбоксилирование.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком количественного определения протеолитической активности желудочного сока по Ансену;
- навыком определения активности уропепсина;
- навыком определения активности аспартат- и аланинаминотрансфераз в сыворотке крови колориметрическим методом.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен уметь:

- объяснить механизм переваривания белков в желудочно-кишечном тракте;
- определять протеолитическую активность желудочного сока, интерпретировать полученные результаты;
- трактовать последствия нарушений выработки протеолитических ферментов при болезнях желудка, поджелудочной железы и тонкого кишечника;
- представить реакции переаминирования, дезаминирования, декарбоксилирования аминокислот и объяснить биологическую роль этих процессов

и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Биологическая роль и структура белков.
- 2) Переваривание белков в желудке: ферменты, система их активации, оптимум pH, специфичность, продукты переваривания.

- 3) Роль соляной кислоты в пищеварении.
- 4) Переваривание белков в кишечнике: ферменты панкреатического и кишечного соков, система их активации, специфичность действия, продукты гидролиза белков.
- 5) Гниение белков в кишечнике: понятие, химизм образования продуктов гниения и детоксикация ядовитых продуктов в печени.
- 6) Пути всасывания аминокислот в кишечнике.
- 7) Тканевой распад белков. Роль шаперонов и убиквитина в этом процессе.
- 8) Понятие клеточного метаболического пула аминокислот.
- 9) Переаминирование аминокислот: общая схема, механизм, биологический смысл и роль во взаимосвязи обмена веществ.
- 10) Трансаминазы: кофермент, органоспецифичность, диагностическое значение определения их активности в сыворотке крови.
- 11) Деаминация аминокислот. Виды деаминации. Аминокислотные оксидазы и дегидрогеназы. Непрямое деаминация, последовательность реакций, ферменты, биологическая роль.
- 12) Декарбоксилирование аминокислот: образование, физиологические функции и инактивация биогенных аминов.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Трипсин относится к классу

- а) оксидоредуктаз
- б) трансфераз
- в) гидролаз
- г) лиаз
- д) изомераз
- е) лигаз

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Пептидазы – название фермента

- |                  |                      |
|------------------|----------------------|
| 1. экзопептидаза | а) пепсин            |
| 2. эндопептидаза | б) трипсин           |
|                  | в) химотрипсин       |
|                  | г) карбоксипептидаза |
|                  | д) аминопептидаза    |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Обезвреживание токсичных продуктов гниения белков происходит при участии

1. 3/-фосфоаденозин-5/-фосфосульфата (ФАФС)
2. АТФ

3. уридиндифосфоглюкуроновой кислоты (УДФГК)
4. моноаминоксидаз
5. S-аденозилметионина
6. Ацетил-КоА

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

В толстом кишечнике протекают процессы гниения белков, потому что в слизистой толстого кишечника не вырабатываются пептидазы.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Нормы белка в питании в зависимости от возраста, климатических условий и т.д.
- 2) Определение понятия «азотистый баланс», виды азотистого баланса.
- 3) Характеристика протеолитических ферментов ЖКТ: система их активации, оптимум pH, специфичность, продукты переваривания.
- 4) Пути всасывания и транспорта аминокислот.
- 5) Гниение белков в кишечнике, понятие, химизм образования продуктов гниения и детоксикация ядовитых продуктов в печени.
- 6) Тканевой распад белков. Роль шаперонов и убиквитина в этом процессе.
- 7) Клеточный пул аминокислот, пути его пополнения.
- 8) Общие пути обмена аминокислот: переаминирование, трансаминирование, дезаминирование - общая схема, механизм, значение.

7.3. Разбор с преподавателем метода количественного определения протеолитической активности желудочного сока по Ансену; метода определения активности уропепсина; колориметрического метода определения активности аспартат- и аланинаминотрансфераз в сыворотке крови.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа № 1. Количественное определение протеолитической активности желудочного сока по Ансену.**

*Принцип метода.* О протеолитической активности желудочного сока судят по количеству образующихся при расщеплении казеина неосаждаемых ТХУ пептидов, концентрация которых соответствует концентрации определяемого в них тирозина.

*Ход работы.* В две центрифужные пробирки отмерить по 1 мл желудочного сока, разведенного в 10 раз. В опытную пробирку добавить 1 мл 5 % раствора казеината натрия, в контрольную – 2 мл 5 % ТХУ. Содержимое пробирок перемешать, поместить в термостат при температуре 38° С на 20 мин. После термостатирования в контрольную пробу добавить 1 мл 5 % раствора казеината натрия, в контрольную – 2 мл 5 % ТХУ. Выдержать 15 мин, далее центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин. После этого отобрать в 2 биологические пробирки по 1 мл центрифугата (надосадочной жидкости) и по 5 мл 0,5 н раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. При перемешивании в обе пробирки добавить по 1 мл реактива Фолина и выдержать 20 мин.

Оптическую плотность опытного раствора измерить на ФЭКе при длине волны 760 нм (красный светофильтр) в кювете толщиной 10 мм против контроля. Концентрацию тирозина ( $C_{\text{тир}}$ ) найти по калибровочному графику. Рассчитать активность по формуле:  $A = 2 \times C_{\text{тир}}$  (мкМ/мл мин).

В норме протеолитическая активность желудочного сока равна 0,15-0,5 мкМ/мл мин.

### **Работа №2. Определение активности уропепсина.**

Метод основан на способности пепсина в определенных условиях расщеплять белковую молекулу гемоглобина с освобождением тирозина и триптофана. По концентрации последних судят о пептической активности желудочного сока или мочи. Около 1% пепсиногена, вырабатываемого клетками слизистой оболочки желудка, поступает в кровь и выводится почками с мочой в виде уропепсиногена.

*Ход работы.* Определение уропепсина.

Из суточного количества мочи отбирают 20 мл, помещают в градуированный цилиндр, подкисляют раствором соляной кислоты до рН 1,5 и доводят дистиллированной водой до 25 мл. Таким же путем доводят раствор гемоглобина до рН 1,5. В пробирку отмеривают 1 мл подкисленной мочи, добавляют 5 мл раствора гемоглобина, перемешивают и выдерживают на водяной бане при 37°C в течение 30 мин. Затем добавляют 10 мл 5% раствора ТХУ, перемешивают, фильтруют и в фильтрате определяют тирозин. Для этого к 2 мл фильтрата добавляют 5 мл дистиллированной воды, 8 мл раствора щелочи и 3 мл реактива Фолина, предварительно разведенного водой в 3 раза. После добавления последнего развивается голубая окраска. Через 30 мин на ФЭКе определяют оптическую плотность при длине волны 580 нм. Опыт сравнивают с контролем, в контроле моча заменяется дистиллированной водой. Расчет содержания пепсиногена в суточном количестве мочи производят по формуле:

$П \text{ сут} = 20 \times Д \times V \times X$  (Ед/24 часа),

где Д- оптическая плотность опытного раствора; X- количество тирозина в мг, которое определено по калибровочной кривой ; V- объем мочи за 24 часа.

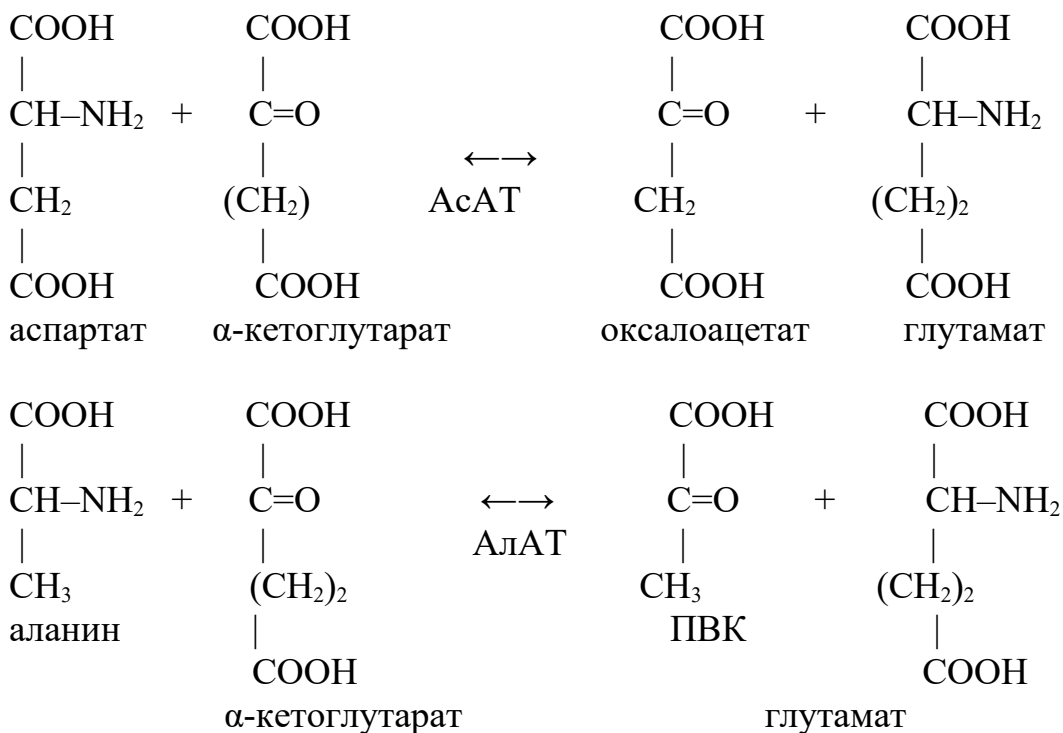
Определение пепсина в желудочном соке производят аналогичным способом, с той лишь разницей, что для исследования берут 5 мл желудочного сока. Расчет производят на 100 мл желудочного сока.

### **Работа № 3. Колориметрический метод определения активности аспаргат- и аланинаминотрансфераз в сыворотке крови.**

Определение активности аминотрансфераз в сыворотке крови имеет важное значение для диагностики болезней печени. Для острого гепатита характерно раннее повышение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ). При инфаркте миокарда в 95 % случаев в сыворотке крови повышается активность аспаргатаминотрансферазы (АсАТ). В сыворотке крови здоровых людей активность АсАТ колеблется в пределах 0,028-0,139 мкмоль/л×сек, активность АлАТ – 0,028-0,196 мкмоль/л×сек.



*Принцип метода.* В результате переаминирования при участии АсАТ и АлАТ образуются, соответственно, щавелевоуксусная (ЩУК, оксалоацетат) и пировиноградная (ПВК) кислоты.



Оксалоацетат при декарбоксилировании превращается в пируват. При добавлении кислого 2,4-динитрофенилгидразина ферментативный процесс останавливается и образуется гидразон пировиноградной кислоты. Последний в щелочной среде дает окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшейся пировиноградной кислоты.

*Ход работы.*

#### **Определение АсАТ.**

Одновременно готовят опытную и контрольную пробы.

*Опытная проба.* В пробирку вносят 0,5 мл субстратного раствора, добавляют 0,1 мл сыворотки, помещают в термостат при температуре 37° С на 1 час. Затем добавляют 0,5 мл раствора динитрофенилгидразина и выдерживают при комнатной температуре 20 мин для развития реакции. Затем приливают 5 мл 0,4 н NaOH, тщательно перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 10 мин для развития окраски. Оптическую плотность измеряют на ФЭКе с зеленым светофильтром в кювете на 10 мм против контроля.

*Контрольная проба.* Содержит все ингредиенты опытной пробы за исключением сыворотки крови. Вместо нее берут 0,1 мл дистиллированной воды и инкубируют в тех же условиях, что и опытную.

#### **Определение АлАТ.**

Одновременно готовят опытную и контрольную пробы.

В опытную пробирку вносят 0,5 мл субстратного раствора для определения АлАТ, затем добавляют 0,1 мл испытуемой сыворотки и помещают в термостат при температуре 37° С на 30 мин. Дальнейший ход анализа такой же, как при определении АсАТ.

В контрольную пробирку вместо сыворотки крови берут 0,1 мл дистиллированной воды.

*Расчет* активности ферментов производят по калибровочному графику, отражающему зависимость оптической плотности от содержания ПВК.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. Здоровых взрослых крыс длительное время содержали на искусственной белковой диете, исключая метионин и лизин. Как изменится у этих животных азотистый баланс? Поясните ответ.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Биосинтез и регуляция секреции протеолитических ферментов в желудке.
2. Механизмы активации и ингибирования протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта.
3. Регуляция секреции пищеварительных соков.

**Задание на дом:** Специфические пути обмена аминокислот. Обезвреживание аммиака.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др.М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В.

Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020

5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020

6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.

[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)

7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>

8. <http://www.xumuk.ru/>

9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов

Хайбуллина З.Г.

Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 21

**1. Тема и ее актуальность:** «Специфические пути обмена аминокислот. Обезвреживание аммиака».

**2. Учебные цели:** изучить особенности обмена отдельных аминокислот; углубить и закрепить знания об источниках аммиака в клетке, способах обезвреживания аммиака в тканях; научиться определять концентрацию мочевины в моче, сыворотке крови и интерпретировать полученные результаты.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- особенности обмена глицина, ароматических и серосодержащих аминокислот;
- источники аммиака в клетке;
- механизмы временного и окончательного обезвреживания аммиака.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком количественного определения мочевины в сыворотке крови и моче ферментативным методом.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- охарактеризовать особенности обмена ароматических аминокислот;
- охарактеризовать причины и последствия развития фенилкетонурии, алкаптонурии, альбинизма;
- представить схему обмена глицина и серосодержащих аминокислот;
- объяснять механизмы детоксикации аммиака;
- определять содержание мочевины в сыворотке крови и моче, интерпретировать полученные результаты

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Особенности обмена цистеина.
- 2) Структура «активного метионина», участие кофермента S-аденозилметионина в реакциях трансметилирования.
- 3) Гомоцистеин, роль витамина В<sub>12</sub> и фолиевой кислоты в обмене гомоцистеина. Гомоцистеинемия и гомоцистеинурия.
- 4) Структура глутатиона и его биологическая роль.
- 5) Особенности обмена глицина.
- 6) Обмен фенилаланина и тирозина, наследственные заболевания связанные с нарушением обмена данных аминокислот.
- 7) Источники и механизмы образования свободного аммиака в организме.
- 8) Характеристика основных путей реутилизации аммиака. Временное обезвреживание аммиака, виды, химизм, ферменты, значение.
- 9) Схема выведения аммиака с мочой, биологическая роль этого процесса.

10) Орнитиновый цикл мочевинообразования: химизм, ферменты, энергетическая обеспеченность, связь с циклом трикарбоновых кислот и восстановительным аминированием.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Наиболее характерный клинический признак фенилкетонурии

- а) отсутствие пигментов в коже, волосах, сетчатке
- б) чувствительность к солнечному облучению, снижение остроты зрения
- в) развитие охроноза, потемнение носа, ушей, склер
- г) пеллагроподобные кожные поражения
- д) нарушение умственного и физического развития

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Аминокислота – промежуточный продукт обмена

- |                |                         |
|----------------|-------------------------|
| 1. фенилаланин | а) пируват              |
| 2. глицин      | б) фумарат              |
| 3. цистеин     | в) фенилпировиноградная |
| 4. метионин    | кислота                 |
| 5. тирозин     | г) ацетоацетат          |
|                | д) глюконовая кислота   |
|                | е) гомоцистеин          |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

S-аденозилметионин:

- 1. является источником метильной группы в синтезе биологически активных веществ.
- 2. инициирует процесс трансляции
- 3. участвует в обезвреживании токсических соединений.
- 4. служит источником серы для синтеза цистеина.
- 5. является предшественником гомоцистеина.

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

При алкаптонурии нарушен обмен триптофана, потому что при этой патологии отсутствует оксидаза гомогентизиновой кислоты.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Схема метаболизма ароматических аминокислот.
- 2) Биохимические дефекты при фенилкетонурии, альбинизме, алкаптонурии.
- 3) Примеры реакций метилирования с участием S-аденозилметионина.

- 4) Схема превращений цистеина и глицина.
  - 5) Источники аммиака в клетках.
  - 6) Содержание аммиака в крови в норме.
  - 7) Способы обезвреживания аммиака в организме.
  - 8) Орнитиновый цикл: химизм реакций, взаимосвязь с циклом Кребса.
  - 9) Количественное определение мочевины в сыворотке крови: принципы метода, показатели нормы, диагностическое значение.
- 7.3. Разбор с преподавателем ферментативного метода количественного определения мочевины в сыворотке крови.

**Работа 1. Определение содержания мочевины в сыворотке крови ферментативным методом.**

*Принцип метода.* Уреаза гидролизует мочевины с образованием аммиака и двуокси углерода. Аммиак реагирует с производными фенола и щелочным раствором гипохлорита с образованием цветного соединения, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию мочевины в анализируемой пробе.

*Реактивы.* Рабочий раствор - уреазы, нитропруссид натрия+буферно-субстратный раствор рН 6,5. Реактив 3 - раствор гипохлорита натрия и гидроокиси натрия,

Ход определения

	<b>Опытная проба</b>	<b>Холостая проба</b>
Сыворотка крови, мл	0,02	-
Рабочий раствор, мл	2,0	2,0
Перемешать и инкубировать 10 мин при 37° С		
Реактив 3, мл	2,0	2,0

Перемешать, выдержать 15 мин при комнатной температуре. Инкубационную смесь следует предохранять от воздействия прямого света. После инкубации измеряют оптическую плотность опытной (А) пробы против холостой пробы в кюветах на 10 мм при длине волны 670 нм на ФЭКе.

*Расчет* концентрации мочевины в опытной пробе проводят по формуле:  $C = (A/0,21) \cdot 10$  ммоль/л. В норме – 3,5-9,0 ммоль/л.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. У альбиносов (людей с белой кожей и очень светлыми волосами) отсутствуют механизмы защиты от ультрафиолетовых лучей. Они быстро получают солнечные ожоги, загар у них не появляется. Каковы причины этой патологии?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Наследственные нарушения орнитинового цикла.
2. Современные методы исследования мочевины в биологических жидкостях.

3. Патология азотистого обмена: азотемия и азотурия.

**Задание на дом:** Матричные биосинтезы. Регуляция на клеточном уровне.

### Литература

#### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

#### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 22

**1. Тема и ее актуальность:** «Матричные биосинтезы. Регуляция на клеточном уровне».

Биосинтез нуклеиновых кислот и белков - уникальное свойство живых организмов. Процесс связан с хранением наследственной информации, является разновидностью биологической памяти. Структура ДНК и РНК – способ фиксации наследственной информации, который обеспечивает формирование в организме двух информационных потоков.

Первый поток осуществляет воспроизведение информации, заключенной в молекулах ДНК. Он направлен на сохранение генотипа наследственной информации, представляет собой синтез ДНК – репликацию. Вторым потоком информации реализуется в процессе жизнедеятельности клетки, он направлен на реализацию фенотипа. Этот поток информации называется экспрессией генов, включает в себя процесс транскрипции (синтез РНК на матрице ДНК) и процесс трансляции (биосинтез белков на матрице мРНК), т.е. «перевод» или трансляция информации, заключенной в мРНК на «язык» аминокислот. Этот поток информации от ДНК через РНК на белок является «центральной догмой биологии» и характерен для всех живых организмов за исключением некоторых РНК-содержащих вирусов (для них - обратная транскрипция, т.е. синтез ДНК на матрице РНК).

Знание этапов синтеза нуклеиновых кислот и белка необходимо для понимания молекулярных механизмов генетической изменчивости, мутаций, наследственных болезней. Полученные сведения в дальнейшем найдут применение при изучении механизмов фармакологического воздействия на биосинтез нуклеиновых кислот и белка на уровне как прокариот (антибиотикотерапия), так и эукариот (лечение онкологических заболеваний).

**2. Учебные цели:** закрепить представления о механизмах биосинтеза нуклеиновых кислот и белка, механизмах регуляции биосинтеза белка, молекулярных основах наследственной изменчивости, действии мутагенных факторов.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- репликацию ДНК;
- транскрипцию и процессинг РНК;
- свойства генетического кода. Кодон, антикодон;
- трансляцию, посттрансляционные изменения белков;
- регуляцию биосинтеза белка у про - и эукариот;
- наследственные болезни и биохимические механизмы их возникновения.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком схематичного представления этапов синтеза ДНК, РНК, белка;
- навыком схематичного представления регуляции биосинтеза белка на примере лак-оперона.



**Для формирования профессиональных компетенций студент должен уметь:**

- охарактеризовать уровни организации ДНК- и РНК-протеинов, строение рибосом, их биологическую роль;
  - объяснить термины: ген, репликон, транскриптон, кодон, антикодон, энхансер, сайленсер, индуктор, репрессор, мутация;
  - объяснить биологические закономерности хранения, передачи и реализации генетической информации;
  - схематически представить этапы синтеза ДНК, РНК и белка
- и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Структура и свойства нуклеиновых кислот.
- 2) Виды РНК, их структура и биологические свойства.
- 3) Этапы биосинтеза ДНК: инициация, элонгация, терминация.
- 4) Репарация ДНК. Ферменты репарации.
- 5) Теломерная ДНК, ее биологическое значение.
- 6) Этапы синтеза РНК: инициация, элонгация, терминация.
- 7) Процессинг информационной РНК у эукариот.
- 8) Этап активации аминокислот. Рекогниция, роль аминоацил-тРНКаз.
- 9) Свойства генетического кода.
- 10) Этап собственно трансляции (инициация, элонгация, терминация).
- 11) Регуляция биосинтеза белка у эукариот и прокариот на примере лак-оперона по теории Жакоба и Моно.
- 12) Особенности регуляции биосинтеза белка у эукариот. Регуляторные области ДНК: энхансеры и сайленсеры.
- 13) Мутации: виды, факторы, результат.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 3 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Образование РНК-затравки-праймера катализирует

- а) ДНК-лигаза
- б) хеликаза
- в) гиразы
- г) обратная транскриптаза
- д)  $\alpha$ -ДНК – полимеразы
- е)  $\beta$ -ДНК- полимеразы

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Фермент - функция

1. хеликаза
- а) сшивание фрагментов Оказаки

- |                               |                                   |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| 2. ДНК – полимеразы- $\alpha$ | б) расплетание ДНК                |
| 3. гираза                     | в) синтез РНК-затравки            |
| 4. ДНК – лигаза               | г) синтез ДНК митохондрий         |
| 5. ДНК – полимеразы- $\gamma$ | д) контроль суперспирализации ДНК |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Процессинг и-РНК включает

1. сплайсинг
2. кэпирование 5'-конца
3. удлинение 3'- и 5'-концов
4. укорочение 5'-конца
5. полиаденилирование 3'-конца

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Сплайсинг является необходимым этапом созревания ДНК, потому что в ходе этого процесса удаляются участки молекулы, не несущие информацию о структуре белка.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Матричные биосинтезы как механизмы передачи информации, понятие о генетическом коде.
- 2) Биосинтез ДНК (репликация): основные участники, этапы биосинтеза. Регуляция, биологическое значение.
- 3) Биосинтез РНК (транскрипция): этапы, участники процесса, регуляция транскрипции.
- 4) Общая схема биосинтеза белка. Процессы: активации, инициации, элонгации и терминации. Основные компоненты белоксинтезирующей системы.
- 5) Индукция и репрессия синтеза белка в организме человека: регуляция действия генов. Представления об оперонах, обеспечивающих репрессию синтеза белков.
- 6) Ингибиторы матричных биосинтезов: лекарственные препараты и бактериальные токсины. Лекарственные вещества как активаторы и ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков.

7.3. Разбор с преподавателем ситуационных задач.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

Представление и обсуждение реферативных сообщений.

Примерные темы реферативных сообщений:

1. Биосинтез рибонуклеиновых кислот и его регуляция.
2. Биосинтез белка и его регуляция.
3. Особенности синтеза белка в митохондриях.
4. Молекулярные механизмы действия антибиотиков-ингибиторов матричных синтезов.
5. Процессинг матричной РНК.
6. Генная инженерия. Примеры применения в медицине.
7. Проект «Геном человека». Достижения и проблемы.

8. Понятие о геномике, протеомике, метаболомике.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. В последнее время все большее число молодежи посещает солярии, аргументируя свои действия тем, что солнечный свет полезен для здоровья. Многие из них даже не догадываются, к каким последствиям может привести УФО при чрезмерном увлечении солнечными ваннами. Укажите, какие повреждения в ДНК фибробластов кожи может вызывать УФ-облучение и как они устраняются в норме. Для этого:

- а) напишите схему процесса, который обеспечивает восстановление нативной структуры ДНК;
- б) назовите заболевания, которые могут возникнуть у пациентов с недостаточностью ферментов этого процесса.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Особенности регуляции экспрессии генов у эукариот и прокариот.
2. Биосинтез белка и его регуляция.
3. Особенности синтеза белка в митохондриях.
4. Молекулярные механизмы действия антибиотиков-ингибиторов матричных синтезов.
5. Процессинг матричной РНК.
6. Генная инженерия. Метод рекомбинантной ДНК в производстве белковых препаратов и генной терапии.
7. Проект «Геном человека». Достижения и проблемы.
8. Понятие о геномике, протеомике, метаболомике.

**Задание на дом:** Обмен сложных белков: нуклеопротеинов и хромопротеинов.

### **Литература**

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 23

**1. Тема и ее актуальность:** «Обмен сложных белков: нуклеопротеинов и хромопротеинов».

Знание метаболизма пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов важно для понимания патогенеза заболеваний, связанных с нарушениями обмена пуринов и пиримидинов — подагры, мочекаменной болезни, синдрома Леша-Нихана и др. Знания по биохимии порфиринов и гема являются основой, необходимой для понимания различных функций гемопротеинов в организме (транспорт кислорода, транспорт электронов, метаболизм лекарственных соединений и т.д.).

**2. Учебные цели:** углубить и закрепить знания о структуре и биологической роли нуклео- и хромопротеинов, усвоить пути метаболизма простетической части этих сложных белков, объяснить патохимические механизмы нарушений обмена нуклеотидов и гема, определять концентрацию мочевой кислоты в сыворотке крови и интерпретировать полученные результаты.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- основные и дополнительные пути синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов;
- пути распада нуклеотидов и образование их конечных продуктов;
- структуру и функции гемоглобина;
- синтез и распад гемоглобина в тканях.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком количественного определения мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера- Зейферта;
- навыком количественного определения мочевой кислоты в моче.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен уметь:

- написать пути синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, пути распада нуклеотидов;
- интерпретировать данные лабораторного исследования показателей пуринового и порфиринового обмена;
- схематически представить глицино-янтарный цикл Шемина;
- назвать причины развития и проявления порфирий;
- представить реакции распада гемоглобина, представить химизм образования биливердина и билирубина

и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Переваривание нуклеопротеинов и нуклеиновых кислот в ЖКТ, ферменты, химизм, конечные продукты и их всасывание.
- 2) Пути использования в организме продуктов гидролиза нуклеиновых кислот экзо- и эндогенного происхождения.
- 3) Основной путь синтеза пиримидиновых нуклеотидов, химизм, ферменты.

- 4) Основной путь синтеза пуриновых нуклеотидов: начальные стадии биосинтеза (от рибозо-5-фосфата до 5-фосфорибозиламина). Инозиновая кислота и ее роль. Происхождение атомов пуринового ядра.
- 5) Дополнительные пути синтеза нуклеотидов.
- 6) Биосинтез дезоксирибонуклеотидов.
- 7) Распад пиримидиновых нуклеотидов, конечные продукты и их судьба.
- 8) Распад пуриновых нуклеотидов, конечные продукты их судьба.
- 9) Нарушение обмена пуринов: подагра, мочекаменная болезнь, гиперурикемия, ксантинурия.
- 10) Количественное определение мочевой кислоты в сыворотке крови: принцип метода, показатели нормы, диагностическое значение.
- 11) Переваривание и всасывание железосодержащих хромопротеинов. Особенности всасывания экзогенного железа.
- 12) Синтез железосодержащих хромопротеинов в тканях. Глицино-янтарный цикл Шемина.
- 13) Распад гемоглобина в тканях. Прямой и непрямой билирубин. Химизм образования прямого билирубина.
- 14) Нарушение пигментного обмена. Желтухи, механизм их возникновения, дифференциальная диагностика.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Нуклеотиды расщепляются ферментами

- а) нуклеазами
- б) нуклеозидазами
- в) пептидазами
- г) нуклеотидазами
- д) нуклеозидфосфорилазами

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Реакция – тип превращения

- |                |                     |
|----------------|---------------------|
| 1. УМФ → ЦМФ   | а) фосфорилирование |
| 2. дТМФ → дТДФ | б) метилирование    |
| 3. дУМФ → дТМФ | в) восстановление   |
| 4. ЦДФ → дЦДФ  | г) аминирование     |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Ксантиноксидаза катализирует реакции

1. окисления мочевой кислоты
2. окисления гипоксантина
3. гидролиза аллантаина
4. окисления ксантина

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Для лечения гиперурикемии применяют препарат аллопуринол, потому что аллопуринол является конкурентным ингибитором фермента ксантиноксидазы.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Тканевой распад нуклеопротеинов до аминокислот и мононуклеотидов.
- 2) Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов: основной и резервный пути.
- 3) Пути распада пиримидинового нуклеотида.
- 4) Синтез и распад пуриновых нуклеотидов.
- 5) Нарушения обмена пуриновых нуклеотидов: мочекаменная болезнь, подагра, синдром Леша-Нихана.
- 6) Синтез и распад гемоглобина.
- 7) Порфирии: причины развития и проявления.
- 8) Нарушение пигментного обмена. Желтухи, механизм их возникновения, дифференциальная диагностика.

7.3. Разбор с преподавателем метода количественного определения мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера-Зейферта; метода количественного определения мочевой кислоты в моче.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

### **Работа № 1. Количественное определение мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера-Зейферта.**

Определение мочевой кислоты в сыворотке крови производится с диагностической целью. При подагре, пневмонии, анемии, почечной недостаточности, лечение опухолей рентгенотерапией наблюдается повышение содержания мочевой кислоты. Снижение уровня мочевой кислоты возможно при акромегалии, применении дикумарола, кортизона, салицилатов и инъекций инсулина.

В норме содержание мочевой кислоты в сыворотке крови взрослых составляет у мужчин - 0,24 – 0,50 ммоль/л (4,0-8,5 мг/дл), у женщин – 0,16 – 0,40 ммоль/л (2,8-7,5 мг/дл).

*Принцип метода.* Мочевая кислота определяется в безбелковых фильтратах сыворотки крови по интенсивности синей окраски, развивающейся при восстановлении фосфорновольфрамового реактива.

*Ход работы.* В центрифужные пробирки вносят 1 мл сыворотки крови, добавляют 8 мл дистиллированной воды, 0,5 мл 0,35М серной кислоты, перемешивают. Затем добавляют 0,5 мл 10% раствора вольфрамата натрия, опять перемешивают и через 10 мин. Центрифугируют в течение 10 мин при 1500 об/мин. После осаждения белков сыворотки крови центрифугированием ставят опытную, стандартную и контрольную пробы.

Опытная проба: 3 мл надосадочной жидкости переносят в чистую пробирку.

Стандартная проба: 3 мл 0,03М стандартного раствора мочевой кислоты (1 мл содержит 0,006 ммоль мочевой кислоты) налить в чистую пробирку.

Контрольная проба: В чистую пробирку прилить 3 мл дистиллированной воды.

Во все три пробирки добавляют 1,5 мл 10,3% раствора карбоната натрия, 1 мл фосфорновольфрамового реактива, тщательно перемешивают и через 30 мин опытную и стандартную пробы фотометрируют при длине волны 590-700 нм (красный светофильтр) в кювете длиной оптического пути 1 см против контрольной пробы.

Расчет: концентрацию мочевой кислоты рассчитывают по формуле:

$$C = E_{\text{опыт.}} / E_{\text{станд.}} \times E_{\text{станд.}} \times 10, \text{ где}$$

C – концентрация мочевой кислоты, ммоль/л;

$E_{\text{опыт.}}$  – экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{станд.}}$  – экстинкция стандартной пробы;

$C_{\text{станд.}}$  – концентрация стандартного раствора мочевой кислоты, 0,03 ммоль/л;

10 – коэффициент пересчета на объем сыворотки крови.

## **Работа № 2. Количественное определение мочевой кислоты в моче.**

В норме у человека с мочой выделяется 3,54-4,76 ммоль/сут (600-800 мг/сут) мочевой кислоты. У мужчин несколько больше, чем у женщин. Увеличение выведения солей мочевой кислоты наблюдается при подагре, мочекишом диатезе, некоторых гематологических заболеваниях, интенсивном лечении опухолей, питании пищей, богатой пуринами.

*Принцип метода.* Метод основан на способности мочевой кислоты фосфорновольфрамовую кислоту в фосфорновольфрамовую синюю, интенсивность окраски которой пропорциональна содержанию мочевой кислоты. Количество фосфорновольфрамовой кислоты определяется путем титрования красной кровяной солью.

*Ход работы.* В колбочку (стаканчик) поместить 1,5 мл мочи, прибавить 1 мл 20% раствора  $\text{NaCO}_3$  и 1 мл фосфорновольфрамового реактива Фолина, перемешивать, отметить появление синего окрашивания. Содержимое титровать 0,01 N раствором красной кровяной соли ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) до исчезновения окрашивания.

При расчете учесть, что 1 мл красной кровяной соли используется на окисление 0,8 мг мочевой кислоты.

Расчет:  $X = K \times A \times B / 1,5$ , где

X- содержание мочевой кислоты, мг/сут;

K – коэффициент пересчета (1мл 0,01N раствора ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) соответствует 0,8 мг мочевой кислоты);

A – количество красной кровяной соли, пошедшее на титрование, мл;

B- суточный диурез, мл.

### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

#### Решение типовой задачи.



Задача. У новорожденного через 3 дня после рождения появилась желтуха. Общий билирубин крови в крови — 30 мкмоль/л, непрямой — 27 мкмоль/л. Через 2 недели желтуха исчезла. Назовите вид желтухи?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Пуриновый обмен в норме и патологии.
2. Пиримидиновый обмен в норме и патологии.
3. Пиримидиновые производные как лекарственные препараты.
4. Патогенез и принципы лечения подагры.

**Задание на дом:** Интеграция обмена веществ и его регуляция. Болезни обмена веществ.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 24

**1. Тема и ее актуальность:** «Интеграция обмена веществ и его регуляция. Болезни обмена веществ».

Взаимосвязь процессов обмена углеводов, липидов, белков проявляется в наличии единых промежуточных продуктов обмена и общих путей превращений, а также во взаимопревращениях углеводов, липидов и белков, которые могут образовываться в результате процессов, имеющих сходное энергетическое обеспечение, из общих предшественников и промежуточных продуктов. Общим конечным путем для всех систем метаболизма являются цикл лимонной кислоты и реакции дыхательной цепи. Эти протекающие в митохондриях процессы используются для координации целого ряда метаболических реакций на различных уровнях. Взаимосвязь между процессами углеводного и белкового обмена достигается посредством промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот. Существует несколько путей, по которым промежуточные продукты цикла лимонной кислоты включаются в процесс липогенеза.

Сахарный диабет – это хроническое расстройство всех видов метаболизма, которое характеризуется: гипергликемией, глюкозурией, кетонурией и кетонемией, гиперхолестеринемией, развитием осложнений, в основе которых лежат ангиопатии, нейропатией, нефропатией, энцефалопатией и др. Знание интеграции обмена веществ необходимо для объяснения важнейших биохимических и физиологических процессов, происходящих в организме человека, как в норме, так и при патологии.

**2. Учебные цели:** изучить узловые пункты взаимосвязи обмена углеводов, липидов и аминокислот, основные принципы интегрированной регуляции обмена веществ, биохимические изменения при сахарном диабете.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- общие промежуточные продукты обмена углеводов, липидов, аминокислот и нуклеотидов, как пунктов взаимосвязи и переключения их метаболизма;
- пути использования аминокислот и глицерина для биосинтеза глюкозы и гликогена, аминокислот и глюкозы для образования липидов, глицерина и глюкозы для синтеза заменимых аминокислот;
- ключевые ферменты регуляции процессов гликолиза, глюконеогенеза, гексозомонофосфатного окисления глюкозы и  $\beta$ -окисления жирных кислот.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком схематичного представления взаимосвязи обмена углеводов, липидов и белков;
- навыком представления характер, причины и последствия изменений углеводного, липидного и белкового обменов при сахарном диабете.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- используя схемы метаболических путей, объяснить пути переключения обмена углеводов, липидов и аминокислот;

- применяя знания о магистральных путях превращения белков, углеводов и липидов и их взаимосвязи, объяснить молекулярные механизмы нарушений метаболизма при сахарном диабете

и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

### 3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Пути метаболизма глюкозы в тканях.
- 2) Общие пути метаболизма аминокислот.
- 3) Перечислите кетогенные аминокислоты.
- 4) Какие аминокислоты могут синтезироваться переаминированием и реаминированием из метаболитов углеводного обмена и цикла Кребса?
- 5) Какие коферменты восстанавливаются при  $\beta$ -окислении жирных кислот, какие коферменты необходимы для биосинтеза жирных кислот из ацетил-КоА?
- 6) Перечислите аминокислоты, непосредственно связанные путем переаминирования с метаболитами обмена глюкозы и цикла трикарбоновых
- 7) Роль цикла трикарбоновых кислот в реакциях взаимного переключения и связи обмена углеводов, глицерина, жирных кислот и аминокислот.
- 8) Какова роль процессов переаминирования в процессах превращений аминокислот в углеводы и липиды, и наоборот?
- 9) Какова роль триозофосфатов во взаимосвязи метаболизма триглицеридов, глицерофосфата, глюкозы и некоторых аминокислот.
- 10) Уровни регуляции обмена веществ: клеточный, нейрогуморальный, генетический.
- 11) Действие на обмен веществ инсулина, глюкагона, адреналина, глюкокортикоидов, йодтиронинов.
- 12) Каковы изменения углеводного обмена при сахарном диабете первого типа?
- 13) Почему развивается глюкоземия и глюкозурия при инсулинзависимом сахарном диабете?
- 14) Какие изменения липидного обмена происходят при сахарном диабете? Какие биохимические показатели крови и мочи характеризуют мобилизацию жира при сахарном диабете? Причины и последствия развития кетонемии.
- 15) Как проявляются нарушения обмена белка и аминокислот при сахарном диабете.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Повышение концентрации глюкозы в крови стимулирует

а) активность *n. sympatheticus*

- б) секрецию катехоламинов
- в) секрецию глюкагона
- г) секрецию инсулина

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Гормон – эффект

- 1. инсулин
- 2. глюкагон
- 3. кортизол
- а) активировывает гликогенсинтетазу
- б) индуцирует синтез ферментов глюконеогенеза
- в) активировывает фосфоорилазу
- г) активировывает триацилглицероллипазу
- д) активировывает ФЕП-карбоксихиназу
- е) ускоряет транспорт глюкозы в жировые клетки

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К гипергликемическим гормонам относятся

- 1. инсулин
- 2. глюкагон
- 3. кортизол
- 4. адреналин

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

При снижении пентозофосфатного окисления глюкозы в печени нарушается биосинтез жирных кислот, потому что в митохондриях недостаточно образуется восстановленный НАДФН.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Пути использования глюкозы в тканях.
- 2) Общие пути метаболизма аминокислот.
- 3) Взаимосвязь обмена аминокислот и цикла Кребса.
- 4) Роль цикла трикарбоновых кислот в реакциях взаимного переключения и связи обмена углеводов, глицерина, жирных кислот и аминокислот
- 5) Уровни регуляции обмена веществ: клеточный, нейрогуморальный, генетический.
- 6) Влияние на обмен веществ инсулина, глюкагона, адреналина, глюкокортикоидов, йодтиронинов.
- 7) Сахарный диабет: виды, изменения обмена углеводов, белков и липидов.
- 8) Клиническая лабораторная диагностика сахарного диабета.
- 9) Методы лечения сахарного диабета.
- 10) Отдаленные осложнения сахарного диабета.

7.3. Разбор с преподавателем ситуационных задач.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

Представление и обсуждение реферативных сообщений.

Примерные темы реферативных сообщений:

- 1. Поддержание и нарушения гомеостаза глюкозы в организме.

2. Сравнительная характеристика методов определения глюкозы крови.
3. Пробы с сахарной нагрузкой: методика проведения, типы гликемических кривых, диагностическое значение.
4. Дифференциальная диагностика коматозных состояний при сахарном диабете. Значение лабораторных тестов.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. Больной обследуется на скрытую форму сахарного диабета. У него провели тест на толерантность к глюкозе и определили в крови гликозилированный гемоглобин.

1. Что даёт определение гликозилированного гемоглобина?
2. Изобразите «сахарную кривую», характерную для данного случая.
3. Объясните, какие изменения в характере «сахарной кривой» дали возможность поставить диагноз?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Поддержание и нарушения гомеостаза глюкозы в организме.
2. Сравнительная характеристика методов определения глюкозы крови.
3. Пробы с сахарной нагрузкой: методика проведения, типы гликемических кривых, диагностическое значение.
4. Дифференциальная диагностика коматозных состояний при сахарном диабете. Значение лабораторных тестов.

**Задание на дом:** Контрольное занятие по модулю «Обмен и функции белков, аминокислот и нуклеиновых кислот. Взаимосвязь и регуляция обмена веществ».

## Л Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.

- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 25

**1. Тема и ее актуальность:** Контрольное занятие по модулю «Обмен и функции белков, аминокислот и нуклеиновых кислот. Взаимосвязь и регуляция обмена веществ»

**2. Учебные цели:** закрепить знания основных путей обмена аминокислот, тканевого синтеза и распада нуклеиновых кислот и белков, обмена нуклео- и хромопротеинов, взаимосвязи всех метаболических путей между собой и выявить степень усвоения студентами изучаемого материала.

**Формируемые компетенции:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

1. Биологическая роль белков. Нормы белка в питании. Белковый минимум питания. Азотистый баланс.

2. Переваривание белков. Ферменты переваривания. Продукты переваривания, структура и дальнейшая судьба последних.

3. Представление о механизме активации протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта.

4. Назовите протеолитические ферменты поджелудочной железы и кишечного сока, напишите химизм ферментативного расщепления карбокси- и аминопептидазой выбранного вами пентапептида.

5. Особенности всасывания и транспорта аминокислот.

6. Понятие о гниении белков в кишечнике. Напишите химизм образования ядовитых продуктов и обезвреживания их в печени с помощью ФАФС и УДФГ.

7. Роль моноамино- и диаминооксидаз, а также процессов ацетилирования в механизме обезвреживания токсинов. Продукты обезвреживания, их структура.

8. Клеточный метаболический пул аминокислот. Пути образования и использования аминокислот в тканях. Интенсивность процессов обновления белков в тканях.

9. Тканевой распад белков. Роль лизосомальных ферментов в этих процессах.

10. Переаминирование аминокислот. Ферменты переаминирования. Механизм реакции. Биологическое значение переаминирования и определения трансаминаз в сыворотке крови при инфаркте миокарда, ревматизме, болезнях печени.

11. Тканевые превращения аминокислот. Деаминирование аминокислот (прямое и не прямое). Роль  $\alpha$ -кетоглутаровой и глутаминовой кислот в деаминировании и переаминировании аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.

12. Декарбоксилирование аминокислот. Ферменты декарбоксилирования, характер протетической группы. Образование биогенных аминов. Влияние на метаболизм и физиологические функции. Роль аминоксидаз.

13. Особенности обмена фенилаланина и тирозина. Биологическая роль. Врожденные нарушения обмена, ферментные блоки. Фенилкетонурия, фенилпировиноградная олигофрения, альбинизм, алкаптонурия.



14. Особенности обмена серосодержащих аминокислот. S-аденозилметионин и его роль в процессах метилирования. Глутатион: структура, биологическая роль.
15. Особенности обмена глицина и аргинина. Их роль в образовании креатина и креатинфосфата.
16. Обмен дикарбоновых аминокислот. Участие в обезвреживании аммиака.
17. Пути обезвреживания аммиака в тканях: синтез глутамина, восстановительное аминирование аминокислот. Глутаминаза почек. Образование и выведение солей аммония в почках, физиологическая роль этих процессов.
18. Биосинтез мочевины как основной путь обезвреживания аммиака. Объясните механизм включения двух атомов азота в молекулу мочевины. Энергетическая обеспеченность процесса. Количественное определение мочевины по Рашковану.
19. Структура и биосинтез ДНК. Современные представления о репликации ДНК. Инициация репликации – образование репликативной вилки.
20. Особенности ДНК – полимераз и их участие в процессе репликации. Элонгация и терминация репликации ДНК. Понятие о теломерах и роль теломеразы.
21. Структура и биосинтез РНК. Характеристика РНК-полимераз и этапов транскрипции: инициации, элонгации, терминации, процессинга РНК.
22. Генетический код и его свойства. Концепция: один ген - один белок, цистрон - одна полипептидная цепь. Особенности строения информационной РНК.
23. Особенности строения транспортных РНК. Адапторная функция тРНК. Взаимодействия аминокислота – тРНК, кодон-антикодон. Строение и роль рибосом в синтезе белка.
24. Биосинтез белка. Этапы матричного синтеза белка: рекогниция, инициация и иницирующий комплекс, элонгация и транслокация, терминация.
25. Посттрансляционные изменения белка, понятия о фолдинге, прионовых болезнях.
26. Регуляция действия генов и биосинтез белка. Схема Жакоба и Моно. Биохимические механизмы клеточной дифференцировки и онтогенеза.
27. Биохимические основы биологической эволюции, наследственности и изменчивости. Особенности регуляции генов у эукариотов, характеристика процессов индукции и репрессии, энхансеры, сайленсеры.
28. Молекулярные механизмы мутации и их последствия. Мутагенные агенты. Система биохимического контроля структуры ДНК.
29. Обмен нуклеопротеидов. Переваривание и всасывание нуклеотидов. Ферменты переваривания. Конечные продукты переваривания.
30. Представьте схему путей синтеза пуриновых нуклеотидов. Разъясните участие витаминов, аминокислот и CO<sub>2</sub> в данном процессе.
31. Пути тканевого синтеза пиримидиновых нуклеотидов.

32. Распад ДНК и РНК в желудочно-кишечном тракте, ферменты распада. Тканевой распад ДНК и РНК, химизм и ферменты деградации.

33. Особенности и химизм тканевого распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Конечные продукты.

34. Нарушение обмена пуриновых оснований. Подагра, ее симптоматика.

35. Взаимосвязь обмена углеводов, липидов, аминокислот и нуклеотидов. Изменения обмена веществ при сахарном диабете.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** компьютеры, плакаты, таблицы, ситуационные задачи.

**7. Содержание занятия:**

В начале занятия студенты проходят тестирование на компьютере. Каждому студенту будет предложено ответить на 12 тестовых заданий. Условием допуска до устного собеседования является выполнение не менее 70 % тестов (8 заданий). При собеседовании студент должен ответить (устно) на контрольные вопросы из раздела: «Обмен и функции белков аминокислот и нуклеиновых кислот. Взаимосвязь и регуляция обмена веществ». Помимо знаний теории при собеседовании будет обращать внимание на знание принципа методов работ, выполненных на практических занятиях, умение интерпретировать полученные результаты анализов.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

**Задание на дом:** Белки плазмы крови. Общее содержание, характеристика и биологическая роль отдельных плазменных белков.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..

2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.

4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В.

Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020

5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020

6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.

[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)

7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>

8. <http://www.xumuk.ru/>

9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов

Хайбуллина З.Г.

Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 26

**1. Тема и ее актуальность:** «Белки плазмы крови. Общее содержание, характеристика и биологическая роль отдельных плазменных белков».

Белки присутствуют во всех жидкостях организма, количественный и качественный состав их в крови отражает состояние белкового обмена в целом и белки плазмы наиболее широко используются для диагностических целей. Изменения концентрации индивидуальных белков (в плазме присутствуют более 200 белков) имеют место при многих физиологических и патологических состояниях. Практически все физиологические и патофизиологические реакции в организме происходят при непосредственном участии белков крови.

**2. Учебные цели:** закрепить знания по физико-химическим свойствам и составу крови, характера и биологической роли белков плазмы, фракционного состава белков сыворотки крови, некоторых индивидуальных представителей; научить студентов методу количественного определения альбумина и анализировать полученные данные.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- клеточный состав крови, отличия плазмы и сыворотки крови;
- главные функции крови, как части внутренней среды организма;
- общее содержание белка в плазме крови и клинко-диагностическое значение его изменения;
- процентное содержание отдельных фракций при электрофоретическом разделении белков сыворотки крови;
- понятие о острофазовых белках;
- альбумин, содержание и биологические функции;
- белки - специфические транспортеры;
- липопротеины крови и способы их фракционирования, характеристика отдельных фракций;
- ферменты плазмы крови конститутивные и органоспецифичные.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком количественного определения альбумина в сыворотке крови.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- проводить количественное определение содержания альбумина в крови и дать клинко-диагностическую оценку значения альбумина плазмы крови;
- интерпретировать значения изменений протеинограммы при электрофорезе сыворотки крови;
- характеризовать изменения белков острой фазы и активности органоспецифических ферментов

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Общий объем крови и его зависимость от массы тела.

- 2) Отличия плазмы и сыворотки крови.
- 3) Гематокрит и клиническое значение его определения.
- 4) Важнейшие функции крови как части внутренней среды организма.
- 5) Общее содержание белка крови, клинико-диагностическое значение его определения. Гипопротеинемия. Гиперпротеинемия.
- 6) Разделение белков сыворотки крови методом высаливания.
- 7) Разделение белков сыворотки крови методом электрофореза на целлюлозе. Протеинограмма крови и диагностическое значение исследования протеинограммы.
- 8) Альбумин, особенности строения и функциональная роль альбумина.
- 9) Специфические транспортные белки: церулоплазмин, трансферрин, ретинолсвязывающий белок, транскортин.
- 10) Липопротеины. Общая характеристика строения. Методы разделения. Характеристика отдельных фракции: хиломикронов, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП. Диагностическое значение определения липопротеинов.
- 11) Понятие о каскадных протеолитических системах крови: гемостаза, фибринолиза, комплемента, ренин-ангиотензиновой системе, калликреин – кининовой системе.
- 12) Антипротеиназы плазмы крови:  $\alpha_1$ -антитрипсин,  $\alpha_2$ -макроглобулин,  $\alpha_1$ -антихимотрипсин.
- 13) Белки острой фазы. Их общие функции.
- 14) Ферменты плазмы крови: конститутивные и тканевоспецифичные (секреторные).
- 15) Иммуноглобулины. Основные классы. Структура, содержание.
- 16) Небелковые компоненты плазмы крови.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Содержание альбуминов в сыворотке крови составляет

- а) 20-40 г/л
- б) 60-90 г/л
- в) 35-50 г/л
- г) 100-150 г/л
- д) 40-60 г/л

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Нормальное содержание белка в сыворотке крови колеблется в пределах .....

- |              |                       |
|--------------|-----------------------|
| 1. 60-80 г/л | а) новорожденного     |
| 2. 47-65г/л  | б) ребенка 1 года     |
| 3. 65-85г/л  | в) взрослого человека |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К белкам острой фазы относятся

1. гаптоглобин
2. фибриноген
3. С-реактивный блок
4.  $\alpha_1$  –антитрипсин
5. альбумин

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Альбумин участвует в поддержании осмотического давления крови, потому что составляет более половины всех белков плазмы крови.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

1) Клеточный состав крови. Плазма и сыворотка крови. Общий объем крови. Гематокрит и клиническое значение его определения.

2) Функции крови.

3) Физико-химические свойства крови. Удельный вес, осмотическое давление и рН крови.

4) Химический состав крови. Органические и неорганические компоненты.

5) Общее содержание белка крови. Отклонения от нормы: гипопроотеинемия, гиперпротеинемия.

6) Методы разделения белков сыворотки крови: высаливание, электрофорез.

Протеинограмма крови и ее значение в диагностике заболеваний.

7) Строение и функции альбумина.

8) Липопротеины. Строение и функциональная роль. Характеристика фракций. Клинико-диагностическое значение определения липопротеинов.

9) Гликопротеины крови: характеристика и биологическая роль.

10) Белки острой фазы. Значение.

11) Специфические транспортные белки: церулоплазмин, трансферрин, ретинолсвязывающий белок, транскортин.

12) Ферменты плазмы крови. «Собственные» и тканеспецифичные. Диагностическая значимость определения тканеспецифичных ферментов крови.

13) Небелковые вещества плазмы крови.

14) Биохимический анализ крови, значение.

7.3. Разбор с преподавателем метода количественного определения альбумина в сыворотке крови.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа №1. Количественное определение альбумина в сыворотке крови.**

*Принцип метода.* При взаимодействии альбумина с красителем бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде образуется комплекс зеленого цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации альбумина в пробе.

*Состав набора.*

Реагент (Р) – раствор бромкрезолового зеленого в сукцинатном буфере, готовый к использованию.

Калибратор – калибровочный раствор альбумина, 40 г/л, готовый к использованию.

*Пробы для анализа.* Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА – плазма крови.

*Ход работы.* Добавить в две пробирки реагенты согласно таблице:

Отмерить, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба
Калибратор	-	10
Проба (сыворотка, плазма)	10	-
Реагент	1000	1000

Перемешать, выдержать несколько минут, измерить оптическую плотность опытной (А) и калибровочной (К) проб против реагента.

| Измерить в кюветах с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 628(578-640) нм. Окраска стабильна в течение 2-х часов.

Расчет. Концентрация альбумина в пробе (С) в г/л рассчитать по формуле:

$$C = \frac{A}{K} * 40$$

Норма содержания альбумина сыворотки крови: 37-53г/л

*Клинико - диагностическое значение.* Основные функции альбумина: связывание и транспорт некоторых катионов, малых и больших анионов, жирных кислот, витамина С, лекарств, ксенобиотиков; поддержание постоянства коллоидно-осмотического (онкотического) давления и обеспечение клеток аминокислотами. Время полужизни 15-20 дней. *Гипоальбуминемия* наблюдается при: а) снижении его синтеза в печени (цирроз печени, недоедание (кахексия), синдром мальабсорбции); б) повышении катаболизма (травма, инфекция, сепсис, лихорадка, гипоксия, синдром Кушинга, гипертиреоз, гиперкортицизм, злокачественные опухоли); в) аномальных потерях (шок, кровотечение, энтероколиты, нефротический синдром); г) патологическом распределении (после оперативных вмешательств, при ожогах, токсикозе, асците, плеврите).

*Гиперальбуминемия* наблюдается при остром обезвоживании, при приеме анаболических стероидов.

## 7.5. Контроль освоения темы занятия.

### Решение типовой задачи.

Задача. Ряд тяжелых заболеваний почек сопровождаются отеками, обусловленными альбуминурией. Почему при альбуминурии развиваются отеки?

### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Иммуноглобулины – антитела. Особенности образования комплекса антиген-антитело.
2. Интерфероны: структура и механизм действия.
3. Миокардиальные маркеры: традиционные и современные диагностические тест-программы, диагностическая специфичность.

**Задание на дом:** Свертывающая и противосвертывающая система крови. Система фибринолиза.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base



of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 27

**1. Тема и ее актуальность:** «Свертывающая и противосвертывающая система крови. Система фибринолиза».

Расстройства гемостаза в общей патологии человека играют значительную роль. Она определяется частотой, разнообразием и потенциально очень высокой опасностью геморрагических и тромбогеморрагических синдромов и заболеваний. Они сопутствуют травмам, инфекциям, осложняют хирургические вмешательства, лекарственную и трансфузионную терапию, ограничивают использование инвазивных методов исследования и лечения, часто усугубляют течение и исход основного заболевания. Повышенный риск тромбообразования имеет место у 30% госпитализированных в многопрофильные клиники больных. Так, фатальная тромбоэмболия легочной артерии нередко является первым и единственным проявлением венозного тромбоэмболизма и занимает третье в общей структуре внезапной смерти.

**2. Учебные цели:** овладеть знаниями по тромбоцитарным, плазменным и сосудисто-эндотелиальным факторам свертывания крови, каскадным механизмам сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного этапов свертывания крови, антикоагулянтам и системе фибринолиза; овладеть методом определения содержания фибриногена, времени рекальцификации плазмы крови.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- что определяет понятие «гемостаз»;
- основные функции эндотелия сосудов в системе гемостаза;
- основные функции тромбоцитов в системе гемостаза;
- характеристику и свойства плазменных факторов свертывания крови;
- фазы развития вторичного (коагуляционного) гемостаза;
- основные антикоагулянты;
- функции фибринолитической системы и ее активацию.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения содержания фибриногена плазмы по Рутбергу гравиметрическим методом;
- навыком определения времени рекальцификации плазмы.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- определять содержание фибриногена в плазме крови и оценить значение полученных данных;
- определять время рекальцификации плазмы крови и оценить его клинико-диагностическое значение;
- охарактеризовать основные факторы свертывания крови тромбоцитов, эндотелиоцитов и плазмы крови;
- схематически представлять основные этапы сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного (плазменного) звена гемостаза;

- объяснить биохимические механизмы действия основных естественных антикоагулянтов;
- охарактеризовать систему фибринолиза и механизмы активации плазминогена

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Что определяет понятие «гемостаз», и какие свойства крови обеспечивает система гемостаза?
- 2) Функции эндотелицитов в системе гемостаза.
- 3) Основные функции тромбоцитов в системе гемостаза.
- 4) Основные тромбоцитарные факторы свертывания крови.
- 5) Плазменные факторы свертывания крови, краткая характеристика их структуры и свойств.
- 6) Витамин К-зависимые факторы свертывания крови, роль витамина К в посттрансляционной модификации этих факторов.
- 7) Этапы развития сосудисто-тромбоцитарного (первичного) гемостаза от нарушения целостности сосудистой стенки до образования тромбоцитарной пробки.
- 8) Вторичный (плазменный, коагуляционный) гемостаз. Внешний и внутренний пути первой фазы. Вторая и третья фаза.
- 9) Реакция образования фибрина – полимера из фибрина-мономера, ретракция кровяного сгустка.
- 10) Основные плазменные, тромбоцитарные и эндотелиальные антикоагулянты.
- 11) Химическая природа, содержание в крови и механизм действия гепарина. Антитромбин III.
- 12) Противосвертывающее действие протеинов С и S, эндогенных ингибиторов плазмина: антиплазмина,  $\alpha_1$ -антитрипсина,  $\alpha_2$ -макроглобулина.
- 13) Основная функция фибринолитической системы.
- 14) Структура, функции и место выработки плазминогена.
- 15) Основные факторы активации плазминогена и ингибирования плазмина.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Гидролиз фибринового тромба катализирует:

- а) тромбомодулин
- б) тромбин
- в) плазмин

- г) плазминоген
- д) гепарин

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Факторы – представитель

- 1. факторы фибринолиза
- 2. факторы антикоагулянтные
  - а)  $\alpha_1$ -антитрипсин
  - б) антитромбин III
  - в) белок С
  - г) урокиназа
  - д) гепарин

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Механизмы регуляции гемостаза обеспечиваются взаимной резистентностью следующих трех компонентов:

- 1. эндотелиоциты сосудистой стенки
- 2. эритроциты
- 3. тромбоциты
- 4. лейкоциты
- 5. свертывающие белки плазмы крови
- 6. макрофаги

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Фактор ф II (протромбин) действует лишь в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , потому что его посттрансляционная модификация в гепатоците осуществляется с участием витамина К.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Определение понятия «гемостаз». Строение и функции системы гемостаза.
- 2) Функции клеток эндотелия сосудов и тромбоцитов в системе гемостаза.
- 3) Тромбоцитарные и плазменные факторы коагуляции крови.
- 4) Этапы первичного и вторичного гемостаза.
- 5) Плазменные и тромбоцитарные антикоагулянты.
- 6) Механизм действия протеина С, протеина S, эндогенных ингибиторов протеолитических ферментов – антитромбина III,  $\alpha_1$ -антитрипсина,  $\alpha_2$ -макроглобулина.
- 7) Система фибринолиза. Плазминоген: структура, функции, схема активации.

7.3. Разбор с преподавателем гравиметрического метода определения содержания фибриногена плазмы по Рутбергу, определения времени рекальцификации плазмы.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

**Работа 1. Гравиметрический метод определения содержания фибриногена плазмы по Рутбергу.**

*Принцип метода.* Свертывание фибриногена плазмы производят хлоридом кальция. Образовавшийся сгусток фибрина высушивают и взвешивают.

*Реактивы:* 1. 5% раствор хлорида кальция.

2. Цитратная стабилизированная плазма крови.

*Оборудования:* 1. Торсионные весы.

2. Беззольные фильтры.

3. Стеклопалочки.

4. Пробирки, пипетки.

*Ход определения.* К 1 мл стабилизированной цитратной плазмы в пробирке добавляют 0,1 мл 5% раствора хлорида кальция. Смесь перемешивают и образовавшийся фибриновый сгусток извлекают из пробирки при помощи стеклянной палочки. Используя беззольный фильтр, удаляют из сгустка остатки сыворотки, тщательной отжимая сгусток. Добившись полного высушивания сгустка, его взвешивают на уравновешанных торсионных весах с точностью до 1 мг. Время свертывания плазмы при комнатной температуре в среднем около 11-12 минут.

*Расчет результата.* Для определения концентрации фибриногена в г/л полученный вес сгустка в мг умножают на 0,222 (учет разведение плазмы раствором цитрата натрия).

*Нормальные величины.* У здоровых людей концентрация фибриногена колеблется от 2 до 4г/л.

*Клиническое значение.* Уменьшение концентрации фибриногена отмечается при его врожденной недостаточности (афибриногенемии, дисфибриногенемии, гипофибриногенемии), тяжелых заболеваниях печени, ДВС-синдроме, остром фибринолизе.

Увеличение концентрации фибриногена отмечается при инфекционных заболеваниях, острых и хронических воспалительных процессах, раке, тромбозах, тромбоэмболиях, после травм, родов, операций.

## **Работа 2. Определение времени рекальцификации плазмы.**

*Принцип метода.* Определяют время свертывания плазмы при добавлении к ней оптимального количества хлорида кальция.

*Реактивы:* 1. 0,025М (0,277%) раствор хлорида кальция.

2. 0,85% раствора хлорида натрия (физиологический раствор)

3. Цитратная стабилизированная плазма крови.

*Оборудования:* 1. Водяная баня на 37° С

2. Секундомер.

3. Пробирки, пипетки.

*Ход определения.* В 2 пробирки (параллельные пробы), установленные в водяной бане при 37° С наливают по 0,2 мл 0,277% раствора хлористого кальция и 0,1 мл 0,85% раствора хлорида натрия. Затем в пробирки вносят по 0,1 мл плазмы и немедленно включают секундомер. Слегка покачивая пробирки, отмечают время образования сгустка и останавливают секундомер.

*Нормальные величины.* 60-120 секунд.

*Клиническое значение.* Данный тест является общеоценочным и характеризует процесс свертывания крови в целом. Однако в связи с тем, что время образования протромбиназного комплекса (1-я фаза свертывания) занимает около 90% времени всего процесса, то этот тест в большей степени характеризует именно эту фазу.

Удлинение времени рекальцификации (гипокоагуляция) связано с недостаточностью факторов протромбиназного комплекса, реже – других плазминных факторов (за исключением фVII и фXII), а также наличием в крови антикоагулянтов прямого действия, дефицитом фактора P<sub>3</sub> тромбоцитов.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. Гепарин в крови в свободном виде практически не существует, а в силу своих структурных особенностей взаимодействует с белками крови, аминами, пептидами, аминокислотами. Какую роль в организме играют комплексные соединения гепарина, возникающие в крови при активации функции противосвертывающей системы.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Биохимические основы адгезии и агрегации тромбоцитов.
2. Молекулярные механизмы противосвертывающего действия аспирина.
3. Система гепарин – антитромбины, их физиологическая роль.
4. Система фибринолиза. Механизмы регуляции фибринолиза.

**Задание на дом:** Биохимия эритроцитов. Обмен хромопротеинов. Дыхательная функция крови.

## Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.

- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 28

**1. Тема и ее актуальность:** «Биохимия эритроцитов. Обмен хромопротеинов. Дыхательная функция крови».

Одной из важнейших функций крови является дыхательная, или транспорт кислорода из легких в другие органы и ткани и транспорт диоксида углерода из тканей в легкие. С дыхательной функцией крови связана обеспечение кислородом тканей, поддержание кислотно-щелочного равновесия и рН крови. Нарушения дыхательной функции крови связаны с развитием анемии, в связи со снижением содержания эритроцитов и гемоглобина, изменением структуры гемоглобина, образованием значительных количеств карбоксигемоглобина или метгемоглобина. Нарушения дыхательной функции крови являются причиной тяжелых поражений жизненно важных органов и систем организма. Обмен гемоглобина тесно связан с пигментным обменом, желтухами.

**2. Учебные цели:** овладеть знаниями по особенностям метаболизма эритроцитов, структуре и метаболизму гемоглобина, механизмам транспорта газов кровью и поддержания рН; овладеть методом количественного определения содержания в крови гемоглобина, билирубина и щелочного резерва крови.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- гистологическое строение и время жизни эритроцита;
- биохимические процессы, которые не могут протекать в эритроците: матричные синтезы (ДНК, РНК, белка), окислительное фосфорилирование, окисление жирных кислот, кетокислот, аминокислот, кетоновых тел;
- особенность течения гликолиза в эритроците с образованием 2,3-дифосфоглицериновой кислоты;
- апотомическое окисление глюкозы, как основного источника восстановленного НАДФН;
- структуру гема и гемоглобина;
- производные гемоглобина и нормальные формы гемоглобина;
- влияние концентрации  $O_2$ ,  $CO_2$ , рН среды и температуры на оксигенацию гемоглобина, кооперативный эффект образования лиганда с  $O_2$ ;
- молекулярные механизмы обмена  $O_2$  и  $CO_2$  в легких и тканях;
- суточную потребность, особенности всасывания, транспорта и депонирования железа;
- глицино-янтарный цикл синтеза порфирина Шемина, особенности включения железа в гем и гема в гемоглобин;
- распад гемоглобина и образование пигментов крови, кала и мочи;
- буферные системы крови, виды ацидоза и алкалоза.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения содержания гемоглобина в крови;
- навыком определения содержания общего и конъюгированного билирубина в сыворотке крови методом Йендрашека-Графа;



-навыком определения щелочного резерва крови.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- проводить количественное определение гемоглобина в крови и интерпретировать его результаты;
- проводить количественное определение в сыворотке крови общего билирубина, его фракций и дать клинико-диагностическую оценку значения этого теста;
- определять щелочной резерв крови и оценить полученные данные;
- характеризовать производные и формы гемоглобина, молекулярные механизмы транспорта газов кровью;
- интерпретировать результаты биохимического анализа содержания желчных пигментов в крови, моче и кале для определения вида желтухи

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Гистологическое строение и время жизни эритроцита.
- 2) Особенности углеводного и энергетического обмена эритроцита.
- 3) Структура и функция гемоглобина. Полная структура гема.
- 4) Производные гемоглобина и нормальные формы гемоглобина.
- 5) Понятие «гемоглобинопатия». Примеры гемоглобинопатий.
- 6) Влияние концентрации  $O_2$ ,  $CO_2$ , pH среды и температуры на оксигенацию гемоглобина.
- 7) «Кооперативный эффект» в функционировании гемоглобина.
- 8) Транспорта и обмена  $O_2$  и  $CO_2$  в тканях и легких.
- 9) Синтез и распад гемоглобина.
- 10) Гипоксия и ее формы.
- 11) Буферные системы крови. Понятия «алкалоз, ацидоз» и их виды.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Небелковый компонент гемоглобина представлен

- а) глюкозой
- б) ионом металла
- в) гемом
- г) липидом
- д) ДНК

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Желчный пигмент - характеристика

1. билирубин свободный
2. билирубин связанный
3. стеркобилин
- а) плохо растворим в воде
- б) токсичен
- в) образуется при окислении  $O_2$
- г) содержание увеличивается при гемолизе эритроцитов
- д) транспортируется кровью в комплексе с альбумином
- е) представляет собой комплекс с глюкоуроновой кислотой
- ж) является продуктом распада гема

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К патологическим производным гемоглобина относятся

1. оксигемоглобин
2. карбгемоглобин
3. карбоксигемоглобин
4. метгемоглобин

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

При недостаточности витамина  $B_2$  развивается анемия, потому что рибофлавин участвует во всасывании железа.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Особенности строения и метаболизма эритроцитов.
- 2) Гемоглобин, строение, производные, формы. Гемоглобинопатии.
- 3) Дыхательная функция крови. Механизмы транспорта газов.
- 4) Функция крови по поддержанию постоянства рН.
- 5) Особенности обмена железа в организме.
- 6) Биосинтез и распад гемоглобина. Желчные пигменты крови, кала и мочи.

7.3. Разбор с преподавателем метода определения содержания гемоглобина в крови, определения содержания общего и конъюгированного билирубина в сыворотке крови по Йендрашеку-Грофа, определения щелочного резерва крови.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа 1. Определение содержания гемоглобина в крови. \***

*Принцип метода.* Гемоглобин под действием трансформирующего раствора (раствора натрия додецилсульфата) превращается в окрашенный продукт-гемихром, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации гемоглобина.

*Состав набора.* Реагент (Р)- раствор натрия додецилсульфата (100-кратный концентрат).

*Калибратор* - калибровочный раствор гемихрома, соответствующий концентрации гемоглобина около 140 г/л, готовый к использованию.

*Проба для анализа.* Цельная кровь.

---

\* Набор реагентов «Альбумин – ново» фирмы ЗАО «Вектор – Бест»

*Приготовление рабочего реагента.* Содержимое флакона с Реагентом количественно перенести в мерную колбу вместимостью 1000мл, объем довести колбы до метки дистиллированной водой, перемешать, избегая вспенивания. Рабочий реагент стабилен в плотно закрытом виде не более 3 мес. Калибратор после вскрытия ампулы можно хранить в холодильнике в плотно закрытом виде 5-6 суток.

*Ход работы.*

В пробирку отмерить 5мл рабочего реагента и добавить 20мкл (0,02 мл) крови. Перемешать, выдержать 5 мин при комнатной температуре и измерить оптическую плотность пробы против рабочего реагента в кюветах длиной оптического пути 10 мм при длине волны 540 (520-560) нм. Измерить оптическую плотность калибратора. Окраска стабильна до 5 часов.

*Расчет.* Концентрация гемоглобина в пробе г/л рассчитать по формуле:  
 $C = A/A_k \times 140$  г/л, где А-оптическая плотность пробы,

А<sub>к</sub>- оптическая плотность калибратора.

Нормальные величины содержания гемоглобина в крови:

- мужчин 130-160 г/л;

- женщин 120-140 г/л.

*Клинико-диагностическое значение.* Определение концентрации гемоглобина в крови играет важную роль в диагностике анемий. При анемиях содержание гемоглобина снижается и варьирует в широких пределах: при железодефицитной анемии-умеренно, значительно - при острой кровопотере, гемолитической анемии после гемолитического криза, В<sub>12</sub>-дефицитной анемии.

Концентрация гемоглобина может повышаться (180-220 г/л) при эритремии, симптоматических эритрозах, обезвоживании, длительном пребывании на больших высотах.

## **Работа 2. Определение содержания общего и конъюгированного билирубина в сыворотке крови. \***

*Принцип метода.* Модификация метода Йендрашека-Грофа. Основан на реакции диазотирования билирубина диазосульфаниловой кислотой в присутствии ускорителя (общий билирубин) и в отсутствии ускорителя (неконъюгированный билирубин) реакции кофеина-бензоата натрия. В результате реакции образуется соединение розового цвета, интенсивность окраски которой пропорциональна концентрации билирубина в пробе.

*Состав набора.*

Реагент 1 (Р1)- раствор кофеина-бензоата натрия и сульфаниловой кислоты.

Реагент 2 (Р2)- раствор натрия азотнокислого.

Реагент 3 (Р3)- раствор сульфоновой кислоты для определения конъюгированного билирубина.

Реагент 4 (Р4)- раствор азотнокислого натрия для определения конъюгированного билирубина.

\* Набор реагентов «Билирубин-Ново» фирмы ЗАО «Вектор-Бест»

Калибратор - лиофильно высушенный раствор билирубина с концентрацией в интервале 20-40 мкмоль/л. Точное значение концентрации билирубина ( $C_k$ ) указано на флаконе с калибратором.

Стабильность реагентов после вскрытия банок и флакона в плотно закрытом виде в темном месте не более 3 месяцев.

*Приготовление калибратора.* Во флакон с калибратором добавить 1 мл дистиллированной воды, растворить при осторожном помешивании. Хранить в защищенном от света месте в замороженном состоянии не более трех недель.

*Проба для анализа.* Негемолизированная сыворотка крови.

*Ход работы.* В пять пробирок: 1-калибровочная проба, 2- билирубин общий, 3-билирубин конъюгированный, 4- контроль для пробы, 5-контроль для калибратора добавить микропипеткой реагенты в мкл согласно таблице:

Отмерить мкл	Калибровочная проба	Билирубин общий	Билирубин конъюгированный	Контроль для пробы	Контроль для калибратора
Реагент 1	1000	1000	-	-	-
Реагент 2	50	50	-	-	-
Реагент 3	-	-	1000	1000	1000
Реагент 4	-	-	50	-	-
Проба	-	100	100	100	-
Калибратор	100	-	-	-	100

Содержимое пробирок перемешать, выдержать при комнатной температуре конъюгированный билирубин (пробирка 3) и контрольную для пробы (пробирка 4)- 7 минут, остальные пробирки: общий билирубин (2), калибровочную (1) и контрольную для калибратора (5)- 20 мин. Измерить оптическую плотность растворов в пробирках против дистиллированной воды на ФЭЖе при длине волны 546 (520-560) нм в кюветах с длиной оптического пути 10мм.

*Расчет.* Концентрация билирубина (С) в мкмоль/л рассчитать по формуле

$C = \Delta A / \Delta A_k \times C_k$ , где  $\Delta A$ -разность оптических плотностей опытной и контрольной проб;  $\Delta A_k$ - разность оптических плотностей калибровочной и ее контрольной проб;  $C_k$ - концентрация билирубина во флаконе с калибратором.

Нормальные величины содержания билирубина (общего) в крови составляет 8,5-20,5 мкмоль/л, для конъюгированного – 2,2-5,1 мкмоль/л

*Клинико-диагностическое значение.*

Гипербилирубинемия обуславливается следующими причинами:

1. Увеличение интенсивности гемолиза эритроцитов.

2. Поражение паренхимы печени с нарушением ее билирубинвыделительной функции.
3. Нарушение оттока желчи из желчных путей в кишечник.
4. Выпадение ферментного звена, обеспечивающего биосинтез билирубина-глюкуронидов.
5. Нарушение печеночной секреции конъюгированного (прямого) билирубина в желчь.

При увеличении содержания билирубина в крови превышающего 30-35 мкмоль/л, появляется желтушная окраска склер, слизистых, кожи.

Содержание билирубина конъюгированного увеличивается при паренхиматозной желтухе, обтурационной (подпеченочной) желтухе.

Снижение содержания билирубина в крови наблюдается редко при постгеморрагических анемиях и алиментарной дистрофии.

### **Работа 3. Определение щелочного резерва крови.**

*Принцип метода* заключается в связывании щелочей цельной крови соляной кислотой, избыток которой затем оттитровывается до появления в мути 0,1М раствором NaOH, что соответствует изоэлектрической точке белков крови.

*Реактивы:* 1. 0,01N раствор соляной кислоты

2. 0,01М раствор NaOH

*Проба для анализа.* Цельная гепаринизированная (цитратная) кровь.

*Ход работы.* В стаканчик или колбочку для титрования поместить 10мл. 0,01N раствора соляной кислоты и добавить 0,2 мл крови. Тщательно перемешать и прозрачную бурого цвета жидкость оттитровать из микробюретки 0,1М раствором NaOH до помутнения и выпадения хлопьев. Обычно конец реакции наступает резко, от одной даже капли щелочи при рН 5,0.

*Расчет.* Производится по формуле:

Щелочной резарв крови (мэкв/л) =  $(10 - A) * 0,1 * 1000 / 0,2$ , где 10- количество мл раствора соляной кислоты, взятого для анализа; А-количество щелочи, израсходованное на титрование; 0,1-нормальность щелочи; 0,2- количество мл крови, взятой для анализа.

Нормальные величины щелочного резерва крови у взрослого человека составляет 22-29мэкв/л.

*Клинико-диагностическое значение.* Истощение щелочного резерва наблюдается при ацидозе, когда рН крови смещается в кислую сторону. Респираторный ацидоз развивается при нарушении дыхания (заболевания дыхательной системы), метаболический ацидоз может развиваться при сахарном диабете, кишечных инфекциях, заболеваниях почек, интоксикации алкоголем.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

Решение типовой задачи.

Задача. У больного с желтушностью склер и кожи обнаружена сниженная активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах. В крови повышено содержание метгемоглобина и свободного (непрямого) билирубина. Кал интенсивно окрашен, в моче билирубина нет. Объясните, какой тип желтухи у пациента и почему развилась метгемоглобинемия?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Желтухи: причины нарушения пигментного обмена, дифференциальная диагностика.
2. Наследственные нарушения первичной структуры и функций гемоглобина – наследственные гемоглобинопатии.

**Задание на дом:** Биохимия печени. Биохимия детоксикации. Свободно-радикальные процессы.

## Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>

9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 29

**1. Тема и ее актуальность:** «Биохимия печени. Биохимия детоксикации. Свободно-радикальные процессы».

Печень играет жизненно важную роль в промежуточном обмене веществ, в обезвреживании и выведении токсических веществ. Результаты биохимических анализов сами по себе редко дают основания для постановки точного диагноза, поскольку отражают базовые патологические процессы, являющиеся общими для самых разных заболеваний. Кроме того печень обладает значительным функциональным резервом. Однако биохимические анализы широко доступны, не дороги, не инвазивны и помогают выбрать другие средства диагностики, такие как биопсия. Их значение состоит и в том, что они позволяют установить сам факт заболевания и отслеживать его течение. Наиболее распространенными патологическими процессами, затрагивающими печень, являются:

- гепатит с поражением клеток печени;
- цирроз, при котором усиленное образование фиброзной ткани приводит к сморщиванию печени, снижению гепатоцеллюлярной функции и обструкции тока желчи;
- опухоли, чаще вторичные, например, метастазы опухолей толстой кишки, желудка и бронхов.

Внепеченочные заболевания желчевыводящей системы также могут иметь клинические проявления, сходные с таковыми при болезни печени, или давать вторичные эффекты на печень.

Печень является ведущим органом обезвреживания токсичных веществ, образующихся в организме (эндогенных) и поступающих из вне (экзогенных), нередко играющих ведущую роль в патогенезе и клинических проявлениях болезней.

**2. Учебные цели:** освоить роль печени в обмене белков, липидов и углеводов и в обезвреживании токсических веществ; особенности метаболизма эндогенных и экзогенных токсикантов; овладеть некоторыми тестами, характеризующими метаболическую функцию печени и активности ферментов, участвующих в процессах детоксикации.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать**:

- микроструктуру печени;
- основные функции печени;
- роль печени в обмене углеводов, липидов и белков;
- роль печени в пигментном обмене;
- роль печени в обмене витаминов;
- экскреторную функцию печени;
- желтухи, биохимические изменения в крови, кале и моче при отдельных видах желтух;
- детоксикационную функцию печени;
- понятие «токсичность», общую характеристику эндогенных и экзогенных токсических веществ;



- основные биохимические механизмы биотрансформации чужеродных соединений: микросомальное окисление, гидролиз, восстановление, конъюгация;
- белок множественной лекарственной устойчивости, металлотиионин и обезвреживание ионов тяжелых металлов, белки теплового шока;
- активные формы кислорода, как инициаторов зарождения свободно-радикальных реакции;
- перекисное окисление липидов и его биологическое значение;
- систему антиоксидантной защиты организма: неферментативное и ферментативные звенья.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком проведения проб на коллоидоустойчивость белков сыворотки крови: пробы Вельтмана и тимоловой пробы;
- навыком определения активности каталазы (КФ 1.11.1.6) крови методом А.Н. Баха и С.Р. Зубковой;
- навыком определения активности пероксидазы крови (КФ 1.11.1.7) по методу Н.И. Симаковой;
- навыком определения индикана в моче.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- проводить пробы коллоидоустойчивости белков сыворотки крови и оценивать значения их определения;
- определять активность некоторых ферментов антиоксидантной системы организма (каталаза, пероксидаза) и энзимов, органоспецифичных для ткани печени (альдолаза);
- интерпретировать изменения активности индикаторных ферментов в крови с функциональным состоянием печени и выраженностью антиоксидантной защиты;
- характеризовать биохимические механизмы детоксикации эндогенных и экзогенных токсических веществ;
- интерпретировать изменения биохимических тестов функционального состояния печени

**и овладеть следующими компетенциями:** УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Основные функции печени.
- 2) Роль печени в обмене углеводов, белков, витаминов.
- 3) Экскреторная функция печени, биохимия желчи.
- 4) Обезвреживающая функция печени. Эндогенные и экзогенные токсины.
- 5) Биотрансформация ксенобиотиков. Микросомальное окисление. Фаза конъюгации биотрансформации. Виды конъюгации.
- 6) Защитные белки – белок множественной лекарственной устойчивости, белки теплового шока, металлотиионин.
- 7) Пути образования и биологическая роль активных форм кислорода.

- 8) Перекисное окисление липидов, биологическая роль, токсичные продукты.  
9) Система антиоксидантной защиты. Неферментативное звено.  
Ферментативное звено.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Основное количество белков плазмы синтезируется в

- а) селезенке
- б) печени
- в) костном мозге
- г) скелетных мышцах
- д) форменных элементах крови

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Фермент – характеристика

- 1. цитохром P<sub>450</sub>
- 2. цитохром P<sub>450</sub>-редуктаза
- 3. цитохром b<sub>5</sub>-редуктаза вещество
- 4. цитохром a<sub>3</sub>
- а) окисляется цитохром b<sub>5</sub>-редуктазой
- б) восстанавливает железо цитохрома b<sub>5</sub>
- в) гидроксилирует липофильное
- г) взаимодействует с O<sub>2</sub>

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

В функционировании митохондриальной системы окисления принимают участие:

- 1. цитохром P<sub>450</sub>-редуктаза
- 2. кислород
- 3. цитохром P<sub>450</sub>
- 4. НАДФН
- 5. углекислый газ

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Все ксенобиотики в организме обязательно подвергаются структурной модификации, потому что без фазы модификации невозможна фаза конъюгации.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Микроструктура и основные функции печени.
- 2) Роль печени в обмене углеводов, липидов и белков.
- 3) Роль печени в пигментном обмене.

- 4) Роль печени в обмене витаминов.
  - 5) Экскреторная функция печени.
  - 6) Желтухи, биохимические изменения в крови, кале и моче при отдельных видах желтух.
  - 7) Детоксикационная функция печени.
  - 8) Понятие «токсичность», общая характеристика эндогенных и экзогенных токсических веществ.
  - 9) Биохимические механизмы биотрансформации чужеродных соединений: микросомальное окисление, гидролиз, восстановление, конъюгация.
  - 10) Характеристика защитных белков: белок множественной лекарственной устойчивости, металлотионеин и обезвреживание ионов тяжелых металлов, белки теплового шока.
  - 11) Активные формы кислорода, как инициаторов зарождения свободно-радикальных реакции.
  - 12) Перекисное окисление липидов и его биологическое значение.
  - 13) Система антиоксидантной защиты организма: неферментативное и ферментативные звенья.
- 7.3. Разбор с преподавателем проб на коллоидоустойчивость белков сыворотки крови: пробы Вельтмана и тимоловой пробы; метода определения активности каталазы (КФ 1.11.1.6) крови по А.Н. Баху и С.Р. Зубковой и активности пероксидазы крови (КФ 1.11.1.7) по Н.И. Симаковой; качественной пробы определения индикана в моче.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

### **Работа 1. Пробы на коллоидоустойчивость белков сыворотки крови.**

#### ***А. Тимоловая проба.***

*Принцип метода.* Метод основан на образовании плохо растворимого гобулино-тимол-липидных комплексов при взаимодействии сыворотки крови с тимоло-вероналовым буфером.

*Реактивы:*

1. Спиртовый раствор тимола: 10г очищенного тимола растворяют в 100мл этанола.

2. Вероналовый буфер: 2,76г веронала и 2,06г натриевой соли диэтилбарбитуровой кислоты (мединал) растворяют в мерной колбе вместимостью 1л и доводят дистиллированной водой до метки. (Хранить в холодильнике)

3. Тимолово-вероналовый буфер рН 7,55-7,6: к 99мл вероналового буфера добавляют 1 мл спиртового раствора тимола.

*Проба для анализа.* Негемолизированная сыворотка крови.

*Ход определения.* К 6 мл тимоло-вероналового буфера в пробирке прибавить 0,1 мл негемолизированной сыворотки крови, содержимое перемешать и через 30 мин колориметрировать на ФЭКе при длине волны 630-690нм в кювете с длиной оптического пути 10мм против тимолово-вероналового буфера.

*Расчет результата.* Расчет производят по калибровочному графику, для построения которой готовят ряд разведений суспензии  $\text{BaSO}_4$ ,

приготовленного при смешивании растворов хлорида бария и серной кислоты.

Нормальные величины пробы соответствует интенсивности помутнения в пределах 0-4 условных единиц.

### ***Б. Проба Вельтмана.***

*Принцип метода.* Белки сыворотки крови в результате нагревания и действия раствора хлористого кальция определенной концентрации выпадают в осадок в виде хлопьев.

*Реактивы.* 1. 0,5% раствор хлорида кальция ( $\text{CaCl}_2$ ). Учитывая его гигроскопичность раствор готовят путем измерения относительной плотности с помощью аэрометров, учитывая, что относительная плотность 5% раствора безводного (или 10% водного) хлорида кальция составляет 1,040. из этого раствора путем разведения в 10 раз готовят 0,5 % раствор  $\text{CaCl}_2$ .

*Проба для анализа.* Негемолизированная свежая сыворотка крови.

*Ход определения.* В пробирку приливают 4,9 мл дистиллированной воды и 0,1 мл негемолизированной сыворотки крови. Содержимое пробирки перемешивают и затем приливают 0,1мл 0,5% раствора хлорида кальция. Содержимое пробирки встряхивают и нагревают над пламенем спиртовки до однократного вскипания смеси. Пробирку охлаждают и смотрят через нее на свет. Если хлопья в пробирке не обнаруживаются, то в нее добавляют еще 0,1мл раствора  $\text{CaCl}_2$  и вновь раствор нагревают до кипения. Процедуру повторяют до выпадения хлопьевидного осадка.

В норме образования осадка наблюдается при добавлении 0,4-0,5 мл раствора  $\text{CaCl}_2$ .

При уменьшении объема раствора  $\text{CaCl}_2$  говорят об «укорочении» или «сужении» коагуляционной ленты, при увеличении объема раствора  $\text{CaCl}_2$  - об ее «удлении» или «расширении».

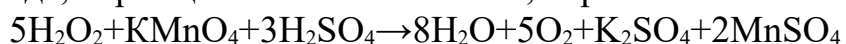
*Клинико-диагностическое значение.* Коллоидно-осадочные пробы широко распространены в клинической практике. Они основаны на исследовании коллоидной устойчивости белков сыворотки крови при патологии, сопровождаемой диспротеинемией (заболевания печени, почек и др.). Лабильность сывороточных белков определяется соотношением мелко- и крупнодисперсных белков (альбумина/глобулины) и помутнения в пробах при добавлении меньшего объема реагентов, чем при исследовании сыворотки здоровых лиц может свидетельствовать об относительном увеличении содержания глобулинов.

Так, более высокие цифры единиц помутнения в тимоловой пробе могут косвенно указывать на диспротеинемию.

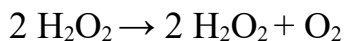
Удлинение или расширение коагуляционной ленты Вельтмана свидетельствует о паренхиматозном поражении печени или развитии хронического воспалительного процесса.

**Работа 2. Определение активности каталазы (КФ1.11.1.6) крови методом А.Н. Баха и С.Р. Зубковой.**

*Принцип метода.* Метод основан на титровании избытка пероксида водорода, нерасщепленного каталазой, перманганатом калия в кислой среде.



Активность каталазы выражается каталазным числом, которое представляет собой количество  $\text{H}_2\text{O}_2$  в миллиграммах, разложенной  $10^{-3}$  мл крови за 30 мин. Катализа осуществляет распад пероксида водорода с образованием  $\text{H}_2\text{O}$  и молекулярного  $\text{O}_2$ :



*Реактивы.* 1. 1% раствор пероксида водорода  
2. 10 % раствор серной кислоты  
3. 0,1N раствор перманганата калия.

*Проба для анализа.* Гемолизат крови, разведенный в 1000 раз.

*Ход определения.* В две колбочки или широкие пробирки отмерить по 7 мл дистиллированной воды и по 2мл 1% раствора пероксида водорода. В опытную пробу прилить 1 мл разведенной в 1000 раз крови. Обе пробы (опыт и контроль) оставить на 30 мин при комнатной температуре. Затем в обе пробы добавить по 3 мл 10% раствора серной кислоты, которая останавливает действие каталазы. Содержимое опытной и контрольной проб оттитровать из бюретки 0,1N раствором перманганата калия до появления устойчивой слабозеленой окраски.

*Расчет.* Разница между количеством мл 0,1N раствора  $\text{KMnO}_4$ , пошедшего на титровании контрольной и опытной пробам, укажет на количество мл 1% раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$ , разрушенного каталазой крови. Для перевода количества разрушенного пероксида водорода в мг надо это число умножить на 1,7 (1мл 0,1N раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$  содержит 1,7 мг пероксида водорода).

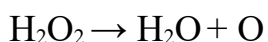
*Пример расчета:* на титровании контрольной пробы пошло 12,5 мл 0,1N раствора перманганата калия, опыта – 4,5мл. Следовательно каталазное число соответствует:  $(12,5-4,5) \cdot 1,7 = 13,6$ ед.

Нормальная величина активности каталазы в каталазных числах в крови у людей колеблется в пределах 11-20ед.

*Клиническое-диагностическое значение.* Снижение активности каталазы в эритроцитах наблюдается при развитии интоксикации, действии химических поллютантов, ряда воспалительных заболеваний.

### **Работа 3. Определение активности пероксидазы крови (КФ1.11.1.7) по методу Н.И. Симаковой.**

*Принцип метода.* Метод основан на окислении индигокармина кислородом, выделяющемся при разложении  $\text{H}_2\text{O}_2$  под влиянием пероксидазы крови:



Активность пероксидазы измеряется временем, необходимым для окисления индигокармина, который меняет окраску от сине-зеленого в желто-розовый цвет.

*Реактивы.*

1. 0,1М ацетатный буфер рН 4,7
2. 0,2 % раствор пероксида водорода
3. 0,001% раствор индигокармина

Проба для анализа. Гемолизат крови, разведенный в 1000 раз.

*Ход работы.* В пробирку налить 2мл 0,1М ацетатного буфера, прибавить 3мл разбавленной в 1000 раз крови, 1 мл дистиллированной воды и 1 мл 0,01% раствора индигокармина. Содержимое пробирки тщательно перемешать, быстро внести в нее 2мл 0,2% раствора  $H_2O_2$  и засечь время по секундомеру перехода сине-зеленой окраски содержимого пробирки в желто-розовую

*Расчет.* Поскольку гемоглобин обладает пероксидазным эффектом, то для расчета индекса активности фермента необходимо знать процентное содержание гемоглобина, принимая 160г/л Нв за 100%.

Пример расчета: Допустим переход окрашивания жидкости произошел за 40 секунд, а количество Нв в исследуемой крови составляет 144г/л или 90,0%. Следовательно, индекс пероксидазной активности будет равен:  
 $40\text{сек} * 100\% / 90\% = 44,4$

Нормальная величина индекса пероксидазной активности крови у здоровых лиц колеблется в пределах 30-50.

*Клинико-диагностическое значение.* Снижение индекса пероксидазной активности в эритроцитах выявляется при развитии интоксикации и действии поллютантов хлорорганической природы.

#### **Работа 4. Качественная проба на индикан в моче.**

Индикан – калиевая или натриевая соль индоксилсерной кислоты, один из продуктов обезвреживания индоксила, образуемого при гниении белков в толстом кишечнике. В норме в моче содержится в виде следов. Много индикана выделяется с мочой у человека при запорах, непроходимости кишечника.

*Реактивы.*

1. Концентрированная серная кислота
2. Хлороформ
3. 1% раствор перманганата калия

*Проба для анализа.* Свежая моча.

*Ход работы.* В пробирку налить 4 мл исследуемой мочи и прибавить при встряхивании равный объем серной кислоты. Затем добавить 1мл хлороформа и 1-2 капли раствора перманганата калия. Пробирку закрыть пробкой и несколько раз перевернуть, не встряхивая, поставить в штатив и наблюдать окрашивание верхнего хлороформного слоя в синий цвет.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

#### Решение типовой задачи.

Задача. У 20-ти летнего студента появились симптомы гриппа, сопровождающиеся потерей аппетита, тошнотой и болями в правом подребрье. При обследовании печень пальпировалась и была

болезненной. Через 2 дня развилась желтуха, моча стала более темной, а стул бледным.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Роль печени в обмене липидов. Липоидоз печени.
2. Искусственная печень.
3. Биохимические изменения при тяжелых поражениях печени.
4. Роль печени в превращениях ксенобиотиков. Пробы на детоксикационную функцию печени.
5. Полихлорированные диоксины: токсичность, биологический эффект, метаболизм.
6. Метаболизм и особенности токсического действия хлорорганических пестицидов. Пути их детоксикации.
7. Афлатоксины.

**Задание на дом:** Биохимия мышечной ткани.

## Литература

*Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др.М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

*Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>

9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.



### Лабораторное занятие № 30

#### **1. Тема и ее актуальность:** «Биохимия мышечной ткани».

Подвижность является характерным свойством всех форм жизни, начиная от удивительной точности распрямления и расхождения хромосом в митотическом аппарате до прекрасных движений человеческих рук танце и мощную работу мышц ног. В осуществлении этих разнообразных функций участвует только небольшое число специальных биохимических механизмов - сократительного аппарата. Хотя главные компоненты этого аппарата впервые были обнаружены в скелетной мышце, но некоторые из них встречаются во многих тканях, а актин обнаружен во всех эукариотических клетках.

Сокращения сердца, функционирования пищеварительного тракта, кровеносных сосудов и т.д. все также связано с наличием мышечной системы. Поэтому особенности биохимии мышечной системы является одной из фундаментальных основ медицины и необходимы для врача любой специальности.

**2. Учебные цели:** освоить особенности химического состава и метаболизма мышечной ткани, молекулярные механизмы мышечного сокращения и расслабления, энергетического обеспечения сократительного аппарата при различных режимах работы; овладеть некоторыми методами исследования химического состава мышечной ткани.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- особенности гистологической структуры мышечного синцития и микроструктуры одиночного волокна мышцы;
- классификацию и общую характеристику мышечных белков саркоплазмы, миофибрилл;
- строение, свойства и функции миоглобина, миозина, актина, актомиозина, тропомиозина, тропонина;
- схему мышечного сокращения, биомеханические механизмы и этапы, факторы расслабления и механизмы расслабления мышц;
- основные энергетические субстраты, используемые мышечной тканью при различных режимах работы;
- молекулярные механизмы синтеза креатинина и креатинфосфата;
- основные экстрактивные вещества мышечной ткани и их биологические функции;
- особенности метаболизма миокарда.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения экстрактивных веществ мышечной ткани;
- навыком определения содержания креатинина в моче.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- выделять из мышечной ткани экстрактивные вещества;
- определять количество креатинина в моче;

- объяснить роль ионов кальция в процессе сокращения и расслабления мышц;
  - охарактеризовать особенности энергетического обеспечения мышц при различных режимах работы;
  - оценить метаболические изменения в мышечной ткани при патологии
- и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2**

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Строение и химический состав мышц.
- 2) Структура, свойства и биологическая функция миоглобина, миозина, актина, тропомиозина, тропонина.
- 3) Биохимические основы механизмов мышечного сокращения и расслабления.
- 4) Особенности энергетического обеспечения мышц при различных режимах физической работы.
- 5) Экстрактивные вещества мышечной ткани. Синтез креатина и роль креатинфосфата в мышечной ткани.
- 6) Биохимические маркеры патологии мышечной ткани.
- 7) Метаболические особенности миокарда и маркеры инфаркта миокарда.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

АТФ-азной активностью обладает мышечный белок ...

- а) тропонин
- б) миоглобин
- в) миозин
- г) актин
- д) тропомиозин

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Мышечный белок - свойство молекулы

- |                |                                     |
|----------------|-------------------------------------|
| 1. миозин      | а) взаимодействует с O <sub>2</sub> |
| 2. актин       | б) связывает Ca <sup>2+</sup>       |
| 3. тропомиозин | в) обладает АТФ-азной активностью   |
| 4. тропонин    | г) способна к полимеризации         |
| 5. миоглобин   | д) образует толстые филаменты       |
|                | е) образует тонкие филаменты        |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

К белкам миофибрилл относятся

1. миоглобин
2. гемоглобин

3. актин
4. миозин
5. тропонин
6. трансферрин

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Гликоген мышечной ткани, наряду с гликогеном печени, используется для поддержания уровня глюкозы в крови, потому, что в миоцитах отсутствует фермент глюкозо-6-фосфатаза.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Химический состав мышечной ткани.
- 2) Саркоплазматические белки мышечной ткани: особенности, представители, роль.
  - 1) Миофибрилярные белки мышечной ткани: особенности, представители, роль. Строение актина и миозина.
  - 2) Белки стромы: особенности, представители, роль.
  - 3) Фракционирование белков мышечной ткани.
  - 4) Небелковые азотистые органические вещества мышечной ткани: формулы и названия представителей.
  - 5) Безазотистые органические вещества мышечной ткани: формулы и названия представителей.
  - 6) Неорганические компоненты мышечной ткани.
  - 7) Источники энергии в мышечной ткани.
  - 8) Синтез креатина и фосфокреатина, их значение для энергообеспечения сокращения. Креатинин. Креатинурия.
  - 9) Строение тонкого и толстого мышечных филаментов.
  - 10) Механизм мышечного сокращения.
  - 11) Строение саркомера.
  - 12) Особенности сердечной мышцы.
  - 13) Общие симптомы проявления мышечной патологии.

7.3. Разбор с преподавателем метода определения экстрактивных веществ мышечной ткани, определения содержания креатинина в моче.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа 1. Определение экстрактивных веществ мышечной ткани.**

*Приготовление вытяжки из мышечной ткани.* 1 г мышечной ткани растереть в фарфоровой ступке с кварцевым песком и 10 каплями дистиллированной воды до получения гомогенной массы, затем добавить 4 мл воды и перемешать.

Гомогенат перенести в широкую пробирку и нагреть до кипения. Профильтровать и фильтрат использовать для качественных реакций.

##### ***А. Определение креатина.***

*Принцип метода.* При нагревании в кислой среде креатин теряет воду и превращается в креатинин. Креатин с пикриновой кислотой в щелочной

среде дает красное окрашивание. С нитропруссидом натрия в щелочной среде креатинин образует продукт желтого цвета.

*Реактивы.*

1. 10% раствор серной кислоты.
2. 10% раствор пикриновой кислоты
3. 10% раствор едкого натра (NaOH)
4. 5% раствор нитропруссида натрия.
5. 10% раствор углекислого натрия.

*Ход работы.* К 1 мл фильтрата добавить в пробирке 2 капли 10% раствора серной кислоты и кипятить на водяной бане в течение 30 мин. Охладить, содержимое пробирки нейтрализовать 2-3 каплями 10% раствора углекислого натрия, разделить на две части и проделать цветные реакции на креатинин:

а) *С пикриновой кислотой.* К содержимому одной пробирки добавить 5 капель 10% раствора пикриновой кислоты и 5 капель 10% едкого натра. Отметить появление красного окрашивания.

б) *С нитропруссидом натрия.* К содержимому другой пробирки добавить 1 каплю 5% раствора нитропруссида натрия и 1 каплю 10% раствора едкого натра.

### ***Б) Открытие карнозина.***

*Принцип метода.* При нагревании с diazo-реактивом карнозин в щелочной среде образует продукт оранжевого цвета.

*Реактивы.*

1. 1% раствор сульфаниловой кислоты.
2. 5% раствор нитрита натрия.
3. 10% раствор углекислого натрия.

*Ход работы.* Предварительно получить diazo-реактив: к 1 капле 1% раствора сульфаниловой кислоты прибавить 10 капель 5% раствора нитрита натрия.

К 5 каплям безбелкового фильтрата в пробирке прибавить 5 капель diazo-реактива и 4 капли 10% раствора углекислого натрия. Перемешать. Отметить появление оранжево-красной окраски.

### ***В) Открытие молочной кислоты***

*Принцип метода.* При добавлении реактива Уфельмана (смесь хлорида железа и фенола) к раствору, содержащему молочную кислоту, жидкость окрашивается в зеленовато-желтый цвет в результате образования лактата железа.

*Реактивы.*

1. 1% раствор фенола.
2. 1% раствор хлорида железа ( $FeCl_3$ )

*Ход работы.* В пробирку прилить 10 капель 1% раствора фенола, добавить 1 каплю 1% раствора хлорида железа, появляется фиолетовое окрашивание. По каплям в содержимое пробирки добавлять безбелковый фильтрат мышечной ткани. Отметить переход окраски в желто-зеленую.

## **Работа 2. Определение содержания креатинина в моче. \***

\* Набор реагентов «Креатинин-Ново» фирмы ЗАО «Вектор-Бест»

*Принцип метода.* Определение креатинина основано на реакции Яффе и принципе Слота: последовательном фотометрическом измерении в щелочной и кислой среде окрашенных продуктов реакции, образующихся при взаимодействии исследуемого образца с пикриновой кислотой. Разность в интенсивности окрашивания в щелочной и кислой среде пропорциональна концентрации креатинина.

*Состав набора.*

Реагент 1- раствор пикриновой кислоты

Реагент 2- раствор натрия гидроокиси (NaOH)

Реагент 3- раствор кислоты, готовый к использованию

Калибратор- калибровочный раствор креатинина 240 мкмоль/л.

Приготовление рабочего реагента: слить 7 частей реагента 1 и 3 части реагента 2. Не держать на свету, а в темной склянке не более 2-х суток.

*Проба для анализа.* Моча, разбавленная в 50 раз.

*Ход работы.* В 3 пробирки (опыт, калибровочная проба и контрольная проба) добавить реагенты в мкл согласно табли

Отмерить, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная проба
Рабочий реагент	1000	1000	1000
Дистиллированная вода	-	-	100
Калибратор	-	100	-
Проба	100	-	-

Содержимое пробирок тщательно перемешать и выдержать при комнатной температуре (+20-25)<sup>0</sup>С в течение 12 минут (реакция окрашивания) и измерить оптическую плотность на ФЭКе при длине волны 500(490-560) нм в кюветах с длиной оптического пути 10мм против дистиллированной воды. Окраска растворов устойчива в течение 10 мин.

После измерения оптической плотности в каждую пробирку немедленно добавить по 50 мкл реагента 3, тщательно перемешать и выдержать в течение 5 минут при комнатной температуре (реакция обесцвечивания). Затем вновь измерить оптическую плотность содержимого всех пробирок против воды. Окраска растворов устойчива в течение 15 минут.

*Расчет.* Содержимое креатинина в моче (х) в ммоль/сут рассчитать по формуле:

$$X = \frac{\Delta A_1 - \Delta A_2}{\Delta A_3 - \Delta A_4} \times 240 \times Y \times 50 \times 0,001, \text{ где}$$

$\Delta A_1$ - разность единиц оптических плотностей опытной и контрольной проб в реакции окрашивания;

$\Delta A_2$ - разность единиц оптических плотностей опытной и контрольной проб в реакции обесцвечивания;

$\Delta A_3$ - разность единиц оптических плотностей калибровочной и контрольной проб в реакции окрашивания;

$\Delta A_4$ - разность единиц оптических плотностей калибровочной и контрольной проб в реакции обесцвечивания.

240- концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л;

У- объем суточной мочи в литрах;

50- коэффициент разведения мочи;

0,001- коэффициент пересчета мкмоль в моль.

Нормальные величины содержания креатинина в моче составляет 4,4-17,6 ммоль/сут.

*Клинико-диагностическое значение.* Содержание креатинина в моче зависит от характера питания, увеличиваясь при употреблении мясной пищи. Повышение его экскреции с мочой наблюдается при усиленной длительной мышечной работе, лихорадочных состояниях, авитаминозе Е, мышечной дистрофии, миозитах, тиреотоксикозе и др.

Снижение экскреции наблюдается при атрофии мышц, лейкемии, амилоидозе почек, голодании, хронической почечной недостаточности.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. Недавно вышедший на пенсию адвокат был доставлен в больницу с болями в груди, которые начались вечером после дня, проведенного за перекопкой сада.

На ЭКГ отсутствовали характерные признаки инфаркта миокарда. Больной находился в отделении интенсивной терапии, специализированном на острых коронарных состояниях, в течение суток, после чего был переведен в общую палату. Боли быстро прошли и он был вскоре выписан.

Лабораторные данные.

	При поступлении	Через 48 часов	Через 72 часа
Сыворотка:			
общая КК	300МЕ/л	80 МЕ/л	40МЕ/л
МВ-КК	5МЕ/л	-	-
тропонин Т	-	0,02мкг/л	-

Для какого состояния характерны эти биохимические изменения? Что произошло с пациентом?

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Диагностическая ценность биохимических исследований при инфаркте миокарда.
2. Биохимические основы утомления мышц. Проблема обезвреживания аммиака и выведения лактата из мышечной ткани.

**Задание на дом:** Биохимия соединительной ткани.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.



## Лабораторное занятие № 31

### **1. Тема и ее актуальность:** «Биохимия соединительной ткани».

Соединительная ткань распределена по всему телу. Она входит в состав хрящей, сухожилий, связок, матрикса костей, «подстиляет» кожу, служит для фиксации кровеносных сосудов, составляет основу межклеточного связующего вещества в паренхиматозных органах: легких, печени, почек и в мышцах. Механическая и поддерживающая функция соединительной ткани обеспечивается внеклеточными нерастворимыми нитями, погруженными в матрикс, называемый основным веществом. В число клеток соединительной ткани, синтезируемых как нерастворимые нити, так растворимого матрикса, входят не только фибробласты, хондроциты и остеобласты, но также макрофаги, тучные клетки и др.

С соединительной тканью связана большая группа распространенных заболеваний, включая дисплазию соединительной ткани, диффузные и системные воспалительные заболевания, системные васкулиты, ревматизм и ревматоидные артриты, дегенеративные болезни суставов и позвоночника, остеопеническое состояние и др. В этой связи для врачей необходимо освоить основы биохимии соединительной ткани.

**2. Учебные цели:** освоить знания о составе и особенностях обменных процессов в соединительной ткани; ознакомиться с некоторыми методами качественного и количественного исследования компонентов соединительной ткани.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- разновидности соединительной ткани и ее клеточные элементы;
- структуру, биологическую роль, биосинтез и катаболизм коллагена;
- структуру и свойства эластина;
- структуру протеогликанов, отдельных групп гликозаминогликанов;
- особенности метаболизма протеогликанов;
- основные неколлагеновые белки соединительной ткани;
- особенности структуры костной ткани;
- коллаген и неколлагеновые белки костной ткани;
- ремоделирование костной ткани;
- регуляцию фосфорно-кальциевого обмена.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком обнаружения коллагена в ткани кожи;
- навыком определения содержания свободного оксипролина в моче;
- навыком определения содержания гликозаминогликанов в моче;
- навыком определения кальция и фосфора в костной ткани.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь:**

- схематически представить структуру коллагена и коллагеновых фибрилл, эластина, гликозамино-протеогликановые комплексы межклеточного матрикса;

- объяснять особенности биосинтеза тропоколлагена и биогенеза зрелого коллагена;
  - объяснять нарушения биогенеза коллагена и эластина при недостаточности витамина С и меди;
  - характеризовать особенности метаболизма протеогликанов и гликозаминогликанов;
  - объяснять химический состав, ремоделирование, процессы минерализации и деминерализации костной ткани;
  - охарактеризовать регуляцию фосфорно-кальциевого обмена и его нарушения при рахите, остеопорозе, гиперпаратиреозе
- и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2**

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Структурные особенности соединительной ткани.
- 2) Коллаген: особенности аминокислотного состава и обмена, роль в организме. Механизм синтеза и созревания коллагена. Роль витамина С в синтезе коллагена.
- 3) Эластин: особенности аминокислотного состава и обмена, роль в организме.
- 4) Фибронектин: строение, биологическая роль.
- 5) Гликозаминогликаны, протеогликаны, гликопротеины: определения, строение, биологическая роль. Формулы фрагментов гиалуроновой кислоты, хондроитин-6-сульфата.
- 6) Нарушения обмена веществ соединительной ткани, биохимические тесты для определения сдвигов в обмене биополимеров соединительной ткани.
- 7) Биохимические изменения при старении организма, коллагенозах, муковисцидозе, мукополисахаридозах.

**5. Продолжительность занятия: 4 часа.**

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

**7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Основным минеральным компонентом костной ткани служит

- а)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ - фторпатит
- б)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - гидроксиапатит
- в)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{CO}_3)_3(\text{OH})_2$ - карбонатапатит
- г)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ - хлорапатит
- д)  $\text{Ca}_9\text{Sr}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - стронциевый апатит

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Изменения – причины изменения

1. изменения первичной структуры коллагена
2. нарушения первичной структуры лизиламинооксидазы
3. снижение активности пролилоксидазы

4. снижение активности лизиламинооксидазы
- а) дефицит витамина С
  - б) мутации ДНК в фибробластах
  - в) дефицит ионов меди
  - г) дефицит витамина А
  - д) дефицит витамина Д

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Высокая прочность зрелого коллагена обусловлена

- 1. множество ковалентных связей между молекулами тропоколлагена.
- 2. гидрофобными связями между молекулами тропоколлагена
- 3. сдвигом молекул тропоколлагена на  $\frac{1}{4}$  относительно друг друга в фибриллах зрелого коллагена
- 4. наличием оксипролина в молекуле тропоколлагена
- 5. взаимодействием коллагеновых фибрилл с протеогликанами

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

Белок составляет 5-10% массы протеогликанов, потому что они в значительном количестве содержатся в хрящевой ткани.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Разновидности соединительной ткани и резидентные клетки собственно соединительной ткани и ее специализированных вариантов.
- 2) Типы и классификация, биологические функции коллагенов.
- 3) Строение молекулы тропоколлагена и фибрилл коллагена типа I.
- 4) Особенности биосинтеза и катаболизма коллагена, роль витамина С и ионов меди.
- 5) Структура и свойства эластина, структура десмозина и лизиннорлейцина.
- 6) Основные неколлагеновые белки межклеточного матрикса их функции.
- 7) Структура, функции и особенности обмена протеогликанов и гликозаминогликанов.
- 8) Клеточный химический состав и особенности метаболизма костной ткани, ремоделирование костей.
- 9) Регуляция фосфорно-кальциевого обмена, роль костной ткани в этих процессах.
- 10) Особенности химического состава и метаболизма ткани хряща.

7.3. Разбор с преподавателем метода обнаружения коллагена в ткани кожи, определения содержания свободного оксипролина в моче, определения содержания гликозаминогликанов в моче, определения кальция и фосфора в костной ткани.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа 1. Обнаружение коллагена в ткани кожи.**

*Принцип метода.* Коллаген из гомогенатов тканей полностью экстрагируется горячим раствором ТХУ. При этом другие тканевые белки выпадают в осадок. В экстракте коллаген обнаруживается биуретовой реакцией.

*Реактивы.*

1. 5% раствор трихлоруксунной кислоты (ТХУ)
2. 10% раствор едкого натра (NaOH) и едкого калия (KOH)
3. 1% раствор сернокислой меди (CuSO<sub>4</sub>)

*Проба для анализа.* Сырая кожа крысы или кролика.

*Ход работы.* В ступке 0,2 г сырой кожи (крысы, кролика) измельчить ножницами и, растерев до кашицеобразной массы, перенести в центрифужную пробирку, добавить 3,0 мл 5% раствора ТХУ, перемешать и поставить в водяную баню при 90° С на 10 мин. Затем пробирку центрифугировать 5 мин при 1500 об/мин, 0,5 - 1 мл центрифугата перенести в пробирку, добавить равный объем 10% раствора NaOH (KOH) и 1 каплю 1% раствора сернокислой меди. Отметить появление фиолетового окрашивания.

**Работа 2. Определение содержания свободного оксипролина в моче.**

*Принцип метода.* Метод основан на окислении гидроксипролина пероксидом водорода в присутствии ионов меди (II) в щелочной среде до пиррола. Пиррол образует розовое окрашивание с парадиметиламинобензальдегидом в кислой среде. Интенсивность окрашивания раствора пропорциональна концентрации оксипролина.

*Реактивы.*

1. 0,01M раствор сернокислой меди (CuSO<sub>4</sub>)
2. 2,5M раствор едкого натра (NaOH)
3. 6% раствор пергидроля (33% раствора пероксида водорода)
4. 3N раствор серной кислоты
5. Реактив Эрлиха (5% раствор пара-диметиламинобензальдегида в пропанолe или изопропанолe).

*Проба для анализа.* Профильтрованная моча.

*Ход работы.* В две пробирки (контроль и опыт) отмерить по 1 мл профильтрованной мочи, добавить по 1 мл 0,01 M раствора сернокислой меди, по 1 мл 2,5 M раствора NaOH и по 1 мл 6% раствора пергидроля. После перемешивания обе пробирки поместить на 10 мин в водяную баню при 70°С и периодически помешивать. Пробы охладить в воде со льдом (снегом), добавить в каждую пробирку по 4 мл 3 н раствора серной кислоты и по 2 мл реактива Эрлиха (5% раствор п-диметиламинобензальдегида в пропанолe или изопропанолe). Контроль оставить в воде со льдом, опыт нагреть до 100°С и кипятить в течение 80 сек. В опытной пробирке развивается розовое окрашивание. Содержимое обеих пробирок колориметрировать на ФЭКе при зеленом светофильтре в кюветах на 10 мм. Из экстинкции опыта вычесть экстинкцию контроля и по калибровочному графику найти содержание оксипролина в 1 мл мочи. Вычисляют количество оксипролина в 100 мл или суточном количестве мочи.

*Нормы.* У взрослого человека с мочой за сутки выводится до 8 мг свободного оксипролина.

**Работа 3. Определение содержания гликозаминогликанов в моче.**

*Принцип метода.* Гликозаминогликаны осаждаются этанолом в кислой среде отделяются от белка трихлоруксусной кислотой и определяются по содержанию глюкуроновых (глюкуроновая и идуроновая) кислот, выделяемых кислотным гидролизом. Продукты дегидратации гексуроновых кислот с серной кислотой дают окрашенное соединение с карбазолом (реакция Дише) с максимумом поглощения при длине волны 530 нм (зеленый светофильтр).

*Реактивы.*

1. 95% этанол, содержащий 0,1М (9,8 г/л) уксуснокислого калия и 0,17М (10,1 мл/л) ледяной уксусной кислоты.
2. 0,3М (5%) раствор трихлоруксусной кислотой (ТХУ).
3. Кислота серная концентрированная, содержащая 0,2М (9,5г/л) тетраборнокислого натрия.
4. 0,01М (1,67 г/л) раствор карбазола в 95% этаноле.
5. 95% этанол.
6. Стандартный раствор глюкуроновой кислоты для калибровочного графика.

*Проба для анализа.* Профильтрованная моча.

*Ход работы.* В центрифужную пробирку прилить 0,5мл мочи и добавить 2мл охлажденного этанола, содержащего уксуснокислый калий и уксусную кислоту. Содержимое пробирки перемешать и через 5-6мин. центрифугировать при 3000 об. в мин в течение 15мин. Надосадочную жидкость слить.

Осадок эмульгировать в 3мл 5% раствора ТХУ и полученную смесь гидролизовать в кипящей водяной бане в течение 30мин с использованием каплеуловителя. Пробу охладить и центрифугировать 10мин при 3000 об. в мин.

В две пробирки (опыт, контроль) перенести по 1мл надосадочной жидкости, затем при охлаждении в воде со льдом (ледяная баня) и перемешивании налить по 5мл концентрированной серной кислоты, содержащей тетраборат натрия. Обе пробы нагревать в течение 10 мин в кипящей водяной бане и охладить до комнатной температуры. В опытную пробу добавить 0,1 мл спиртовой раствор карбазола, а в контрольную- 0,1мл этанола.

Содержимое пробирок перемешивать и нагревать в кипящей водяной бане 10 мин. Отметить появление розово-фиолетового окрашивания. Пробирки охладить и фотоколориметрировать на ФЭКе при зеленом светофильтре (530нм) в кюветах с длиной оптического пути 10мм против концентрированной серной кислоты, содержащей 0,2М тетраборат натрия.

Расчет. Найти разность величин оптической плотности опытной и контрольной проб и определить содержание гликозаминогликанов в мг/л.

Нормальные величины содержания гликозаминогликанов в моче колеблются от 650 мг/л до 1400 мг/л.

*Клинико-диагностическое значение.* Экскреция гликозаминогликанов с мочой увеличивается при воспалительных, дистрофических и системных заболеваниях соединительной ткани. Особенно в периоды обострения.

#### **Работа 4. Определение кальция и фосфора в костной ткани.**

*Принцип метода.* Костная ткань подвергается минерализации при нагревании с кислотой, гидролизат нейтрализуется и в гидролизате качественно определяется кальций и неорганический фосфор: кальций-оксалатом аммония, фосфор-молибдатом аммония.

*Реактивы.*

1. 2N раствор соляной кислоты.
2. 2N раствор едкого натра.
3. Молибденовый реактив (7,5г молибденоксилого аммония растворить в 100мл воды, добавить 100мл 32% раствора азотной кислоты (уд. вес 1,2)).
4. 4% раствор оксалата аммония.

*Проба для анализа.* Костная ткани 0,4-0,5г.

*Ход работы.* Навеску костной ткани поместить в колбу, прилить 10мл 2N раствора соляной кислоты, закрыть пробкой с обратным холодильником, поместить на сетку и нагревать до полного растворения. Содержимое колбы перенести в мерную посуду, внести 10мл 2N раствора едкого натра и довести объем минерализата до 100мл.

*А. Открытие кальция.* К 10 каплям минерализата кости в пробирке добавить 10 капель 4% раствора оксалата аммония. Отметить выпадение осадка оксалата кальция.

*Б. открытие неорганического фосфора.* К 10 каплям минерализата кости в пробирке прибавить 15 капель молибденового реактива и содержимое пробирки нагреть. Отметить появление осадка желтого цвета.

7.5. Контроль освоения темы занятия.

#### Решение типовой задачи.

Задача. При авитаминозе С (цинге) у больных выявляются расшатывание и выпадение зубов, снижается прочность мелких сосудов. Чем объяснить указанные явления? Какие процессы обмена соединительной ткани нормализуется при лечении цинги аскорбиновой кислотой?

#### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

#### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Особенности состава и строения коллагена.
2. Гликозаминогликаны: состав, строение, функции.
3. Мукополисахаридозы: патогенез, клинические проявления.
4. Биосинтез коллагена. Нарушение биосинтеза коллагена при некоторых заболеваниях.

5. Неколлагеновые белки межклеточного матрикса соединительной ткани. Структура, биологическая роль. Белки межклеточных взаимодействий.
6. Биохимические аспекты остеопороза.

**Задание на дом:** Биохимия почек, общий анализ мочи.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов

Хайбуллина З.Г.

Глазутдинова Л.Р.

## Лабораторное занятие № 32

### **1. Тема и ее актуальность:** «Биохимия почек, общий анализ мочи».

Почка – главный секреторный орган организма. Объем и состав мочи могут колебаться в исключительно широких пределах. Благодаря своей способности изменять состав мочи в зависимости от состояния метаболизма и изменений условий окружающей среды почка эффективно участвует в регуляции объема и состава внеклеточной жидкости. Таким образом, изменения физиологического состояния организма, развитие патологии находят, как правило, свое отражение в биохимии мочи.

Моча образуется в результате осуществления трех процессов, происходящих в каждом из примерно миллиона нефронов: 1) ультрафильтрации через капилляры клубочка; 2) избирательной реабсорбции жидкости и растворенных веществ в проксимальном канальце, петле Генле, дистальном канальце, собирательной трубчатке; 3) избирательной секреции в просвет проксимальных и дистальных канальцев. Почка также синтезирует глюкозу, группу гормонов, способствует поддержанию рН крови, пула аминокислот путем реабсорбции и катаболизма низкомолекулярных белков, поступивших в мочу при ультрафильтрации, участвует в синтезе креатина, активации витамина Д. Нарушение этих процессов наблюдается при заболеваниях почек, что отражается на их метаболизме и функциональном состоянии. Вследствие этого общий анализ мочи является своеобразным лабораторным контролем как состояния организма в целом, так и, естественно, состояния мочевыделительной системы и проводится, практически, каждому пациенту как в стационаре, так и в поликлинике.

**2. Учебные цели:** освоить функции и особенности метаболизма почек, биохимические механизмы образования мочи; овладеть основными методами лабораторного анализа свойств и составных компонентов мочи и их оценки в норме и при патологии.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать:**

- особенности гистологической структуры и кровоснабжения почек, строение нефрона и функции отдельных его составных частей;
- основные функции почек;
- некоторые особенности метаболизма почек: уровень энергетического обмена, глюконеогенез, синтез креатина, гидроксирования витамина Д и т.д.;
- формулу расчета фильтрационной способности почек;
- регуляцию функции почек;
- общие физико-химические свойства мочи, нормальные и патологические химические компоненты мочи.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть:**

- навыком определения показателей физико-химических свойств мочи;
- навыком определения химических компонентов нормальной мочи;
- навыком определения патологических компонентов мочи.



Для формирования профессиональных компетенций студент должен **уметь:**

- проводить исследования физико-химических свойств мочи и характеризовать их изменения при патологии;
- определять патологические компоненты мочи: белок, кровь, глюкозу, кетоновые тела, желчные кислоты, желчные пигменты и трактовать результаты биохимического анализа мочи;
- объяснять основные биохимические механизмы образования мочи;
- объяснять метаболическую функцию почек, их роль в поддержании уровня глюкозы, аминокислот, основных ионов, активации витамина Д и др.

**и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2**

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Моча как биологическая жидкость, значение.
- 2) Количество мочи, состояния, при которых меняется диурез, причины.
- 3) Нормальные компоненты мочи, рН, плотность.
- 4) Патологические компоненты мочи.
- 5) Диагностическое значение анализа мочи, назовите три группы заболеваний, для которых важен анализ мочи.
- 6) Глюкозурия, причины, виды, методы обнаружения сахара в моче.
- 7) Кетонурия, причины, реакции для анализа.
- 8) Протеинурия, причины, виды, реакция для анализа.
- 9) Гематурия, причины, реакции для анализа.
- 10) Обнаружение желчных пигментов в моче.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

### **7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Диурез взрослого человека в норме составляет в мл

- а) 500-1000
- б) 1000-2000
- в) 1500-2500
- г) 2000-4000

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Характер пищи – реакция мочи

- |              |                 |
|--------------|-----------------|
| 1. мясная    | а) слабо-кислая |
| 2. овощная   | б) резко-кислая |
| 3. смешанная | в) щелочная     |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Билирубин в моче может быть при

1. печеночно-клеточный желтухе

2. физиологической желтухе
3. обтурационной (подпеченочной) желтухе
4. гемолитической (подпеченочной) желтухе

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

При гематурии моча имеет красный цвет, потому что в ней содержится свободный гемоглобин.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Основные функции почек.
- 2) Основные особенности метаболизма почек.
- 3) Биохимические механизмы образования мочи и его регуляция.
- 4) Роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия, регуляции состава и объема плазмы, внеклеточной жидкости.
- 4) Физико-химические свойства мочи, нормальные и патологические химические компоненты мочи.

7.3. Разбор с преподавателем метода определения показателей физико-химических свойств мочи, определения химических компонентов нормальной мочи, определения патологических компонентов мочи.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа 1. Определение показателей физико-химических свойств мочи.**

##### *Определение цвета мочи*

Нормальная свежесобранная моча представляет собой прозрачную жидкость соломенно-желтого цвета. Нормальная окраска мочи обусловлена наличием в ней ряда пигментов. Исключение представляет моча при сахарном диабете - бледная моча высокой плотности. При различных заболеваниях окраска мочи может меняться от присутствия в ней тех или иных пигментов: кровяных, желчных, порфиринов и др. Пена нормальной мочи белая, быстро исчезающая при стоянии. При содержании белка в моче пена делается более стойкой.

В чистую пробирку налить 2 мл мочи и рассмотреть на свету. Результаты записать.

##### *Определение прозрачности*

В той же пробирке провести определение прозрачности мочи и найденные результаты также записать.

##### *Определение запаха*

Склянку с мочой держать на некотором расстоянии от носа и движением ладони руки направлять воздух к носу. При этом ощущается тот или иной запах.

##### *Определение реакции мочи*

В норме кислотность мочи зависит от пищи. При обычном питании человека моча имеет слабокислую или нейтральную реакцию (рН 5 - 7). При преобладании в рационе мясной пищи реакция мочи сдвигается в кислую сторону, при преобладании растительной - в щелочную. Однако реакция мочи может изменяться при заболеваниях, например, при сахарном диабете, подагре

реакция сдвигается в кислую сторону, при воспалениях мочевого пузыря моча может иметь щелочную реакцию.

На предметное стекло положить красную и синюю лакмусовые бумажки, стеклянной палочкой нанести на них по капле мочи и наблюдать изменение окраски. Для определения рН мочи можно использовать универсальную индикаторную бумагу, рН-метры.

#### *Определение удельного веса*

Исследуемую мочу налить в чистый цилиндр объемом 50 мл осторожно опустить в него урометр. Когда он прекратит свое движение (не будет касаться стенок цилиндра), определить удельный вес по шкале урометра. При этом отчет ведут по нижнему мениску жидкости. Если шкала урометра находится вне мениска жидкости, определение удельного веса проводится урометром другого типа.

1. *Суточное количество мочи* составляет 1,0-2 л, в среднем 1500 мл

Увеличение суточного диуреза (полиурия) наблюдается при схождении отеков, сахарном и несахарном диабете.

Уменьшение суточного диуреза. Наиболее частой причиной является нарастание отеков вне зависимости от их происхождения, а также обильное потоотделение, профузные поносы и рвоты. Выраженное снижение диуреза – олигоурия (менее 600 мл в сутки), отсутствие мочи или ее количество менее 50 мл – анурия наблюдаются при тяжелых кровопотерях, острой сердечной или сосудистой недостаточности (шок), при острых нефритах, нефрозах, при переливании несовместимой кров, при тяжелых хронических заболеваниях почек, а также при полной или частичной закупорке мочеточников.

#### *2. Цвет.*

Красный, или цвет мясных помоев может быть связан с макрогематурией или гемоглинурией, наличием в моче порфирина, миоглобина, лекарств или их метаболитов.

Темно-желтый, иногда с зеленым или зеленовато - бурым оттенком, обусловлен выделением с мочой билирубина при паренхиматозной и механической желтухе.

Зеленовато-желтый связан с большим содержанием гноя в моче.

Грязно-коричневый или серый обусловлен содержанием гноя при щелочной реакции мочи.

Темный, почти черный обусловлен гомогентизиновой кислотой при алкаптонурии, или меланином при меланоме, меланосарком, или гемоглинурией при острой гемолитической анемии.

Беловатый связан с наличием в моче большого количества фосфатов, или выделением жира при инвазии паразита *Filaria*

#### *3. Прозрачность.*

Помутнение мочи может быть результатом наличия в ней эритроцитов, лейкоцитов, эпителия, бактерий, жировых капель, выпадения в осадок солей.

#### *4. Плотность.*

В норме плотность мочи может колебаться от 1,008 до 1,025 г/л. Увеличение плотности >1,030 г/л связана с наличием в моче глюкозы, белка,

лекарств или их метаболитов, маннитола или декстрана (при их внутривенном вливании). Постоянное снижение плотности  $< 1,015$  г/л наблюдается при несахарном диабете, хронической почечной недостаточности, остром поражении почечных канальцев.

## **Работа 2. Определение химических компонентов нормальной мочи.**

### *Реактивы.*

1. 1% раствор азотнокислого серебра
2. 1% раствор уксусной кислоты
3. 1% раствор хлористого бария
4. Молибденовый реактив (приготовление см. определение кальция в костной ткани)
5. 3% раствор уксусной кислоты
6. 5% раствор оксалата аммония
7. 10% раствор едкого натра
8. 10% раствор нитропруссиды натрия
9. 30% раствор азотной кислоты

### *Качественное определение хлоридов*

Налить в пробирку 1 мл мочи, добавить 2 - 3 капли 30% раствора азотной кислоты и 3 - 4 капли 1% раствора азотнокислого серебра. Образуется творожистый осадок хлорида серебра. Написать реакцию.

### *Качественное обнаружение сульфатов*

К 1 мл мочи добавить 2 - 3 капли 1% раствора уксусной кислоты и 2 - 3 мл 1% раствора хлористого бария. Выпадает нерастворимый осадок сульфата бария. Написать реакцию.

### *Обнаружение фосфатов*

В пробирку налить 1 мл молибденового реактива и нагреть его до кипения. После этого прибавить 5 - 6 капель мочи. Выпадает желтый кристаллический осадок фосфорно-молибденовоокислого аммония, нерастворимый в азотной кислоте, но растворимый в аммиаке.

### *Обнаружение ионов кальция*

К 1 мл мочи добавить 1 - 2 капли 3% раствора уксусной кислоты и 1 - 2 капли раствора щавелевоокислого аммония. Выпадает осадок щавелевоокислого кальция (кристаллы под микроскопом имеют вид конвертиков). Написать реакцию.

### *Обнаружение аммиака*

В пробирку налить 2 мл мочи, добавить равный объем раствора гидроксида кальция и над пробиркой держать смоченную водой красную лакмусовую бумажку. Через некоторое время бумажка синее от выделяющегося аммиака.

### *Обнаружение креатинина (реакция Вейля)*

К 1 мл мочи добавить 1 мл 10% раствора гидроксида натрия и 2 капли 10% раствора нитропруссиды натрия, появляется красное окрашивание, которое впоследствии переходит в желтое.

*Проба для анализа.* Свежая моча, профильтрованная.

## **Работа 3. Патологические компоненты мочи.**

### *Реактивы.*

1. 10% раствор уксусной кислоты
2. Азотная кислота концентрированная
3. Реактив Фелинга (Готовят отдельно раствора: А. 200г сегнетовой соли и 150г едкого натра растворить в мерной колбе и довести объем до метки 1 литр); Б. 40г  $\text{CuSO}_4$  развести в мерной колбе и довести объем до метки 1 литр. Перед употреблением смешивать равные объемы растворов А и Б.
4. 10% раствора нитропрусида натрия
5. 10% едкого натра
6. Уксусная кислота концентрированная (ледяная)
7. 10% раствор едкого кали
8. Раствор Люголя (приготовление см. определение гликогена из ткани мышц)
9. 5% раствор  $\text{FeCl}_3$
10. 5% раствор бензидина в ледяной уксусной кислоте (свежеприготовленный)
11. 3% раствор пероксида водорода
12. 2% гваяковой смолы
13. 1% раствор пероксида водорода
14. 5% раствор сахарозы
15. Серная кислота концентрированная

### **1. Качественное определение белка**

Белок мочи состоит из сывороточного альбумина и глобулинов. Кроме того, на белок дает реакцию моча, содержащая кровь и гной. Белок в моче обнаруживается с помощью реакций осаждения.

В нормальной моче содержится незначительное количество белка (0,05-0,15 г/сут), что не обнаруживается обычными качественными пробами. Белок в моче обнаруживается при нефрозе, нефрите, сердечной декомпенсации и при некоторых других патологиях. Пробы на белок мочи основаны на его денатурации различными агентами.

#### *Проба кипячением*

2 - 3 мл мочи (профильтрованной, если она щелочная, то ее подкисляют уксусной кислотой до слабокислой реакции) довести до кипения и добавить 2 - 3 капли уксусной кислоты. Появление осадка, не растворяющегося при прибавлении кислоты, указывает на присутствие в исследуемой моче белка. Осадки фосфатов и карбонатов кальция и магния растворяются в более кислом растворе.

#### *Проба Геллера*

К 1 мл концентрированной азотной кислоты осторожно, держа пробирку наклонно, наслоить 1 мл профильтрованной мочи (лучше наслаивать мочу пипеткой). На границе двух слоев при наличии белка появляется белое кольцо.

### **2. Определение белка в моче с сульфосалициловой кислотой.\***

*Принцип метода.* При взаимодействии белка с сульфосалициловой кислотой образуется помутнение, интенсивность которого пропорциональна концентрации белка в моче.

*Состав набора.*

---

\* Набор реагентов «Белок-ССк-Ново» фирмы ЗАО «Вектор-Бест»

Реагент 1 – раствор сульфосалициловой кислоты для качественного определения белка, готовый к употреблению.

Реагент 2 – раствор сульфосалициловой кислоты для количественного определения белка, концентрат.

Приготовление рабочего реагента 2: реагент 2 разбавить дистиллированной водой в 25 раз: 20мл реагента 2 поместить в мерную посуду и довести объем водой до 500 мл.

*Проба для анализа. Моча.*

*Ход работы.*

1. Качественное определение белка.

К 1 мл мочи в пробирке прибавить 1-2 капли реагента 1. При наличии белка появляется помутнение, которое лучше видно на черном фоне в проходящем свете.

2. Количественное определение белка.

В две пробирки (опыт, контроль) вместимостью 10 мл внести по 1,0 мл мочи. В опытную пробу добавить 1,0 мл рабочего реагента, в контрольную – 3,0 мл дистиллированной воды и сразу перемешать путем встряхивания пробирок. Выдержать 20 мин при комнатной температуре, не перемешивая, содержимое пробирок перенести в кювету ФЭКа с длиной оптического пути 10 мм и измерить поглощение при длине волны 600 (590-610) нм опыт против контроля.

*Расчет.* Осуществить по калибровочному графику с использованием набора образцов содержащих белок в диапазоне от 0,020 до 0,60 г/л.

### **3. Качественное определение сахара в моче с помощью реактива Фелинга**

В норме в моче содержится 0,2-0,4 г/л глюкозы и она не обнаруживается обычными реакциями. При диабете и некоторых других заболеваниях, а также после обильного приема с пищей углеводов, эмоционального стресса, при отравлениях эфиром, оксидом, хлороформом, поражения почек он в значительных количествах появляется в моче.

В пробирку налить 1 - 2 мл мочи, добавить равный объем реактива Фелинга и осторожно нагреть верхний слой жидкости. При наличии сахара отметить выпадение кирпично-красного осадка.

### **4. Полуколичественное определение сахара в моче при помощи индикаторной бумаги «Глюкотест»**

«Глюкотест» готовится путем пропитки полосок фильтровальной бумаги размером 0,5×5см смесью, содержащей глюкозооксидазу, пероксидазу и краситель. При смачивании бумаги раствором, содержащим глюкозу, происходит окисление глюкозы под действием фермента глюкозооксидазы. Образующаяся при этом перекись водорода разлагается ферментом пероксидазой с окислением содержащего в тесте красителя. Интенсивность изменения окраски в определенной степени пропорциональна содержанию глюкозы в растворе, поэтому «Глюкотест» используется и для полуколичественного определения содержания глюкозы в моче (от 1,0 до 2,0 г/л и выше).

Бумажку «Глюкотеста» погрузить в исследуемую мочу так, чтобы нанесенная на бумажку желтая полоса была смочена. Немедленно извлечь бумажку, положить смоченным концом на пластмассовую пластинку и через 2 мин сравнить изменившуюся окраску цветной полосы со шкалой, имеющейся в комплекте. Содержание глюкозы в моче определяют по наиболее совпадающему со шкалой цвету полоски.

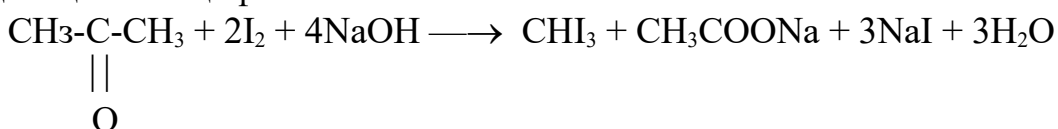
### 5. Качественное определение кетоновых тел

В нормальной моче кетоновые тела (ацетон, ацетоуксусная и β-гидроксимасляная кислоты) содержатся в небольших количествах (0,02-0,05 г/сут, или 20-50 мг) и обычными качественными реакциями не обнаруживаются. Повышенная экскреция их с мочой (кетонурия) наблюдается при сахарном диабете (до 10-50 г/сут), голодании, инфекционных заболеваниях (туберкулезе и др.)

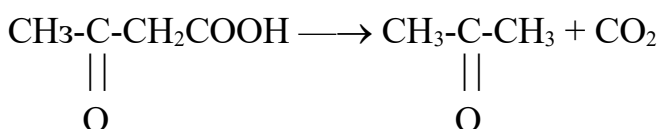
*Проба с нитропруссидом натрия (Легалья) на ацетон.* При взаимодействии ацетона с нитропруссидом натрия в щелочной среде появляется оранжево-красное окрашивание. После подкисления концентрированной уксусной кислотой оранжево-красное окрашивание переходит в вишневое. В пробирку налить 1 мл мочи и добавить 2 - 3 капли свежеприготовленного раствора нитропрусида натрия и 3 - 4 капли 10% раствора едкого натра. После развития оранжево-красной окраски прилить несколько капель концентрированной уксусной кислоты и отметить изменение цвета раствора в вишневый.

*Проба Либена на ацетон.* Проба основана на образовании йодоформа  $\text{CHI}_3$  при взаимодействии ацетона с  $\text{I}_2$  в щелочной среде.

К 1 мл мочи добавить 3 - 4 капли 10% раствора КОН и по каплям - раствора йода в йодистом калии (раствор Люголя) до появления мути (слабо-желтый кристаллический осадок йодоформа) при наличии ацетона, обладающего специфическим «больничным» запахом.



К 1 мл мочи добавить 4 - 5 капель 5% раствора  $\text{FeCl}_3$ . Наблюдается вишнево-красное окрашивание за счет комплексного соединения железа с енольной формой ацетоуксусной кислоты, постепенно бледнеющее при стоянии вследствие самопроизвольного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты:



### 6. Качественная реакция на кровяные пигменты

Появление в моче форменных элементов крови (гематурия) или кровяных пигментов (гемоглобинурия) относится к патологии и может быть обнаружено с помощью ряда проб (гваяковой, бензидиновой и др.). Гематурия имеет место при нарушении целостности кровеносных сосудов, повреждении

мочеполовых путей (мочевые камни, рак мочевого пузыря); гемоглинурия наблюдается при отравлении гемолитическими ядами, при ожогах происходит разрушение эритроцитов. Кровяные пигменты можно открыть бензидиновой пробой, которая основана на окислении бензидина атомарным кислородом, который образуется при разложении перекиси водорода кровяным пигментом, моча окрашивается в синий или зеленый цвет.

*Проба с бензидином.* В пробирку налить 1 мл прокипяченной мочи, добавить 4 капли 5% раствора бензидина в ледяной уксусной кислоте (свежеприготовленный) и 4 капли 3% раствора перекиси водорода. После перемешивания жидкость окрашивается в синий или зеленый цвет, что указывает на присутствие крови в моче.

*Проба гваяковой смолы.* Налить в пробирку 1 мл исследуемой мочи. В другую пробирку добавить 1 мл 2% раствора гваяковой смолы, туда же добавить 3 - 5 капель 1% раствора перекиси водорода и осторожно наслить в пробирку раствор, содержащий мочу. При наличии кровяных пигментов отметить появление синего кольца на границе наслаивания.

### **7. Качественное определение желчных пигментов**

Желчные пигменты (билирубин, биливердин и др.) образуются при распаде гемоглобина эритроцитов и появляются в моче при желтухах. Моча, содержащая желчные пигменты, имеет желтовато-коричневое или зеленое окрашивание (характерный признак желтухи).

*Проба на билирубин с раствором йода (проба Розина).* К 3 мл мочи осторожно наслить 1% спиртовой раствор йода или раствор Люголя. При наличии билирубина на границе между обеими жидкостями образуется зеленое кольцо. С нормальной мочой проба отрицательна.

*Проба Гмелина на желчные кислоты.* К 1 мл концентрированной азотной кислоты осторожно по стенке наслить мочу равный объем. При наличии желчных пигментов на границе наслаивания образуется зеленое кольцо.

### **8. Проба Петенкофера на желчные кислоты**

Реакция основана на конденсации желчных кислот с оксиметилфурфуролом, образующимся под влиянием концентрированной серной кислоты из сахарозы. Продукт конденсации имеет красно-фиолетовую окраску.

В пробирку поместить 1 мл мочи добавить 5 капель 5% раствора сахарозы и осторожно по стенке пробирки наслить 1 мл концентрированной серной кислоты. При наличии желчных кислот на границе наслаивания образуется кольцо красно-фиолетового цвета.

### **УИРС. Анализ пробы мочи.**

Задание получает каждый студент. В каждой пробирке студенты анализируют присутствие белка, сахара, кетоновых тел, желчных и кровяных пигментов, а также другие компоненты. Полученные данные анализируются и оформляются выводы. Студенты знакомятся с бланками лабораторного анализа мочи и вносят результаты. Ниже приведен примерный образец бланка.

## **Анализ мочи**

### **1. Физико-химическое исследование мочи.**



Удельный вес \_\_\_\_\_  
Цвет \_\_\_\_\_  
Прозрачность \_\_\_\_\_  
рН \_\_\_\_\_

## 2. Химическое исследование мочи.

а) Нормальные составные части.

Кальций \_\_\_\_\_

Магний \_\_\_\_\_

Сульфаты \_\_\_\_\_

Мочевина \_\_\_\_\_

Креатинин \_\_\_\_\_

б) Патологические составные части.

Сахар \_\_\_\_\_

Белок (при обнаружении белка необходимо сделать количественное определение его) \_\_\_\_\_

Ацетоновые тела \_\_\_\_\_

Кровяные пигменты \_\_\_\_\_

Желчные кислоты \_\_\_\_\_

Билирубин \_\_\_\_\_

Уробилин \_\_\_\_\_

Индикан \_\_\_\_\_

**Вывод:** \_\_\_\_\_

7.5. Контроль освоения темы занятия.

### Решение типовой задачи.

Задача. Группа лыжников совершила большой переход в условиях холодной погоды. При обследовании у некоторых из них в моче обнаружен белок. Укажите возможную причину протеинурии в данном случае.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Почечнокаменная и мочекаменная болезнь: диагностика, лечение.
2. Белок в моче. Причины, современные лабораторные методы детекции, интерпретация результатов.
3. Современные лабораторные тесты в исследовании функции почек.

**Задание на дом:** Биохимия нервной ткани.

**Литература**

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метабономика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов

Хайбуллина З.Г.

Глазутдинова Л.Р.

### Лабораторное занятие № 33

#### **1. Тема и ее актуальность:** «Биохимия нервной ткани».

Мозг состоит из клеток лишь нескольких типов, преимущественно из нейронов (их примерно  $10^{10}$ ) и глиальных клеток. Каждый нейрон может иметь синаптические связи с несколькими сотнями, даже тысячами других нейронов. В каждый данный момент нейрон в зависимости от интеграции тормозных и возбуждающих стимулов может либо генерировать сигнал, либо молчать. Отсюда возникают основные вопросы биохимии нервной ткани: какова природа процесса возбуждения; каков механизм проведения возбуждения по аксону; каковы молекулярные основы синаптической передачи; каким образом химический состав, организация и метаболизм нервной ткани обеспечивает все эти явления? Понимание этих вопросов дает ключ к раскрытию функций мозга, пониманию заболеваний нервной системы и психических отклонений, а также указывает возможные пути терапевтического воздействия на них.

#### **2. Учебные цели:** овладеть знаниями по химическому составу нервной ткани, биохимическими основами функционирования нервной системы.

Для формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций студент должен **знать**:

- основные типы клеток нервной системы;
- особенности строения и функции нейронов;
- морфологическую структуру гематоэнцефалического барьера;
- особенности химического состава нервной ткани: белков, липидов, углеводов;
- специфические белки нервной ткани и нейропептиды, структуру и свойства миелина;
- нейромедиаторы;
- особенности углеводно-энергетического метаболизма;
- особенности белкового и аминокислотного обмена;
- основы биохимии возникновения и проведения нервного импульса;
- молекулярные механизмы синаптической передачи нервного импульса;
- основы биохимических механизмов нейробиологической памяти.

Для формирования профессиональных компетенций студент должен **владеть**:

- навыком выделения белков, холестерина и фосфатидов из мозговой ткани.

Для формирования профессиональных компетенций студент **должен уметь**:

- объяснить биохимические основы: а) возникновения процесса возбуждения;
- б) проведения возбуждения по аксону;
- в) синаптической передачи возбуждения;
- г) особенности энергетического обеспечения функционирования нервной системы.
- объяснить возможные механизмы нейрональных взаимодействий при восприятии, запоминания и воспоминания информации;

- использовать знания биохимии нервной системы для понимания действия группы фармакологических средств

и овладеть следующими компетенциями: УК-1, ОПК-1,2

### **3. Материалы для самоподготовки к освоению темы:**

Вопросы для самоподготовки:

- 1) Химический состав нервной ткани. Миелиновые мембраны: особенности состава и структуры.
- 2) Энергетический обмен в нервной ткани. Значение аэробных путей окисления глюкозы.
- 3) Биохимические механизмы в проведении нервного импульса.
- 4) Молекулярные механизмы синаптической передачи.
- 5) Роль медиаторов: ацетилхолина, катехоламинов, серотонина, ГАМК, глутаминовой кислоты, глицина, гистамина.
- 6) Токсичность аммиака для нервной ткани. Образование транспортных форм аммиака - амидов.
- 7) Нарушения обмена биогенных аминов при психических заболеваниях.
- 8) Применение катехоламинов и ингибиторов МАО при лечении депрессивных состояний
- 9) Физиологически активные пептиды мозга.

**4. Вид занятия:** практическое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 2 часа.

**6. Оснащение:** ФЭК, химические реактивы, лабораторная посуда, штативы, таблицы, плакаты, ситуационные задачи, тесты, деловые игры.

### **7. Содержание занятия:**

7.1. Контроль исходного уровня знаний и умений. Задания для самоконтроля: тесты (примеры).

Задание 1. Выберите наиболее правильный ответ.

Основным путем катаболизма гликогена в мозговой ткани является

- а) фосфоорилазный
- б)  $\alpha$ -амилазный
- в)  $\beta$ -амилазный
- г)  $\gamma$ -амилазный

Задание 2. Установите соответствие цифровых и буквенных положений.

Биогенный амин – аминокислота, из которой образуется

- |                                |        |
|--------------------------------|--------|
| 1. гистамин                    | а) сер |
| 2. гамма-аминомасляная кислота | б) тир |
| 3. норадреналин                | в) гис |
| 4. серотонин                   | г) три |
| 5. дофамин                     |        |

Задание 3. Подберите сочетания правильных ответов.

Образование аммиака в ткани мозга осуществляется при

1. аминированием  $\alpha$ -кетоглутарата
2. дезаминировании аминокислот
3. обезвреживание биогенных аминов окислительным путем

4. действию глутаминазы
5. дезаминировании АМФ

Задание 4. Определите правильность утверждений в предложении и установите наличие причинной связи между ними.

При маниакально-депрессивном психозе и некоторых формах шизофрении нарушается обмен серотонина, потому что серотонин синтезируется из аминокислоты триптофана.

7.2. Разбор с преподавателем узловых вопросов, необходимых для освоения темы занятия.

- 1) Особенности химического состава нервной ткани.
- 2) Особенности углеводно-энергетического, белкового и аминокислотного метаболизма нервной системы.
- 3) Биохимические механизмы возникновения потенциала покоя и потенциала действия, проведения нервного импульса по аксону.
- 4) Молекулярные механизмы синаптической передачи нервного импульса, нейромедиаторы, их образование и инактивация.
- 5) Современные представления о роли нейропептидов в функционировании мозга.
- 6) Современные теории возникновения кратковременной и долговременной памяти.

7.3. Разбор с преподавателем метода выделения белков, холестерина и фосфатидов из мозговой ткани.

7.4. Самостоятельная работа студентов под контролем преподавателя.

#### **Работа 1. Выделение белков мозговой ткани.**

*Принцип метода.* Белки экстрагируются из ткани мозга слабым раствором щелочи и обнаруживаются биуретовой реакцией, реакцией осаждения с концентрированной азотной кислотой.

Реактивы:

1. 0,25% раствор едкого натра (NaOH)
2. Азотная кислота концентрированная
3. 10% раствор едкого натра
4. 1% раствор сернокислой меди.

*Проба для анализа.* Ткань мозга животного.

*Ход работы.* Ткань мозга 0,5г растереть в фарфоровой ступке до гомогенной массы и добавлять небольшими порциями 0,25% раствор гидрата натрия до 5мл. Щелочную жидкость, содержащую все растворимые белки: альбумины, глобулины, нуклеопротеины, фильтруют через двойной слой марли. В осадке остаются соединительно-тканые белки нервной ткани. Для обнаружения белков провести биуретовую реакцию и реакцию осаждения насаиванием концентрированной азотной кислоты.

А) Биуретовая реакция.

К 5 каплям фильтрата ткани мозга в пробирке прибавить 6 капель 10% раствора едкого натра и 2-3 капли 1% раствора сернокислой меди. Отметить образование красно-фиолетового окрашивания.

Б). Реакция с концентрированной азотной кислотой.

В пробирку налить 5-6 капель концентрированной азотной кислоты наклонив пробирку под углом  $45^\circ$ , осторожно, по стенке пробирки, спустить равный объем фильтрата ткани мозга. Отметить образование на границе двух слоев жидкости осадка белка в виде тонкой пленки.

## **Работа 2. Выделение холестерина из мозговой ткани.**

*Принцип метода.* Холестерин из ткани мозга экстрагируется хлороформом и обнаруживается с помощью цветной реакции Сальковского (действием концентрированной серной кислоты).

*Реактивы.*

1. Гипс
2. Хлороформ
3. Серная кислота концентрированная.

Проба для анализа. Ткань мозга животного.

*Ход работы.* 0,5 г ткань мозга растереть в фарфоровой ступке с двойным объемом гипса. Полученную массу намазать тонким слоем на стеклянную пластину и высушить в сушильном шкафу. Сухую массу снять скальпелем и растереть в фарфоровой ступке до гомогенного порошка. Порошок перенести в сухую пробирку, добавить 3 мл хлороформа, и, закрыв пробирку корковой пробкой, взбалтывать 5-8 минут. По окончании встряхивания жидкость фильтровать через маленький складчатый фильтр, смоченный хлороформом. С фильтратом провести реакцию Сальковского.

Для этого в пробирку с фильтратом добавить равный объем концентрированной серной кислоты (осторожно! По стенке пробирки!). При легком встряхивании на границе двух слоев появляется оранжевое кольцо, которое при стоянии переходит в красное.

## **Работа 3. Выделение фосфатидов из мозговой ткани.**

*Принцип метода.* Фосфатиды из ткани мозга экстрагируются горячим спиртом и определяются путем осаждения ацетоном или реакцией щелочного гидролиза фосфатидилхолина (лецитина).

*Реактивы.*

1. Этанол.
2. 10% раствор едкого натра (NaOH).
3. Ацетон.

*Ход работы.* 0,5-0,6 г ткани мозга поместить в пробирку, добавить 3-5 мл горячего спирта и нагревать на водяной бане при температуре  $50-60^\circ\text{C}$  в течение 10-15 минут, перемешивая содержимое стеклянной палочкой. Затем жидкость профильтровать в сухую пробирку через маленький складчатый фильтр, фильтрат разделить на две пробирки (сухую).

К содержимой одной пробирки добавить равный объем ацетона. Отметить выпадение осадка в виде мути при стоянии.

К содержимому другой пробирки добавить равный объем 10% раствора едкого натра и кипятить 3-5 минут. В результате гидролиза фосфатидилхолин распадается на глицерин, жирные кислоты, холин и фосфорную кислоту.

Холин в щелочной среде превращается в триметиламин, который имеет запах селедочного рассола.

#### 7.5. Контроль освоения темы занятия.

##### Решение типовой задачи.

Задача. У детей часто вирус гриппа нарушает синтез фермента карбамаилфосфатсинтетазы. При этом возникает рвота, головокружение, судороги, возможна потеря сознания. Укажите причину наблюдаемых симптомов. Для этого вспомните первые этапы орнитинового цикла. Укажите, концентрация какого вещества повышается в крови больного. Объясните механизм его токсического действия на нервную систему.

##### Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

##### Примерные темы реферативных сообщений по УИРС:

1. Современные представления о биохимических особенностях памяти.
2. Физиологически активные пептиды мозга.
3. Тормозные нейромедиаторы: глицин и ГАМК. Применение в терапии.

**Задание на дом:** Контрольное занятие по модулю «Функциональная биохимия».

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020

- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.



## Лабораторное занятие № 9

**1. Тема и ее актуальность:** Контрольное занятие по модулю «Функциональная биохимия».

**2. Учебные цели:** закрепить знания студентов о химическом составе и основных закономерностях протекания метаболических процессов отдельных органов и тканей, определяющих состояние здоровья и адаптации человека; выявить степень усвоения студентами учебного материала.

**Перечень формируемых компетенций:** УК-1, ОПК-1,2

**3. Материалы для самоподготовки:**

1. Белки крови. Отдельные белковые фракции, разделение методом электрофореза, характеристика отдельных белков. Небелковые компоненты крови.

2. Конститутивные и индикативные ферменты плазмы крови, диагностическое значение их определения.

3. Дыхательная функция крови: механизм переноса кислорода и углекислого газа. Буферные системы крови, понятие о щелочном резерве, ацидозе и алкалозе. Особенности метаболизма эритроцита.

4. Система гемостаза. Характеристика основных функционально-структурных компонентов гемостаза: эндотелия сосудов; тромбоцитов, основных тромбоцитарных факторов гемостаза; плазменных факторов свертывания крови.

5. К-витаминозависимые факторы, роль витамина К в их посттрансляционной модификации,  $\gamma$ -карбоксихлутаминовая кислота. Биохимические механизмы образования фибрин-полимера.

6. Внешний и внутренний пути свертывания крови. Каскадные механизмы активации реакций свертывания.

7. Противосвертывающая система, антикоагулянты: кальций-связывающие, антивитамины К, антитромбины и гепарин. Система фибринолиза. Понятие о ДВС-синдроме.

8. Основные белки иммунной системы. Иммуноглобулины. Строение. Характеристика строения антител. Специфичность взаимодействия антитело-антиген. Особенности синтеза антител. Представления о строении и функциях Т-рецепторов и белков главного комплекса гистосовместимости.

9. Механизмы обезвреживания чужеродных макромолекул, бактерии, вирусов и мутантных клеток. Понятие о комплементе. Роль активных форм кислорода в бактерицидном действии фагоцитирующих лейкоцитов.

10. Биохимия печени. Роль печени в обмене белков, углеводов, липидов. Барьерная функция печени.

11. Экскреторная функция печени. Химический состав желчи. Первичные и вторичные желчные кислоты. Функциональные пробы, отражающие экскреторную функцию печени.

12. Важнейшие механизмы обезвреживания веществ в печени: микросомальное окисление, реакции конъюгации. Примеры обезвреживания чужеродных веществ (ксенобиотиков) и продуктов гниения белков (фенол,

крезол, индол). Значение метаболизма лекарственных веществ. Представление о химическом канцерогенезе.

13. Химический состав мышц: важнейшие белки (миозин, актин, актомиозин, тропонин) и экстрактивные вещества. Биосинтез креатинина, обмен креатинфосфата. Биохимические механизмы мышечного сокращения и расслабления.

14. Биохимические особенности сердечной мышцы. Клинико-биохимические исследования при инфаркте миокарда.

15. Важнейшие белки межклеточного матрикса: коллаген, эластин. Биосинтез и созревание коллагена. Участие витамина С в синтезе коллагена. Экскреция оксипролина - показатель скорости распада коллагена.

16. Структурная организация и основные функции межклеточного матрикса и соединительной ткани. Протеогликаны. Гликозаминогликаны. Роль соединительной ткани в заживлении ран.

17. Биохимия нервной ткани. Особенности химического состава и метаболизма нервной ткани (липиды, белки, аминокислоты, углеводы, энергетический обмен). Особенности химического состава цереброспинальной жидкости.

18. Проведение и передача нервного импульса. Потенциал покоя и потенциал действия. Синапсы, синаптическая передача. Нейротрансмиттеры.

**4. Вид занятия:** итоговое занятие.

**5. Продолжительность занятия:** 4 часа

**6. Оснащение:** компьютеры, плакаты, таблицы, ситуационные задачи.

**7. Содержание занятия:**

Студентам предстоит пройти компьютерное тестирование. Каждому студенту будет предложено ответить на ряд тестовых заданий. Условием допуска до устного собеседования является успешное выполнение не менее 70 % тестов.

При собеседовании студент должен ответить на контрольные вопросы из модуля.

Место проведения самоподготовки:

Учебная комната для самостоятельной работы студентов.

## Литература

### *Основная литература*

1. Биологическая химия С.Е. Северин и др. М.: МИА, 2015. – 495 с..
2. Биохимия (электронный ресурс). Под ред. Е.С.Северина. М.:ГЭОТАР-МЕДИА, 2019, 5-е изд.

### *Дополнительная литература*

- 1 Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты.(Электронный ресурс): учебное пособие Под редакцией А.Е. Губаревой. – Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016

- 2 Основы молекулярной диагностики. Метаболомика (электронный ресурс): учебник Ю.А. Ершов Электронные текстовые данные. М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 2016
- 3 Биохимия тканей : учебное пособие Л. П. Никитина, А. Ц. Гомбоева, Н. В. Соловьева.- Электронные текстовые данные.Издательство ЧГМА, 2015.
- 4 Клеточная инженерия. Практические аспекты получения и использования клеточных культур в медицине : учебное пособие / Е. В. Пименова, Т. В. Замарина - Электронные текстовые данные. Волгоград : ВолгГМУ, 2020
- 5 Регенеративная медицина и клеточные технологии в практической медицине / С. С. Сапарбаев. Астана : ЗКМУ, 2020
- 6 Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / Под ред. С. Е. Северина М. : ГЭОТАР- МЕДИА.- 20166.  
[http://www.biochemistry.ru/biohimija\\_severina/B5873Content.html](http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html)
7. <http://www.xumuk.ru/biologhim/>
8. <http://www.xumuk.ru/>
9. Lippincott Proprietary Title Collection [Electronic resource]: data base of electronic journals.- Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2012]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)
10. LWW Medical Book Collection 2011 [Electronic resource]: data base of electronic books in medicine and nursing. – Electronic text data. Lippincott Williams & Wilkins. New York: Ovid Technologies, Inc., [2011]. – URL: <http://ovidsp.ovid.com>. (На сайте)

Подписи авторов  
Хайбуллина З.Г.  
Глазутдинова Л.Р.