

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

# **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ**

Учебно-методическое пособие



Минск БГМУ 2011

УДК 577.1 (075.8)  
ББК 28.072 я73  
Б63

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве  
учебно-методического пособия 30.03.2011 г., протокол № 7

А в т о р ы: проф. А. Д. Таганович; доц. И. Л. Котович; доц. Э. И. Олецкий; доц.  
Т. В. Василькова; доц. Ж. А. Рутковская; доц. Н. Н. Ковганко

Р е ц е н з е н т ы: зав. каф. биологии, доц. В. Э. Бутвиловский; зав. каф. биоорганиче-  
ской химии, доц. О. Н. Ринейская

Биологическая химия. Дополнительное руководство к практическим занятиям :  
Б63 учеб.-метод. пособие / А. Д. Таганович [и др.]. – Минск : БГМУ, 2011. – 48 с.

ISBN 978-985-528-411-7.

Настоящее издание является дополнением к учебно-методическому пособию «Биологическая химия / А. Д. Таганович и др. Минск : БГМУ, 2009» и охватывает все изменения, которые были внесены в рабочие программы по биологической химии. Для удобства сохранена старая нумерация тем. Поэтому добавленная новая тема семинара «Обмен липидов. Регуляция липидного обмена» обозначена номером 16а.

Предназначено для студентов 2-го курса лечебного, педиатрического, медико-профилактического и военно-медицинского факультетов, медицинского факультета иностранных учащихся.

УДК 577.1 (075.8)  
ББК 28.072 я73

ISBN 978-985-528-411-7

© Оформление. Белорусский государственный  
медицинский университет, 2011

## Оглавление

16. Внутриклеточный обмен жирных кислот. Кетоновые тела. Количественное определение холестерина в сыворотке крови .....	4
16а. Обмен липидов. Регуляция липидного обмена (Семинар).....	9
23. Матричные биосинтезы (синтез ДНК, РНК, белков).....	10
28. Белки плазмы крови. Система свертывания крови .....	16
29. Биохимия печени. Интеграция метаболизма .....	23
33. Биохимия питания. Минеральные вещества. Регуляция водно-электролитного баланса .....	32
34. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по темам «Гормоны, биохимия крови, биохимия печени. Биохимия питания, биохимия мочи. Интеграция метаболизма».....	37
Приложение. Перечень экзаменационных вопросов по биологической химии .....	40

## 16. Тема занятия: Внутриклеточный обмен жирных кислот. Кетоновые тела. Количественное определение холестерина в сыворотке крови

### Актуальность темы

Жирные кислоты — неотъемлемый составной компонент большинства липидов. Понимание механизмов синтеза и распада жирных кислот имеет большое практическое значение в деятельности врача. Многие болезни, врожденные и приобретенные, определяются нарушениями в соотношении процессов анаболизма и катаболизма жирных кислот. Нарушение соотношения незаменимых жирных кислот в питании может приводить к существенным изменениям в составе эйкозаноидов и, как следствие, к различной патологии.

Один из важных показателей липидного обмена — содержание кетоновых тел. Кетоновые тела содержатся в крови здорового человека в небольших количествах. Однако, при сахарном диабете, голодании концентрация кетоновых тел может повышаться в несколько раз, развивается кетонемия.

**Цель занятия:** изучить процессы окисления и синтеза жирных кислот. Сформировать представление об эйкозаноидах и их функциях. Приобрести навыки определения холестерина и кетоновых тел.

**Требования к исходному уровню знаний.** Для полного усвоения темы необходимо повторить:

а) из биорганической химии:

– реакции альдольной конденсации, формирование и характеристика сложноэфирной связи, высшие жирные кислоты (строение, номенклатура, свойства); ПОЛ, продукты ПОЛ;  
– кетоновые тела и их свойства;

б) биологической химии:

– окислительное фосфорилирование, дихотомический распад глюкозы, пентозофосфатный путь; центральные пути метаболизма (окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты, ЦТК).

**Для проверки исходного уровня знаний выполните следующее задание:**

*Задание 1.* Определите количество моль АТФ, синтезируемое за счет полного окисления одного моля:

- |                        |            |
|------------------------|------------|
| 1. Глюкозы.            | А. 17.     |
| 2. Ацетил-КоА.         | Б. 18.     |
| 3. Сукцинил-КоА.       | В. 10.     |
| 4. Фосфодиоксиацетона. | Г. 25.     |
|                        | Д. 32(30). |

*Задание 2.* В исследуемой моче определили выраженную кислую реакцию за счет вещества, обладающего свойствами кетонов. Какое из перечисленных веществ может обусловить это изменение рН мочи?

- |                           |                      |                      |
|---------------------------|----------------------|----------------------|
| А. Ацетон.                | Б. Янтарная кислота. | В. Угольная кислота. |
| Г. Ацетоуксусная кислота. | Д. Уксусная кислота. |                      |

*Задание 3.* В моче больного с выраженной кислой реакцией определили содержание β-гидроксibuтирата. Из какого предшественника он может образоваться?

- |                      |                            |                      |
|----------------------|----------------------------|----------------------|
| А. Ацетон.           | Б. Ацетоуксусная кислота.  | В. Масляная кислота. |
| Г. Янтарная кислота. | Д. γ-Оксимасляная кислота. |                      |

*Правильность решения проверьте, сопоставив его с эталоном ответа*

### Вопросы для обсуждения

1.  $\beta$ -Окисление как центральный путь катаболизма жирных кислот. Субклеточная локализация процесса, активация жирных кислот, транспорт в митохондрии. Химизм окисления, участие витаминов. Сопряжение с процессом окислительного фосфорилирования и энергетический выход.  $\beta$ -Окисление жирных кислот с нечетным количеством углеродных атомов, ненасыщенных жирных кислот. Особенности  $\beta$ -окисления в пероксисомах.

2.  $\alpha$ - и  $\omega$ -окисление как вторичные пути обмена жирных кислот. Субклеточная локализация, продукты, биологическая роль.

3. Биосинтез жирных кислот. Субклеточная локализация, субстраты, химизм, регуляция. Особенности строения ацилсинтазы. Роль малик-фермента.

4. Синтез ненасыщенных жирных кислот: субстраты, ферментные системы. Высоко-непредельные жирные кислоты как незаменимые факторы питания: представители, биологическая роль.

5. Метаболизм арахидоновой кислоты. Биосинтез эйкозаноидов (простагландины, простагланцины, лейкотриены, тромбоксаны) и их биологическая роль.

6. Кетогенез: тканевая и субклеточная локализация, субстраты, химизм. Оксиметилглутарилловый и деацилазный пути образования кетонных тел. Молекулярные механизмы кетонемии при сахарном диабете, недостаточном углеводном питании, голодании. Утилизация кетонных тел (взаимопревращения, активация, включение в метаболизм, энергетика окисления).

7. Ацетил-КоА как центральный метаболит. Пути его потребления в клетках. Взаимосвязь липидного и углеводного обмена. Пути превращения глицерола в клетках. Энергетический баланс окисления глицерола.

### Литература для подготовки

#### Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинوم, Асар, 2008. С. 234–249, 258–260.

2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 199–202, 293–305.

3. *Конспект лекций.*

#### Дополнительная

1. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.

2. *Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами* / под ред. Е. С. Северина, А. Я. Николаева. М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. С. 186–189, 193–198, 205–210.

### Задания для самостоятельной работы

*Задание 1.* Научитесь рассчитывать энергетический выход  $\beta$ -окисления жирных кислот. Для этого нужно помнить, что:

А. Число молей ацетил-КоА, образующихся в результате окисления жирных кислот с четным числом атомов углерода ( $n$ ), можно рассчитать по формуле:  $n/2$ .

Б. Каждый моль ацетил-КоА далее окисляется в ЦТК с образованием 10 моль АТФ.

В. В каждом витке  $\beta$ -окисления происходят две реакции дегидрирования, в которых восстанавливаются одна молекула НАД<sup>+</sup> (НАДН<sup>+</sup>) и одна молекула ФАД (ФАДН<sub>2</sub>), поэтому каждый виток дает 4 АТФ при сопряжении с процессом окислительного фосфорилирования.

Г. Число витков можно рассчитать по формуле:  $n/2 - 1$ , т. к. в последний виток  $\beta$ -окисления всегда вступает бутирил-КоА и при его расщеплении образуется два ацетил-КоА, а не один, как во всех предыдущих витках.

Д. Суммарный выход АТФ для  $\beta$ -окисления жирных кислот с четным числом атомов углерода можно рассчитать по формуле:

$$[(n/2) \cdot 10 + (n/2 - 1) \cdot 4] - 2^*$$

\* — 2 АТФ расходуется на активацию жирных кислот.

1.1. Решите задачу. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении одной молекулы трипальмитоилглицерола. Алгоритм:

А. Напишите реакцию гидролиза этого соединения.

Б. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении каждой молекулы пальмитиновой кислоты до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

В. Напишите реакции катаболизма глицерола (глицерол  $\rightarrow$  фосфоглицерол  $\rightarrow$  диоксиацетонфосфат  $\rightarrow$  глицеральдегидфосфат) до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Г. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении одной молекулы глицерола до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Д. Рассчитайте суммарный выход АТФ при полном окислении трипальмитоилглицерола.

1.2. При каком условии активируется  $\beta$ -окисление жирных кислот?

А. При уменьшении синтеза малонил-КоА в цитозоле.

Б. При увеличении концентрации НАДН<sup>+</sup> в митохондриях.

В. При гипоксии.

Г. При наличии большого количества глюкозы.

### Задание 2.

2.1. Напишите реакции первого витка синтеза пальмитиновой кислоты.

2.2. Напишите суммарное уравнение синтеза пальмитиновой кислоты и посчитайте количество циклов, необходимых для ее синтеза.

2.3. Сколько молекул глюкозы и какими путями нужно затратить, чтобы синтезировать 1 молекулу трипальмитоилглицерола?

2.4. Укажите, какие из приведенных ниже жирных кислот

1. Синтезируются в организме. А. 18:2 (9, 12).

2. Не синтезируются в организме. Б. 18:1 (9).

и должны поступать с пищей. В. 18:3 (9, 12, 15).

Г. 18:0.

Д. 16:0.

2.5. При каких условиях будет увеличиваться синтез жирных кислот?

А. При повышении концентрации глюкозы в крови после еды.

Б. При снижении секреции инсулина.

В. При увеличении секреции глюкагона.

Г. При дефосфорилировании ацетил-КоА-карбоксилазы.

Д. При избыточном поступлении жиров с пищей.

### Задание 3.

3.1. Укажите, какие функции регулируют перечисленные ниже эйкозаноиды:

1. Лейкотриены. А. Сокращение гладких мышц, липолиз, секреция, проницаемость, электролитный баланс, свертывание крови.

2. Простагландины. Б. Хемотаксис, воспаление, аллергические реакции, сокращение гладкой мускулатуры бронхов и ЖКТ.

3. Тромбоксаны. В. Агрегация тромбоцитов, сужение сосудов и бронхов, регуляция уровня цАМФ в тромбоцитах.

3.2. Известно, что аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу.

А. Объясните, почему аспирин в малых дозах может применяться для предотвращения образования тромбов.

Б. У некоторых людей (с генетической предрасположенностью) принятие аспирина может вызвать приступ бронхиальной астмы — так называемую аспириновую астму. Помогут ли данному больному стероидные препараты?

*Задание 4.* Изучить пути образования кетоновых тел в печени и их метаболизм. Обратит внимание на то, что ацетоацетат и  $\beta$ -гидроксибутират образуются в норме в небольших количествах, а ацетон — лишь при значительном накоплении кетоновых тел (голодание, сахарный диабет).

4.1. Какие органы в норме используют ацетоацетат в качестве источника энергии?

А. Печень.           Б. Сердце.

В. Мозг.           Г. Скелетная мускулатура.

4.2. Оценить энергетический эффект (в моль АТФ) окисления 1 моль ацетоацетата до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Расчет записать:

*Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.*

### **Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)**

*Задание 1.*

1.1. Один цикл  $\beta$ -окисления включает четыре последовательные реакции. Выберите правильную последовательность:

А. Окисление, дегидратация, окисление, расщепление.

Б. Восстановление, дегидрирование, восстановление, расщепление.

В. Дегидрирование, гидратация, дегидрирование, расщепление.

Г. Гидрирование, дегидратация, гидрирование, расщепление.

Д. Восстановление, гидратация, дегидрирование, расщепление.

1.2. Известно наследственное заболевание, при котором в скелетных мышцах снижена концентрация карнитина в результате дефекта ферментов, участвующих в его синтезе. Ответьте на вопросы:

А. Как скажется на способности выполнять длительную работу снижение концентрации карнитина?

Б. Под микроскопом в клетках таких мышц видны вакуоли жира. Объясните их происхождение.

*Задание 2.*

2.1. Охарактеризуйте виды окисления жирных кислот:

<b>Вид окисления</b>	<b>Локализация</b>	<b>Виды окисляемых жирных кислот</b>
$\omega$ -Окисление		
$\alpha$ -Окисление		
$\beta$ -Окисление	1)	
	2)	

2.2. Врожденная недостаточность какого фермента приводит к болезни Рефзума?

### Задание 3.

3.1. Изучив метаболизм жирных кислот, заполните таблицу (в рабочей тетради):

Процессы	$\beta$ -Окисление	Биосинтез
Локализация процесса		
Исходный субстрат		
Переносчик субстрата через митохондриальную мембрану		
Коферменты окислительно-восстановительных реакций		
Источник присоединяемого фрагмента или отщепляемый фрагмент		
Регуляторные ферменты		
Регулирующие факторы		
Активаторы		
Ингибиторы		

#### Эталоны ответов к решению заданий

*Для самопроверки исходного уровня знаний:*

1 — (1 – Д; 2 – В; 3 – Г; 4 – А); 2 – А, Г; 3 – Б.

*Для самостоятельной работы:*

1.1 — 336,5.

1.2 — А.

2.3 — 34 молекулы глюкозы.

2.4 — (1 – Б, Г, Д; 2 – А, В).

2.5 — (А, Г).

3.1 — (1 – Б; 2 – А; 3 – В).

4.1. – Б, Г.

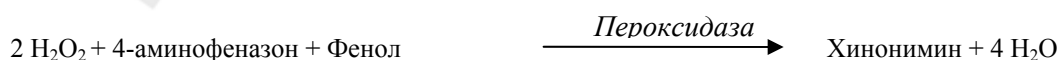
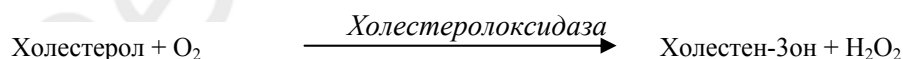
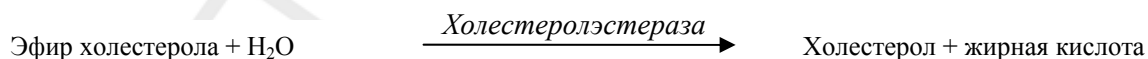
4.2. – 20 АТФ.

#### Самостоятельная работа (60 минут)

##### Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Определение концентрации холестерина в сыворотке крови ферментативным методом*

*Принцип метода.* Определение холестерина после его ферментативного гидролиза и окисления. Индикатором является хинонимин, образуемый из перекиси водорода и 4-аминофеназона в присутствии фенола и пероксидазы.



Образующийся продукт имеет розовую окраску. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации холестерина и измеряется фотометрически.



*Ход работы.* Холестерол определяют в сыворотке крови. Реактивы добавляют по следующей схеме:

	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
В пробирки вносят:		
Сыворотка крови	0,02	–
Стандартный раствор холестерина	–	0,02
Рабочий раствор ферментов	2,0	2,0
Перемешивают и инкубируют реакционную смесь 5 мин при 37 °С или 10 мин при комнатной температуре		

По окончании инкубации измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб на ФЭК (длина волны 540 нм) в кюветках с толщиной слоя 5 мм против контроля.

**Контрольная проба** содержит 2,0 мл рабочего раствора ферментов. Контрольную пробу можно готовить одну на группу.

**Расчет.** С холест. (ммоль/л) =  $5,17 \times (E \text{ пробы} / E \text{ станд.})$

Норма — 3,9–6,2 ммоль/л холестерина в сыворотке крови (150–240 мг%).

**Клинико-диагностическое значение.** При нарушении жирового обмена холестерол может накапливаться в крови. Увеличение уровня холестерина в плазме крови (гиперхолестеролемиа) наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, механической желтухе, нефрите, нефрозе (особенно при липоидных нефрозах), гипотиреозе. Понижение холестерина в крови (гипохолестеролемиа) наблюдается при анемиях, голодании, туберкулезе, гипертиреозе, раковой кахексии, паренхиматозной желтухе, поражении центральной нервной системы, лихорадочных состояниях, при введении инсулина.

## Работа 2. **Качественные реакции на ацетон и ацетоуксусную кислоту**

### *Порядок выполнения работы*

1. Проба Легалья на ацетон. Ацетон и ацетоуксусная кислота в щелочной среде образуют с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание. После подкисления ледяной уксусной кислотой образуется соединение вишневого цвета.

В пробирку вносят 1 каплю мочи, 1 каплю 10%-ного раствора NaOH и 1 каплю свежеприготовленного нитропруссид натрия. Появляется оранжево-красное окрашивание. Добавляют 3 капли ледяной уксусной кислоты, появляется вишнево-красное окрашивание.

2. Реакция Герхардта на ацетоуксусную кислоту. К 5 каплям мочи прибавляют по каплям 5%-ный раствор хлорного железа; при этом выпадает осадок фосфатов в форме  $FePO_4$ . При наличии ацетоуксусной кислоты от дальнейшего прибавления хлорного железа появляется вишнево-красное окрашивание. При стоянии окраска бледнеет вследствие самопроизвольного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты. При кипячении процесс протекает очень быстро.

**Клинико-диагностическое значение.** Гиперкетонемия и кетонурия наблюдаются при сахарном диабете, голодании, гиперпродукции гормонов-антагонистов инсулина.

## **16а. Тема занятия: Семинар: Обмен липидов. Регуляция липидного обмена.**

**Цель занятия:** обобщить знания по обмену липидов.

**Требования к исходному уровню знаний.** Для полного усвоения темы необходимо повторить из *биологической химии* темы занятий 14, 15, 16.

### Вопросы для обсуждения

1. Классификация липидов, их биологическая роль.
2. Переваривание, всасывание экзогенных липидов, ресинтез и транспорт в составе хиломикронов.
3. Транспортные формы липидов в крови. Строение и метаболизм липопротеинов (ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП, ЛПВП и хиломикронов).
4. Биосинтез холестерина и механизмы регуляции баланса холестерина в клетках.
5. Синтез и мобилизация липидов из жировой ткани. Регуляция процессов.
6.  $\beta$ -Окисление как центральный путь катаболизма жирных кислот. Субклеточная локализация, продукты, биологическая роль.  $\alpha$ - и  $\omega$ -Окисление как вторичные пути обмена жирных кислот.
7. Биосинтез насыщенных жирных кислот.
8. Синтез ненасыщенных жирных кислот: субстраты, ферментные системы.
9. Метаболизм арахидоновой кислоты. Биосинтез эйкозаноидов (простагландины, простациклины, лейкотриены, тромбоксаны) и их биологическая роль.
10. Образование и использование кетоновых тел.

### Литература для подготовки

#### Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 193–260.
2. *Конспект лекций*.

#### Дополнительная

1. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 276–317, 293–305.
2. *Мари, Р.* Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993. С. 256–298.

## 23. Тема занятия: Матричные биосинтезы (синтез ДНК, РНК, белков)

### Актуальность темы

Знание строения нуклеиновых кислот позволяет понять механизмы передачи и реализации генетической информации в клетке, овладеть основами понимания причин наследственных заболеваний и разработать методы их лечения. Нуклеотиды выполняют ряд специфических функций. Некоторые из них используются в качестве лекарственных препаратов.

**Цель занятия:** усвоить молекулярные механизмы репликации, репарации, транскрипции, трансляции и механизмы их регуляции. Систематизировать эти знания и обсудить возможные механизмы нарушений реализации генетической информации для понимания последствий и подходов к лечению этих нарушений.

**Требования к исходному уровню знаний.** Для полного усвоения темы необходимо повторить:

#### а) из курса биологии:

- строение клетки;
- механизмы митоза и мейоза;

#### б) биоорганической химии:

- строение мононуклеотидов;
- общие принципы пространственной организации нуклеиновых кислот;
- биологическая роль нуклеиновых кислот.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

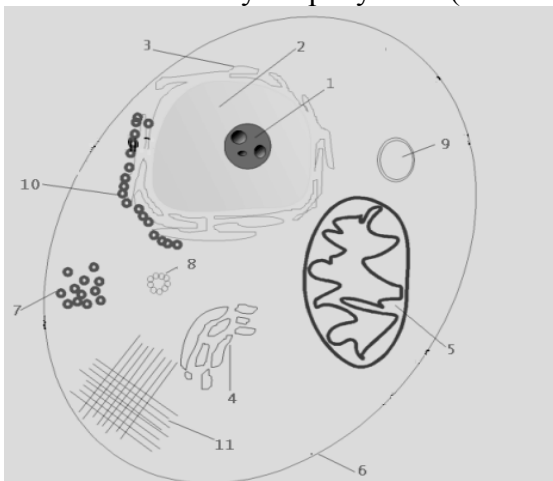
Задание 1. Подберите пары и напишите формулу:

Название	Составные части
А. Гуанозин	1. Рибоза, фосфат, аденин
Б. Адениловая кислота	2. Дезоксирибоза, тимин
В. Уридин	3. Гуанин, рибоза
Г. ДезоксиЦМФ	4. Урацил, рибоза
Д. Тимидин	5. Фосфат, дезоксирибоза, цитозин

Задание 2. Выберите, что относится только к ДНК, только к РНК, к ДНК и РНК:

- А. Хранение генетической информации.
- Б. А, Г, Т, Ц.
- В. Цитоплазма.
- Г. 3',5'-фосфодиэфирная связь между мононуклеотидами.
- Д. Дезоксирибоза.
- Е. Реализация генетической информации.
- Ж. Рибоза.
- З. Ядро.
- И. А, Г, У, Ц.
- К. Стабильность структуры поддерживается Н-связями.

Задание 3. Пользуясь рисунком (использовать цифру), подберите пары:



- А. Рибосомы.
- Б. Гладкая эндоплазматическая сеть.
- В. Шероховатая эндоплазматическая сеть.
- Г. Аппарат Гольджи.
- Д. Лизосомы.
- Е. Плазматическая мембрана.
- Ж. Цитоскелет.
- З. Ядро.
- И. Ядрышко.
- К. Митохондрия.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

### Вопросы для обсуждения

1. Репликация, биологическая роль, субстраты, ферменты, молекулярный механизм.
2. Репарация ДНК, молекулярный механизм, биологическая роль.
3. Транскрипция, биологическая роль, молекулярный механизм, механизмы регуляции активности генов (схема Жакоба и Моно, схема Георгиева), процессинг РНК. Обратная транскрипция.
4. Генетический код и его свойства.
5. Рекогниция и трансляция как этапы реализации генетической информации в клетке. Компоненты белоксинтезирующей системы. Рекогниция (субклеточная локализация, схема, субстратная специфичность АРСаз). Роль тРНК в синтезе белка.
6. Современное представление о биосинтезе белка. Регуляция биосинтеза белка в клетке на генетическом уровне (роль гистонов, гормонов и жирорастворимых витаминов).

Посттрансляционная модификация молекул белка (гидроксигирование, гликозилирование, ограниченный протеолиз, фосфорилирование, карбоксилирование).

7. Современные методы молекулярной биологии (ЦПР, блот-анализ ДНК и РНК (Саузерн-блот и Нозерн-блот), метод «отпечатков пальцев ДНК», клонирование). Принципы проведения, применение в медицине.

8. Метод определения последовательности нуклеотидов в ДНК (метод Сэнджера).

### Литература для подготовки

#### Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 338–418.
2. *Конспект лекций*.

#### Дополнительная

1. *Мари, Р.* Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 377–389, 399–422.
3. *Нуклеопротеины* : учеб. пособие / А. Д. Таганович [и др.]. Минск, 2000.

### Задания для самостоятельной работы

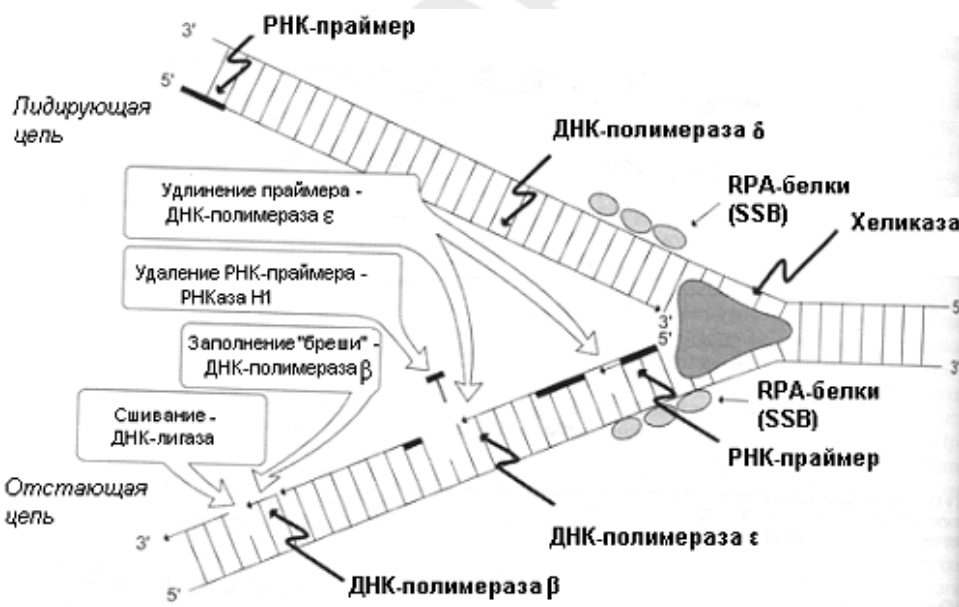
*Задание 1.* Вспомните, что основная «догма» молекулярной биологии указывает на два основных направления потока генетической информации в клетке:

А. Хранение и передача информации (репликация и репарация).

Б. Реализация генетической информации — экспрессия генов (рекогниция, транскрипция и трансляция).

На рисунке показаны основные участники механизма репликации у эукариот:

1.1. Напишите в общем виде суммарную реакцию, катализируемую ДНК-полимеразой.



*Задание 2.* Вспомните, что в процессе синтеза и во время хранения молекулы ДНК подвергаются многочисленным физическим, химическим и другого рода воздействиям, которые вызывают нарушения структуры молекул ДНК. Существует многоуровневая система репарации повреждений:

– мутации, которые возникают в процессе репликации. Репарируются (если это возможно) путем повторного считывания последовательности, удаления неправильно вставленного нуклеотида ДНК-полимеразами, обладающими экзонуклеазной активностью;

– мутации, которые не исправлены путем повторного считывания. Репарируют при помощи специальной пострепликативной репарации. Молекула родительской ДНК метилирована по отдельным азотистым основаниям, и вновь синтезируемая цепь также метилируется. Во время метилирования идет проверка правильности расположения мононуклеотидов, и в случае обнаружения мутации включается механизм эксцизионной репарации с последующим метилированием цепи;

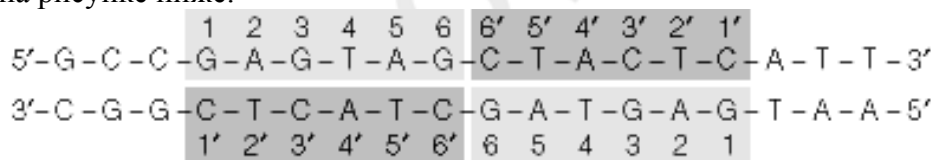
– мутации, возникающие спонтанно, в любое время репарируются механизмом эксцизионной репарации.

2.1. На рисунке изображена последовательность событий эксцизионной репарации в случае образования димера тимина в структуре ДНК. Расставьте в последовательности, обозначенной на рисунке, следующие ферменты: А. ДНК-лигаза. Б. Эксцизионная нуклеаза.

В. ДНК-β-полимераза.

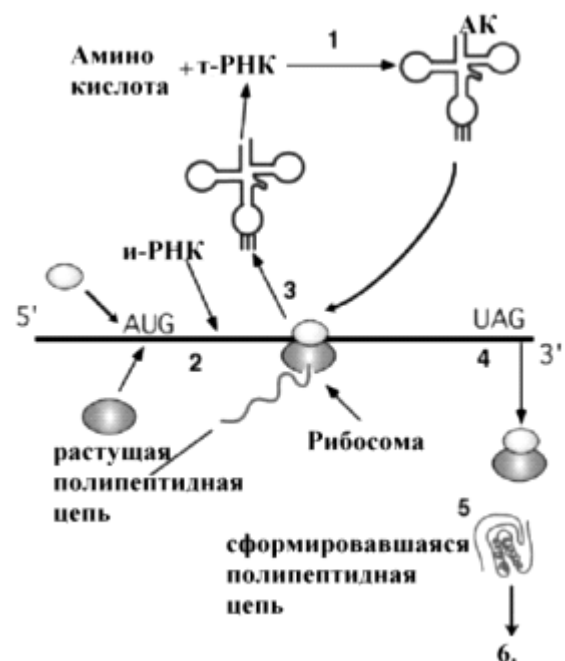
*Задание 3.* Вспомните, что среди механизмов узнавания белками (ферментами, факторами регуляции и т. д.) отдельных участков нуклеотидных последовательностей определенную роль играют палиндромные последовательности нуклеотидов (в частности, при узнавании ДНК-рестриктазами), которые могут формировать крестообразные структуры в молекуле ДНК.

3.1. Изобразите крестообразную структуру из палиндромной последовательности, показанной на рисунке ниже.



*Задание 4.* Механизмы реализации генетической информации в клетке многоэтапны. На рисунке изображены основные этапы экспрессии генов. Подберите пары (буква — таблица, цифра — рисунок).

А. Терминация	
Б. Рекогниция	
В. Инициация	
Г. Секреция	
Д. Формирование пространственной структуры	
Е. Элонгация	



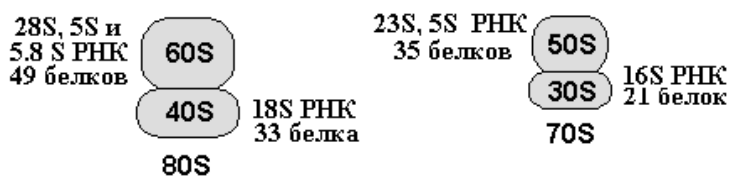
Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

## Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

**Задание 1.** Напишите реакцию, катализируемую АРСазой.

**Задание 2.** Почему  $60S+40S=80S$ , а  $50S+30S=70S$ ? Выберите правильный ответ.

1. Скорость седиментации зависит от массы частиц.
2. Скорость седиментации зависит от формы частиц.
3. От того и другого.



**Задание 3.** На рисунке показана схема структуры lac-оперона.



CAP (катаболитами активируемый белок). Этот белок — рецептор цАМФ, уровень которой в клетке определяется уровнем глюкозы (снижение количества глюкозы в питательной среде приводит к повышению уровня цАМФ в клетке). CAP, связанный с цАМФ, присоединяется к ДНК и стимулирует РНК-полимеразу, при этом ее активность увеличивается в 20–50 раз.

Репрессор связан с опероном в отсутствии лактозы.

А. Дополните строку:

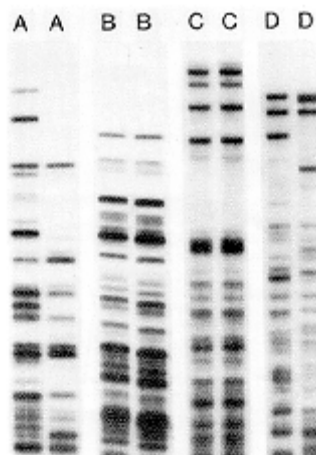
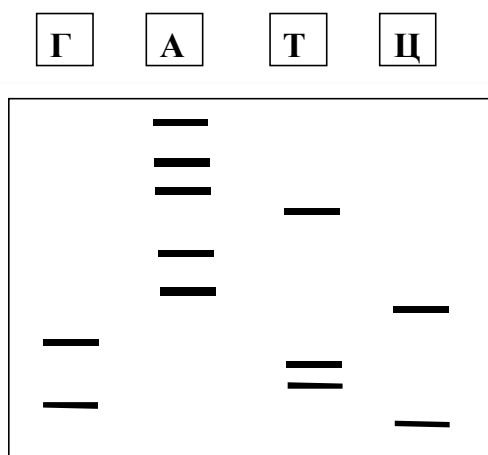
промотор — место связывания \_\_\_\_\_;

оператор — место связывания \_\_\_\_\_.

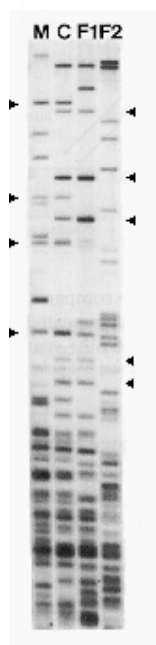
Б. Изобразите схематически, используя предлагаемые выше формы для участников, их расположение на опероне при следующих 4 состояниях. В каком из них будут синтезированы белки, кодируемые опероном?

Компонент среды	1	2	3	4
Лактоза	+	–	–	+
Глюкоза	+	+	–	–

**Задание 4.** На рисунке ниже приводятся результаты электрофореза фрагментов участка молекулы ДНК (метод Сэнджера). Попытайтесь выяснить на основании этих результатов нуклеотидную последовательность анализируемого участка ДНК. Какая аминокислотная последовательность закодирована в этом участке? Буквы в скобках обозначают соответствующие дидезоксинуклеотиды, вносимые в реакционную среду ДНК-полимеразной реакции. Таблицу генетического кода смотрите в учебнике.



**Задание 5.** Электрофореграмма справа показывает результаты исследования полиморфизма длины фрагментов рестрикции 4 пар близнецов. Ваше мнение об идентичности близнецов.



**Задание 6.** Слева «отпечатки пальцев» ДНК матери (M), ребенка (C) и двух предполагаемых отцов (F1, F2). Указатели на левой стороне указывают полосы ДНК, общие между ребенком и матерью. Указатели на правой стороне указывают полосы ДНК, общие между ребенком и предполагаемыми отцами. Ваше мнение о предполагаемом отце.

#### Эталоны ответов к решению заданий

**Для самопроверки исходного уровня знаний:**

1. А – 3, Б – 1, В – 4, Г – 5, Д – 2.
2. ДНК – А, Б, Д. РНК – В, Е, Ж, И. ДНК и РНК – Г, К, З.
3. А – 7; Б – 3; В – 10; Г – 4; Д – 9; Е – 6; Ж – 11, 3 – 2; И – 1; К – 5.

**Для самостоятельной работы:**

2. 1 – Б; 2 – В; 3 – А.
4. А – 4; Б – 1; В – 2; Г – 6; Д – 5; Е – 3.

#### Самостоятельная работа (30 минут)

##### Инструкция к практическому занятию

##### Работа. Анализ продуктов гидролиза нуклеопротеинов дрожжей

Для изучения химического состава нуклеопротеинов проводят кислотный гидролиз дрожжей, поскольку они очень богаты нуклеопротеинами. Специфическими реакциями для каждого вещества открывают продукты гидролиза — полипептиды, пуриновые основания, углевод и фосфорную кислоту.

**Принцип метода.** Пекарские дрожжи гидролизуют под действием разбавленной серной кислоты. Полученный гидролизат используют для дальнейшей работы.

**Работа 1. Биуретовая реакция на полипептиды.** К 5 каплям гидролизата приливают 10 капель 10%-ного раствора едкого натра, затем 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди. Отмечают появление розово-фиолетовой окраски.

**Работа 2. Серебряная проба на пуриновые основания.** К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 10 капель концентрированного раствора аммиака, затем добавляют

10 капель 2%-ного аммиачного раствора нитрата серебра. При стоянии через 3–5 мин образуется светло-коричневый осадок серебряных солей пуриновых оснований (содержимое пробирки перемешивать при стоянии не надо).

**Работа 3. Качественная реакция на пентозу (Молиша).** К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 3 капли 1%-ного спиртового раствора тимола, перемешивают и по стенке пробирки осторожно приливают 20–30 капель концентрированной серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется продукт конденсации красного цвета.

**Работа 4. Молибденовая проба на фосфорную кислоту.** К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 20 капель молибденового реактива и кипятят. При этом жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет (не осадок). Пробирку сразу охлаждают в струе холодной воды. На дне пробирки появляется кристаллический лимонно-желтый осадок фосфорномолибденовой кислоты.

## 28. ТЕМА ЗАНЯТИЯ. Белки плазмы крови. Система свертывания крови

### Актуальность темы

Наряду с определением общего белка плазмы крови важное диагностическое значение имеет выяснение количественных взаимоотношений между отдельными фракциями белков. На занятии студенты знакомятся с электрофоретическим разделением белков сыворотки крови, проводят количественную оценку протеинограмм. Тема «Гемостаз. Система свертывания крови» — традиционно сложная для студентов. Понимание процессов свертывания крови и фибринолиза — основа для дальнейшего изучения вопросов диагностики, лечения, профилактики тромбозов (тромбоэмболий) и геморрагий.

**Цель занятия:** ознакомиться с принципами исследования белкового состава крови, понять диагностическое значение определения количественного соотношения белковых фракций и отдельных белков плазмы крови. Получить представление о механизмах гемостаза и изучить функционирование системы свертывания крови.

**Требования к исходному уровню знаний.** Для полного усвоения темы необходимо повторить:

а) из *общей химии*:

– титрометрические методы анализа;

б) *биоорганической химии*:

– «цитратная кровь»;

в) *нормальной физиологии*:

– гемостаз;

г) *биологической химии*:

– физико-химические свойства белков, методы разделения белков (высаливание, электрофорез), количественное определение белка плазмы крови.

**Для проверки исходного уровня знаний ответьте на следующие вопросы:**

1. Что понимают под гемостазом? Виды гемостаза.

2. Что такое «цитратная кровь»?

### Вопросы для обсуждения

1. Белки плазмы крови. Основные белковые фракции: альбумины, глобулины, фибриноген (содержание, функции); альбумино-глобулиновый коэффициент и его диагностическое значение. Биологическая роль и диагностическое значение некоторых белков плазмы крови (гаптоглобин, трансферрин, церулоплазмин, ингибиторы трипсина, С-реактивный белок, интерферон, криоглобулины).



2. Ферменты плазмы крови (секреторные, индикаторные, экскреторные). Диагностическое значение определения активности ферментов плазмы крови.

3. Представление о гемостазе (определение, структурно-функциональные компоненты, сосудисто-тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз). Система свертывания крови (функциональные звенья и их биологическая роль). Представление о нарушениях функционирования системы свертывания крови.

4. Свертывающая система (компоненты и их происхождение), гемокоагуляция (определение, фазы и их продолжительность, источники тромбопластинов). Внешний и внутренний механизмы свертывания крови.

5. Витамин К (химическая природа, разновидности, природные источники, роль в гемокоагуляции).

6. Антикоагулянтная система, классификация физиологических антикоагулянтов: первичные и вторичные (представители, механизм действия). Представление об искусственных антикоагулянтах прямого и непрямого действия.

7. Фибринолитическая система, механизмы фибринолиза. Плазминовая система (компоненты и их происхождение, механизм действия).

8. Представление о коагулограмме (ориентировочные тесты).

### Литература для подготовки

#### Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинوم, Асар, 2008. С. 551–585.
2. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 143–145, 439–447, 464–472.
3. Конспект лекций.

#### Дополнительная

1. Иванов, Е. П. Руководство по гемостазиологии / Е. П. Иванов. Минск : Беларусь, 1991. 304 с.
2. Василькова, Т. В. Молекулярные механизмы гемостаза : учеб. пособие / Т. В. Василькова. Минск : МГМИ, 1999. 57 с.

### Задания для самостоятельной работы

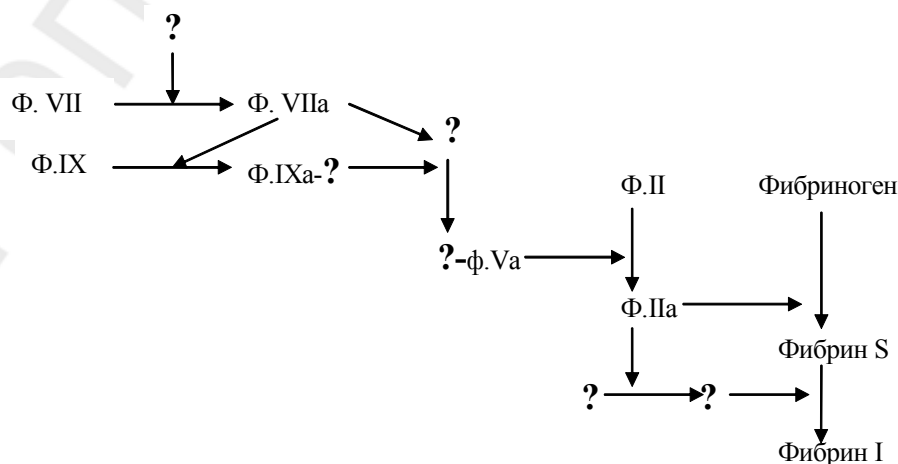
Задание 1. Назовите индикаторные ферменты крови и поясните их диагностическое значение.

Задание 2.

2.1. Напишите схему внутреннего пути свертывания крови.

2.2. Запомните активаторы фактора Хагемана.

2.3. На схеме внешнего механизма свертывания крови (см. справа) замените знак вопроса соответствующими факторами.



*Задание 3.* Назовите витамин К-зависимые факторы системы свертывания крови.

*Задание 4.* Умейте объяснить механизм действия основных физиологических антикоагулянтов.

4.1. Выберите из приведенных физиологических антикоагулянтов:

- |               |                     |                                      |
|---------------|---------------------|--------------------------------------|
| А. Первичные. | 1. Фибрин.          | 4. Протеины С и S.                   |
| Б. Вторичные. | 2. Антитромбин III. | 5. $\alpha_2$ -Макроглобулин.        |
|               | 3. Гепарин.         | 6. Ингибитор пути тканевого фактора. |
|               |                     | 7. Продукты деградации фибрина.      |

4.2. Ответьте на вопрос: почему у гомозиготных новорожденных с мутацией гена протеина С наблюдается распространенный тромбоз внутренних органов (врожденная молниеносная пурпура)?

4.3. Ответьте на вопрос: почему при бактериальных инфекциях, вызванных некоторыми стрептококками, наблюдаются диффузные кровотечения?

*Задание 5.* Назовите ориентировочные тесты коагулограммы, характеризующие:

- А. Общее состояние свертывания крови.
- Б. Состояние отдельных фаз гемокоагуляции.
- В. Посткоагуляционную фазу.
- Г. Антикоагулянтную систему.
- Д. Систему фибринолиза.

*Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.*

### **Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)**

*Задание 1.* Альбумины плазмы крови характеризуются:

- А. Хорошей растворимостью в воде.
- Б. Молекулярной массой около 70 000 Да.
- В. Содержат много дикарбоновых аминокислот.
- Г. Не являются гликопротеинами.
- Д. Содержание в плазме крови в норме составляет 35–50 г/л.

*Задание 2.* Укажите ошибочное утверждение. Альбумины плазмы крови:

- А. Синтезируются в эритроцитах.
- Б. Сравнительно быстро обновляются.
- В. Играют важную роль в создании онкотического давления.
- Г. Выполняют роль белкового резерва организма.
- Д. Осуществляют транспорт метаболитов (жирных кислот, билирубина, альдостерона,  $\text{Ca}^{2+}$ ) и лекарственных веществ (антибиотиков, сульфаниламидов, салицилатов, барбитуратов, сердечных гликозидов и др.).

*Задание 3.* Глобулины плазмы крови характеризуются:

- А. Большинство глобулинов — гликопротеины.
- Б. Имеют большую молекулярную массу в сравнении с альбуминами.
- В. Многие глобулины — сравнительно гидрофобные белки.
- Г. Выпадают в осадок только в насыщенном растворе  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .
- Д. Физиологические концентрации глобулинов в плазме крови — 20–35 г/л.

*Задание 4.* Укажите верные утверждения. Глобулины плазмы крови:

- А. Принимают участие в создании гуморального иммунитета.
- Б. Осуществляют транспорт органических веществ (метаболитов, гормонов, витаминов).
- В. Осуществляют транспорт катионов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и др.).
- Г. Являются ингибиторами протеолитических ферментов.
- Д. Играют ведущую роль в создании онкотического давления.

*Задание 5.* Какие функции выполняют приведенные ниже глобулины крови?

- |                               |   |
|-------------------------------|---|
| 1. Церулоплазмин.             | А. Участвует в транспорте железа ( $\text{Fe}^{3+}$ ) по кровеносному руслу.                        |
| 2. Трансферрин.               | Б. Ведущая роль в транспорте меди к тканям.   |
| 3. $\alpha_2$ -Макроглобулин. | В. Обладает оксидазной активностью.   |
| 4. Гаптоглобин.               | Г. Связывает и транспортирует свободный гемоглобин плазмы в клетки ретикулоэндотелия.               |
|                               | Д. Ингибирует протеолитические ферменты крови (трипсин, химотрипсин, тромбин, плазмин, калликреин). |

*Задание 6.* Какие из приведенных утверждений характеризуют С-реактивный белок?

- А. Дает преципитат с С-полисахаридом пневмококка.
- Б. Состоит из 6 субъединиц с молекулярной массой 23 000 Да каждая.
- В. Постоянно в малых количествах содержится в крови практически здоровых людей.
- Г. Концентрация в плазме крови при воспалении или некрозе тканей может увеличиваться в 20–25 раз.
- Д. Является парапротеином.

*Задание 7.* В процессе тромбообразования различают внешний и внутренний пути свертывания крови. На каком этапе свертывания крови они не совпадают?

- А. Превращение протромбина в тромбин.
- Б. Превращение фибриногена в фибрин.
- В. Образование протромбиназы (активного тромбoplastина крови).
- Г. Ретракция кровяного тромба.
- Д. Превращение плазминогена в плазмин.

*Задание 8.* Какое из приведенных утверждений не характерно для фактора Хагемана?

- А. Является сериновой протеазой.
- Б. Активируется калликреином.
- В. Активируется при контакте крови с чужеродной поверхностью (стекло, каолин).
- Г. Активируется тромбоцитарным тромбoplastином.
- Д. Активируется тканевым тромбoplastином.

*Задание 9.* Расположите в правильном порядке события, происходящие при образовании фибринового сгустка:

- А. Образование геля фибрина.
- Б. Стабилизация полимера фибрина (образование фибрина I).
- В. Отщепление от фибриногена фибринопептидов А и В.
- Г. Сжатие геля.
- Д. Образование фибрина S.

*Задание 10.* Наблюдаемая при наследственной недостаточности фактора XIII повышенная кровоточивость объясняется невозможностью образования стабильного фибринового сгустка. Какова роль плазменной трансглутаминазы (фибриназы) в образовании гемостатического тромба?

- А. Участие в синтезе фибриногена в печени.
- Б. Участие в образовании фибрин-мономера.
- В. Участие в образовании растворимых фибрин-мономерных комплексов.
- Г. Участие в ковалентной сшивке фибриновых молекул.
- Д. Участие в ретракции гемостатического тромба.

*Задание 11.* Гиповитаминоз К сопровождается повышенной кровоточивостью. Какова роль витамина К в гемокоагуляции?

- А. Необходим для активации свертывающей системы после повреждения сосуда.
- Б. Необходим для одновременного активирования свертывающей и противосвертывающей систем.
- В. Участвует в постсинтетическом созревании II, VII, IX и X факторов свертывания крови.
- Г. Участвует в связывании ионов кальция.
- Д. Участвует в синтезе V и VIII факторов свертывания крови.

*Задание 12.* Выберите правильные утверждения, характеризующие участие ионов кальция (ф. IV) в гемокоагуляции:

- А. Являются вторичными посредниками в действии ряда гормонов.
- Б. Стимулирование процессов перекисного окисления липидов.
- В. Связывание на тромбопластинах кальций-зависимых факторов свертывания крови (ф. IX, ф. X, ф. VII, ф. II).
- Г. Стабилизация структуры тромбопластинов.
- Д. Активирование некоторых факторов свертывания крови.

*Задание 13.* Дефицит антитромбина III — частая причина тромбозов. Какова антикоагулянтная роль антитромбина III?

- А. Образование необратимого комплекса с гепарином.
- Б. Ингибирует витамин К-зависимое карбоксилирование остатков глутамата.
- В. Необратимо инактивирует большинство сериновых протеаз свертывающей системы.
- Г. Затрудняет связывание факторов свертывания на тромбопластинах.
- Д. Разрушает V и VIII факторы свертывания крови.

*Задание 14.* Что определяет противосвертывающую активность гепарина?

- А. Связывает ионы кальция.
- Б. Активирует антитромбин III.
- В. Образует нестабильные комплексы с некоторыми факторами свертывающей системы, выключая их из процесса гемокоагуляции.
- Г. Осуществляет неферментативный фибринолиз.
- Д. Ингибирует витамин К-зависимое карбоксилирование остатков глутамата протеинов С и S

*Задание 15.* Отберите те протеолитические ферменты, при действии которых возможно превращение плазминогена в плазмин:

- А. Тканевый активатор плазминогена.
- Б. Урокиназа.
- В. Протеин С (S).
- Г.  $\alpha_2$ -Антиплазмин.
- Д.  $\alpha_2$ -Макроглобулин.

**Задание 16.** Расположите в правильном порядке события, происходящие при фибринолизе:

- А. Плазминоген осаждается на фибриновых нитях.
- Б. Тканевый активатор плазминогена активирует плазминоген.
- В. Тканевый активатор плазминогена связывается с фибрином.
- Г. Плазминоген превращается в плазмин.
- Д. Плазмин гидролизует фибрин.

### **Эталоны ответов к решению заданий**

#### **Для самостоятельной работы:**

4.1 А – 2, 3, 4, 5, 6; Б – 1, 7.

5. А — 1) время свертывания крови по Ли-Уайту; 2) время рекальцификации; Б — *I фаза*: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), *II фаза*: протромбиновый индекс (ПТИ), протромбиновый показатель; *III фаза*: 1) количество фибриногена; 2) активность фибриназы; В — 1) ретракция тромба; 2) гематокрит тромба; Г — 1) тромбиновое время (ТВ); 2) толерантность плазмы к гепарину; 3) активность антитромбина III; Д — фибринолитическая активность (спонтанный фибринолиз).

### **Самостоятельная работа (80 минут)**

#### **Инструкция к практическому занятию**

#### **Работа 1. *Разделение белков сыворотки крови методом электрофореза на ацетилцеллюлозе***

В клинических лабораториях наиболее распространены электрофоретические методы исследования белкового спектра плазмы (сыворотки) крови. Электрофорез белков сыворотки крови — объективный метод при первичной лабораторной диагностике острых и хронических воспалительных заболеваний, злокачественных опухолей, заболеваний печени, белокдефицитных состояний, моноклональных гаммапатий и дефицита антител.

Разделение белков сыворотки крови на ацетилцеллюлозных плёнках даёт чёткое фракционирование и сокращает время электрофореза до 25–30 минут.

*Принцип метода.* Метод фракционирования основан на том, что под влиянием постоянного электрического поля белки сыворотки крови, обладающие электрическим зарядом, движутся по смоченной буферным раствором плёнке ацетилцеллюлозы со скоростью, зависящей от величины заряда и молекулярной массы частиц. Вследствие этого белки сыворотки разделяются обычно на 5 основных фракций: альбумин и глобулины  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , содержание которых определяется фотометрически. Относительное содержание белковых фракций в сыворотке крови здорового человека выражается следующими цифрами: альбумин — 52–65 %; глобулины — 29–54 %:  $\alpha_1$ -глобулины — 2–5 %,  $\alpha_2$ -глобулины — 7–13 %,  $\beta$ -глобулины — 8–14 %,  $\gamma$ -глобулины — 12–22 %.

#### **1. *Электрофоретическое разделение белков сыворотки крови***

*Ход работы.* Кюветные отделения аппарата для электрофореза заполняют буферным раствором. Полоски ацетилцеллюлозы смачивают буфером и туго натягивают (не должны провисать) в промежутке между кюветными отделениями. Через полоску носителя в течение 5 минут пропускают электрический ток. Отключают электрофоретическую камеру, на поверхность ацетилцеллюлозной плёнки у катода на линию старта наносят сыворотку крови. Прибор включают вновь и проводят электрофоретическое разделение белков.

#### **2. *Окраска электрофореграм***

После отключения прибора плёнки вынимают и сразу помещают их в раствор красителя (амидочёрный 10 В) на 10–15 минут. Для удаления избытка красителя полоски ацетилцеллюлозы переносят в кювету с 2%-ным раствором уксусной кислоты. Через 10–15 минут кислоту сливают и полоски заливают чистым раствором уксусной кислоты. В результате такой

обработки синие пятна, соответствующие различным фракциям белков, отчетливо видны на прозрачном фоне ацетилцеллюлозной плёнки.

3. Количественная оценка электрофореграмм проводится путем денситометрии или фотометрии соответствующих элюатов.

*Денситометрия электрофореграмм* проводится с использованием денситометра. Денситометр — фотометрический прибор, обеспечивающий сканирование электрофореграммы. Целью сканирования является получение денситограммы — графического изображения распределения концентрации красителя вдоль электрофореграммы, представляющую собой серию отдельных пиков, по соотношению площадей которых интегратор и микропроцессорное устройство прибора вычисляют относительное содержание каждой белковой фракции.

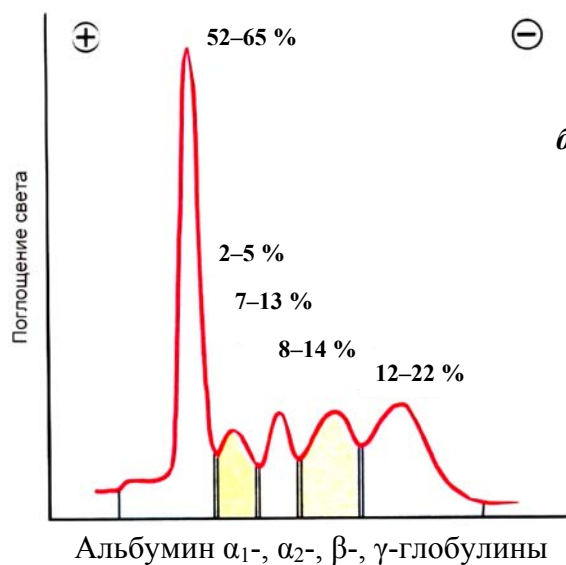
*Фотометрия элюатов фракций белка.* Полоски ацетилцеллюлозы промокают фильтровальной бумагой, окрашенные белковые фракции вырезают и помещают в соответствующие пронумерованные пробирки с элюирующим раствором (в 5 пробирок наливают из бюретки по 10 мл 0,1 н NaOH). Через 20 минут против воды (контроль) определяют оптическую плотность каждого раствора на фотоэлектрокалориметре (кювета 10 мм, красный светофильтр с  $\lambda = 670$  нм). Зная оптические плотности растворов, соответствующие каждой фракции, вычисляют сумму оптических плотностей всех фракций и выражают относительное содержание белка в каждой фракции.

Например:

$$\text{Относит. содержание альбумина (\%)} = \frac{\text{Оптическая плотность элюата альбумина (E)}}{\text{Сумма оптических плотностей (\Sigma)}} \cdot 100 \%$$

$$E_{\text{альбум}} = \quad E_{\alpha_1\text{-глобул}} = \quad E_{\alpha_2\text{-глобул}} = \quad E_{\beta\text{-глобул}} = \quad E_{\gamma\text{-глобул}} = \quad \Sigma =$$

$$\% = \quad \% = \quad \% = \quad \% = \quad \% =$$



Электрофореграмма (а) и денситограмма(б) белков сыворотки крови человека на ацетилцеллюлозе

Ответ:

Вывод:

## Работа 2. *Определение содержания кальция в плазме крови*

Кальций играет важную роль в осуществлении процессов жизнедеятельности. Он влияет на проницаемость биологических мембран, возбудимость нервов и мышц, участвует в нервно-мышечной проводимости, сокращении и расслаблении мускулатуры (в том числе мышцы сердца), секреторных процессах, формировании кости и хряща; воздействует на обмен веществ в клетках, является важным фактором гемостаза и посредником действия гормонов в клетке.

Количественное определение кальция в плазме крови имеет важное значение для диагностики ряда заболеваний и при наблюдении за ходом лечения.

В норме концентрация общего кальция в плазме крови — 2,2–2,7 ммоль/л (9–11 мг%).

*Принцип метода.* Индикатор хромоген черный ЕТ-00 образует с кальцием соединение розово-фиолетового цвета. При титровании трилоном Б (двухзамещенная натриевая соль этилендиаминотетрауксусной кислоты, образующая прочные комплексы с ионами кальция) такого окрашенного раствора произойдет изменение окраски в сине-розовый цвет в эквивалентной точке, соответствующей связыванию трилоном Б всех ионов кальция в растворе.

*Ход работы.* В колбочку наливают 25 мл H<sub>2</sub>O и вносят 1 мл аммиачного буферного раствора. Затем приливают 1 мл исследуемой плазмы крови и 2 капли индикатора хромогена черного. Раствор приобретает розово-фиолетовый цвет. Затем раствор титруют 0,002 М раствором трилона Б до сине-розовой окраски. По объему трилона Б, пошедшего на титрование, рассчитывают содержание кальция в плазме крови.

$$X \text{ (мг\%)} = \frac{0,002 \cdot 40,8 \cdot 100 \cdot V_T}{1},$$

где 0,002 — молярность раствора трилона Б; 40,8 — молекулярный вес Са; 100 — коэффициент для пересчета в мг%; 1 — объем сыворотки, взятый для анализа;  $V_T$  — объем трилона Б, израсходованный на титрование.

Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/л) — 0,245.  $C \text{ (ммоль/л)} = X \cdot 0,245$

## 29. Тема занятия: Биохимия печени.

### Интеграция метаболизма

#### Актуальность темы

Печень играет центральную роль в промежуточном обмене веществ. Особенности ферментативного аппарата печени и ее анатомических связей с другими органами дают возможность печени участвовать в регуляции практически всех видов обмена веществ и поддерживать постоянство концентрации в крови многих жизненно важных соединений.

Печень — большая промежуточная станция между портальным и общим кругами кровообращения организма, поэтому все вещества, всасывающиеся из кишечника, должны пройти через печень. Функции печени обуславливают ее своеобразный «биохимический альтруизм»: многие происходящие в ней процессы настроены на синтез различных веществ для других органов, а также на защиту этих органов от образующихся в них (или поступающих извне) токсических соединений.

В состав органа входят клетки Купфера, принимающие участие в фагоцитозе. Печень выделяет желчь, необходимую для переваривания жира. Значительную роль играет печень в процессах свертывания крови, т. к. синтезирует белки-компоненты свертывающей и анти-свертывающей систем крови.

В печени депонируются железо, медь и витамин В<sub>12</sub>, необходимые для эритропоэза. Продолжительность жизни эритроцитов составляет 110–120 дней. После этого они разрушаются с освобождением гемоглобина. В печени, селезенке, костном мозге гемоглобин распадается с образованием билирубина. Дальнейшая судьба желчных пигментов (билирубина) связана с их метаболизмом в печени и в кишечнике. Определение в клинике содержания об-

щего билирубина, его фракций и продуктов их деградации имеет важное значение в дифференциальной диагностике желтух различной этиологии.

Следует отметить значительную вариабельность химического состава печени, который зависит от характера питания, состояния обмена веществ. Особенно существенные изменения в соотношении отдельных компонентов наблюдаются при голодании и патологических процессах, например, жировой инфильтрации печени, гликогенозах и др.

В связи с вышеизложенным понятна необходимость правильной оценки функционального состояния печени с использованием различных биохимических тестов, позволяющих установить факт заболевания и отслеживать его течение.

Способность организма животных к поддержанию постоянства состава внутренней среды организма осуществляется за счет интеграции метаболических путей и является одним из наиболее существенных достижений эволюции. Изменение интегративных связей нарушает сбалансированную продукцию энергии, пластического материала и служит основой развития заболеваний.

**Цель занятия:** уметь применять знания о гомеостатической и интегрирующей роли печени в обмене углеводов, липидов и аминокислот для объяснения механизмов нарушений обмена веществ при болезнях печени и желчных путей. Уметь использовать знания о путях превращения в печени ксенобиотиков для понимания биохимических аспектов фармакологии и токсикологии. Понять принципы и механизмы взаимодействия различных метаболических путей для обеспечения жизнедеятельности и адаптации.

**Требования к исходному уровню знаний.** Для полного усвоения темы необходимо повторить:

а) из **анатомии, гистологии, физиологии:**

- особенности строения и микроструктуры печени;
- функции печени;
- анатомо-физиологические взаимоотношения между печенью, желудочно-кишечным трактом и воротной веной;

б) **биоорганической химии:**

- основные реакции введения функциональных групп в молекулы химических веществ с целью повышения их гидрофильных свойств.

в) **биологической химии**

- метаболические пути обмена углеводов, липидов и белков, занятие 8 настоящего руководства.

**Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:**

**Задание 1.** При изучении микропрепарата печени студентам дано задание зарисовать структурную морфологическую единицу печени — ацинус.

1.1. Выберите функцию, которую выполняют элементы этой морфологической единицы — клетки Купфера:

- А. Синтетическая.                      Б. Выделительная.                      В. Обезвреживающая.

1.2. Какую роль играет пространство Дисе?

А. Участвует в транспорте веществ между кровью синусоидов и паренхиматозными клетками.

Б. Является депо желчи.

В. Участвует в транспорте веществ между артериолами, венулами и центральной веной.

**Задание 2.** Методом «меченых атомов» была зафиксирована энтерогепатическая циркуляция желчных кислот. По каким кровеносным сосудам происходит возврат желчных кислот из кишечника к гепатоцитам в процессе этой циркуляции?

А. По центральной вене печени.

Б. По воротной вене печени.



В. По нижней полой вене печени.

Г. По печеночной артерии.

**Задание 3.** На лабораторном практикуме студенты получили задание сравнить растворимость различных веществ в воде. Сравнив результаты исследования, студенты убедились, что введение некоторых функциональных групп повышает гидрофильность молекул органических соединений.

3.1. Какие функциональные группы могут обеспечить гидрофильные свойства этих молекул?

А. Изопропильные.

Б. Дисульфидные.

В. Гидроксильные.

Г. Карбоксильные.

3.2. Назовите химические реакции, в результате которых в молекулы органических соединений могут быть введены указанные выше функциональные группы.

А. Гидроксилирование.

Б. Карбоксилирование.

В. Деаминарование.

Г. Нитрование.

**Задание 4.** Назовите метаболит гликолиза, используемый для синтеза глицерола:

А. Фосфодиоацетон.

Б. Ацетил-КоА.

В. Пировиноградная кислота.

Г. Щавелевоуксусная кислота.

Д. □-Гидроксимасляная кислота.

**Задание 5.** Для образования глюкозы во время голодания клетки печени используют:

А. Жирные кислоты.

Б. Аминокислоты.

В. Ацетоацетат.

Г. β-Гидроксипутират.

Д. Ацетил-КоА.

**Задание 6.** Что (1, 2, 3, 4) из чего (А, В, С, D) может синтезироваться? Подберите соответствующие пары:

1	Аминокислоты заменимые	А	Аминокислоты заменимые
2	Аминокислоты незаменимые	В	Аминокислоты незаменимые
3	Глюкоза	С	Глюкоза
4	Жирные кислоты	Д	Жирные кислоты

**Задание 7.** Молекулой, непосредственно связанной с инициацией развития атеросклеротической бляшки, является:

А. Фактор некроза опухолей.

Б. Тромбоксан А2.

В. Простаглицлин.

Г. Тромбоцитарный фактор роста.

Д. Окисленный холестерол.

*Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.*

### **Вопросы для обсуждения**

1. Основные функции и химический состав печени.
2. Роль печени в обмене углеводов, липидов, белков.
3. Обезвреживающая функция печени, механизмы: (защитные синтезы, ацилирование, микросомное окисление, конъюгация).
4. Роль печени в пигментном обмене. Синтез и распад гемоглобина (схемы). Обмен билирубина в норме и патологии. Порфирии, желтухи (гемолитическая, обтурационная, паренхиматозная) и их дифференциальная диагностика.
5. Биохимические методы диагностики нарушений функций печени.
6. Необходимость интеграции метаболизма, ее принципиальные составляющие или уровни обеспечения. Механизмы регуляции метаболизма.
7. Особенности метаболизма в печени в состоянии после приема пищи и натоцак.

## 8. Межорганный метаболизм в динамике голодания.

### Литература для подготовки

#### Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 301–306, 607–612, 661–676.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 212, 427–437.
3. *Конспект лекций.*

#### Дополнительная

1. *Маршалл, В. Дж.* Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. М., СПб. : БИНОМ, Невский Диалект, 1999. 368 с.
2. *Мари, Р.* Биохимия человека / Р. Мари [и др.]. М. : Мир, 1993. 384 с.

### Задания для самостоятельной работы

*Задание 1.* Систематизировать знания об интеграции путей метаболизма в печени. Познакомиться с рисунком «Пути превращения углеводов и липидов в печени».

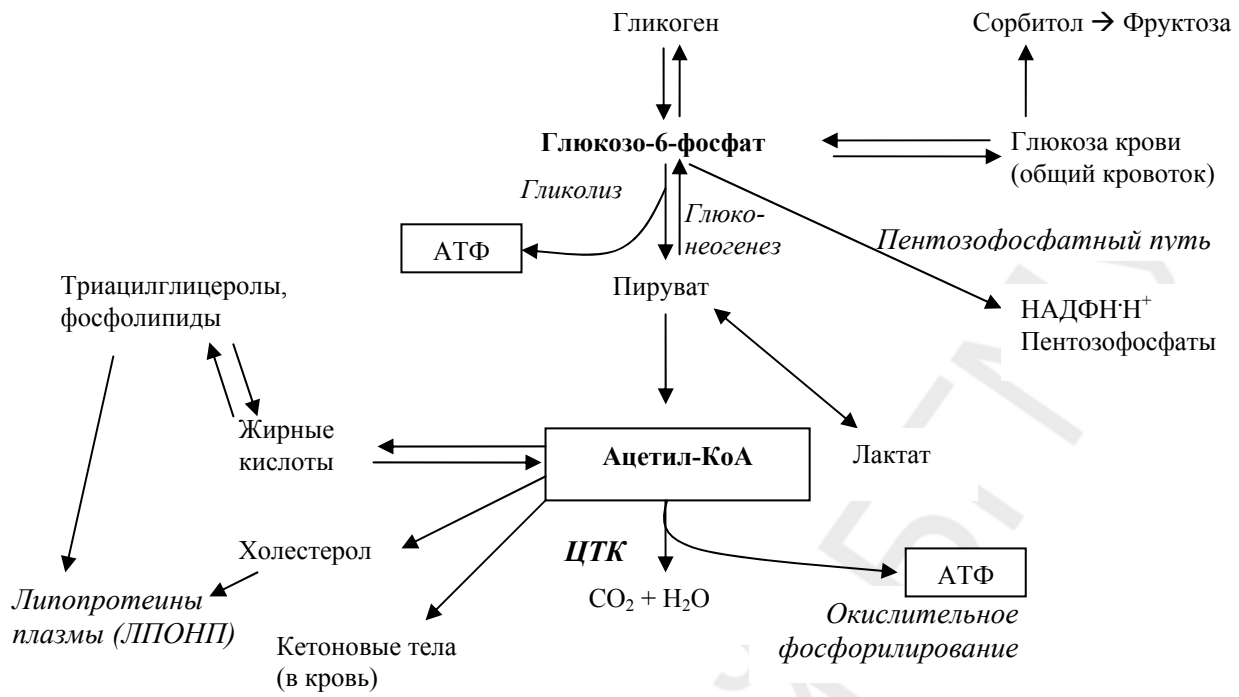
1.1. Обратить внимание на то, что большая часть потребленной свободной глюкозы в печени фосфорилируется с образованием глюкозо-6-фосфата. Метаболизм этого соединения может осуществляться по пяти основным направлениям, выбор которых зависит от соотношения между потребностями организма и количеством поступивших с пищей углеводов.

1.2. Печень поддерживает постоянный уровень глюкозы в крови при голодании за счет активации гликогенолиза и глюконеогенеза, а при избыточном ее поступлении из кишечника глюкоза депонируется в виде гликогена и липидов.

1.3. Знать, что обратимость превращения лактата в пируват (направление реакции) зависит от соотношения  $\text{НАДН}\cdot\text{H}^+/\text{НАД}^+$ .

1.4. Знать, что жирные кислоты — основной субстрат энергетического метаболизма в печени и предшественники в биосинтезе холестерина, кетоновых тел, липидной части липопротеинов плазмы крови.

### Пути превращения углеводов и липидов в печени



1.5. Задание. Этанол окисляется, главным образом, в печени, где при участии НАД-зависимых дегидрогеназ, последовательно превращаясь в уксусный альдегид и уксусную кислоту, приводит к увеличению отношения  $\text{НАДН}^+/\text{НАД}^+$ . Объясните, почему при алкогольном токсикозе наблюдается гиперлактатемия и гипогликемия. Напишите реакции, подтверждающие указанные явления.

1.6. Объясните:

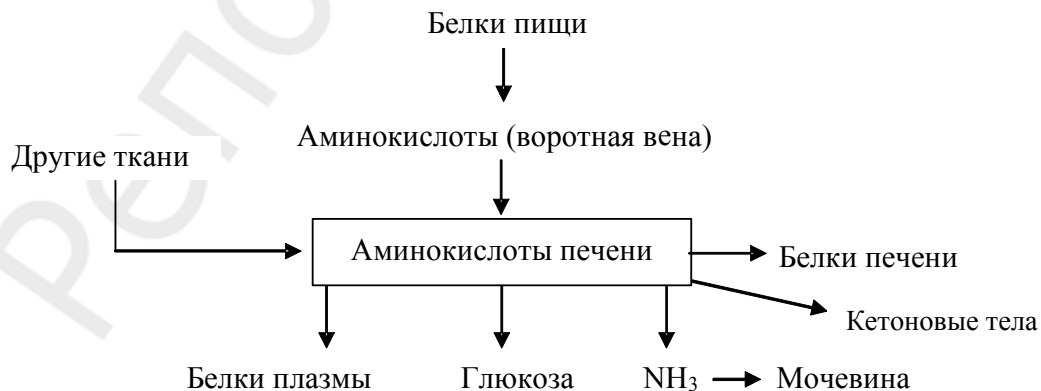
а) почему уже через 3 часа после удаления печени у животных развивается гипогликемия и наступает смерть, если ежедневно не вводить глюкозу;

б) почему введение галактозы, лактата или пирувата в этих условиях не эффективно.

1.7. Выбрать продукты липидного обмена, синтезирующиеся преимущественно в печени:

- А. Холестерол.      Б. ТАГ.      В. Фосфолипиды.      Г. Кетоновые тела.  
 Д. Хиломикроны.      Е. ЛПВП.      Ж. Свободный билирубин.      З. ЛПОНП.

Задание 2. Знать, что аминокислоты, всосавшиеся в кишечнике и поступившие затем в печень, имеют несколько основных путей метаболизма:



2.1. Задача. У больного с алкогольным циррозом печени наблюдается сильная отечность. С нарушением синтеза каких веществ в печени связано это состояние?

- А. Мочевины.      Б. Альбуминов.      В. Холестерола.

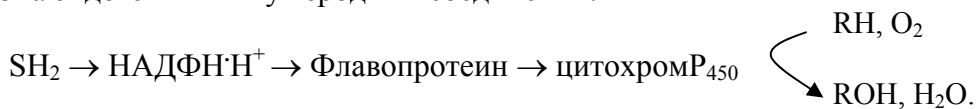
Г. Гаптоглобина.                      Д. Фибриногена.

2.2. Задача. В организме здорового человека железо депонируется в печени, селезенке, костном мозге. В составе какого белка происходит его депонирование?

А. Ферритина.                      Б. Трансферрина.                      В. Апоферритина.  
Г. Плазмина.                      Д. Церулоплазмина.

*Задание 3.* Усвоить механизмы обезвреживания веществ в печени.

3.1. Знать основы функционирования микросомной системы окисления как пути метаболизма эндогенных и чужеродных соединений:



Таким способом гидроксилируются стероиды в процессе образования гормонов коры надпочечников, ряд лекарственных препаратов и чужеродных соединений.

В результате гидроксилирования уменьшается токсичность и повышается растворимость ксенобиотиков, что способствует выведению их из организма. Многие лекарственные вещества, например, фенобарбитал, способны индуцировать синтез микросомных ферментов и цитохрома P<sub>450</sub>.

3.2. Знать, что конъюгационная фаза необходима для образования малотоксичных и легковыводимых продуктов метаболизма лекарств и может протекать как самостоятельный этап обезвреживания.

3.3. Задача. Для исследования обезвреживающей функции печени пациенту назначена проба Квика. После приема бензоата натрия уровень гиппуровой кислоты в моче обследуемого повысился, что свидетельствует о нормальной детоксикационной функции печени. Какое вещество принимает участие в обезвреживании этой соли?

А. ФАФС.                      Б. Церулоплазмин.                      В. УДФ-глюкуроновая кислота.  
Г. Таурин.                      Д. Глицин.

3.4. Задача. У больного инфекционным гепатитом произошло обесцвечивание кала. С отсутствием в кишечнике какого продукта распада билирубина это связано?

А. Копропорфирина.                      Б. Стеркобилина.  
В. Биливердина.                      Г. Вердоглобина.

Для усвоения материала необходимо обратить внимание на то, что:

– благодаря интеграции метаболизма (а не отдельным метаболическим путям) организм снабжается энергией и пластическим материалом за счет постоянного обновления его участников на уровне ключевых метаболитов, коферментов;

– ключевой составляющей взаимодействия метаболических путей является наличие сходных механизмов регуляции. Через эти механизмы реализуют свое действие гормоны и другие биологически активные соединения;

– центральным органом в интеграции метаболизма является печень, благодаря которой в крови поддерживается необходимый уровень веществ для использования их мозгом, мышцами и другими тканями.

*Задание 1.* Выберите правильный ответ. В мышцах после приема пищи:

А. Глюкоза используется для синтеза гликогена.  
Б. Основной источник энергии — жирные кислоты.  
В. □-Кетокислоты, образующиеся из аминокислот с разветвленной цепью, окисляются в цикле Кребса.  
Г. Гликоген подвергается фосфоролиту.  
Д. Образуются кетоновые тела.

*Задание 2.* Выберите правильный ответ. В печени натошак:

- А. Активируется глюконеогенез.
- Б. Усиленно окисляются жирные кислоты.
- В. Активно синтезируется гликоген.
- Г. Образуются кетоновые тела.
- Д. Глюкоза высвобождается в кровь.

*Задание 3.* Какое из нижеследующих выражений относительно синтеза и использования гликогена правильное?

- А. Действие адреналина и глюкагона направлено на увеличение активности гликогенфосфорилазы.
- Б. В состоянии натошак интенсивность расщепления гликогена соизмерима с интенсивностью его синтеза.
- В. Дефосфорилирование гликогенсинтазы под влиянием инсулина ведет к увеличению активности этого фермента.
- Г. цАМФ — вторичный посредник, который образуется в ответ на действие адреналина и глюкагона в печени.
- Д. Фосфорилирование гликогенфосфорилазы под влиянием глюкагона приводит к увеличению активности этого фермента.

*Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.*

*Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)*

*Задание 1.* Для предотвращения развития гипербилирубинемии у новорожденного вследствие несовпадения у матери и ребенка резус-фактора беременной перед родами рекомендован фенобарбитал. Выберите ответ, объясняющий, с какой целью в данном случае был назначен этот препарат:

- А. В качестве снотворного средства.
- Б. Для инактивации компонентов микросомного окисления.
- В. Для снижения растворимости билирубина.
- Г. Как индуктора печеночных ферментов детоксикации.
- Д. В качестве липотропного средства.

*Задание 2.* При лабораторном обследовании больного желтухой получены следующие данные: общее содержание в сыворотке крови билирубина — 60 мкмоль/л, прямого билирубина — 43 мкмоль/л, в моче определяется прямой билирубин и отсутствуют уробилин и стеркобилин. Какой вид желтухи у данного больного?

- А. Паренхиматозная.
- Б. Гемолитическая.
- В. Обтурационная.

*Задание 3.* Для оценки функционального состояния печени у больного исследована экскреция животного индикана. Индикан образуется в результате обезвреживания в печени индоксила — продукта гниения аминокислоты триптофана в толстом кишечнике. Какое вещество участвует в обезвреживании этого токсического соединения?

- А. ФАФС.
- Б. УДФ-глюкуроновая кислота.
- В. Глицин.
- Г. Церулоплазмин.
- Д. Таурин.

*Задание 4.* Методом дифференциального центрифугирования клеток печени была получена микросомная фракция. Микросомное окисление — это способ обезвреживания токсических веществ в печени. Выберите компонент этой цепи окисления:

- А. Цитохром а<sub>3</sub>.
- Б. Цитохром с.
- В. Цитохром b.
- Г. Цитохром р<sub>450</sub>.
- Д. Цитохром с<sub>1</sub>.

**Задание 5.** В моче больного обнаружены в большом количестве аминокислоты, порфибилиноген и порфирины. Моча при длительном освещении приобрела темно-красный винный цвет. Какую патологию можно предположить в данном случае?

- А. Печеночная желтуха.                      Б. Эритропоэтическая порфирия.  
 В. Гемолитическая желтуха.              Г. Печеночная порфирия.  
 Д. Талассемия.

**Задание 6.** Больному с жировой инфильтрацией печени назначена растительно-молочная диета. Дефицит каких липотропных веществ восполняют рекомендованные продукты?

- А. Ненасыщенных жирных кислот. Б. Насыщенных жирных кислот.  
 В. Креатина.                                      Г. Метионина.  
 Д. Серотонина.                                  Е. Кальцитонина.

**Задание 7.** Какие из приведенных ниже выражений верны?

- А. При максимальном мышечном напряжении пируват восстанавливается в лактат.  
 Б. В норме в мышцах некоторое количество глюкозы подвергается анаэробному гликолизу, поэтому всегда имеется некоторое количество лактата, используемого для глюконеогенеза.  
 В. Для глюконеогенеза из лактата требуется больше АТФ, чем образуется во время анаэробного гликолиза.

**Задание 8.** Каковы последствия увеличения количества свободных жирных кислот в печени?

- А. Увеличится интенсивность  $\beta$ -окисления.  
 Б. Увеличится интенсивность гликолиза.  
 В. Снизится активность пируватдегидрогеназы.  
 Г. Снизится интенсивность синтеза жирных кислот.  
 Д. Увеличится интенсивность образования кетоновых тел.

**Задание 9.** Какое из приведенных ниже выражений правильное?

- А.  $\beta$ -гидроксibuтират является важным метаболическим источником энергии в состоянии натошак.  
 Б. Ацетоацетат является важным метаболическим источником энергии в состоянии натошак.  
 В. Кетоновые тела являются основным источником энергии для скелетных мышц в состоянии натошак.  
 Г. Кетоновые тела являются основным источником энергии для печени в состоянии натошак.  
 Д. Кетоновые тела являются важным субстратом для глюконеогенеза в состоянии натошак.

**Задание 10.** Подберите соответствующие пары (цифра — орган, буква — процесс метаболизма):

Через 12 часов голодания

1	Печень	А	Использует глюкозу в качестве источника энергии
2	Мышцы	В	Использует кетоновые тела в качестве источника энергии
3	Мозг	С	Использует жирные кислоты в качестве источника энергии
4	Почки	Д	Активирует ферменты глюконеогенеза

Через 3-е суток голодания

1	Печень	А	Использует глюкозу в качестве источника энергии
---	--------	---	---

2	Мышцы	В	Использует кетоновые тела в качестве источника энергии
3	Мозг	С	Использует жирные кислоты в качестве источника энергии
4	Почки	Д	Активирует ферменты глюконеогенеза

Через 2 недели голодания

1	Печень	А	Использует глюкозу в качестве источника энергии
2	Мышцы	В	Использует кетоновые тела в качестве источника энергии
3	Мозг	С	Использует жирные кислоты в качестве источника энергии
4	Почки	Д	Активирует ферменты глюконеогенеза

### Эталоны ответов к решению заданий

*Для самопроверки исходного уровня знаний:*

1.1 – В; 1.2 – А; 2 – Б; 3.1 – В, Г; 3.2 – А, Б. 4. А. 5. Б. 6. 1 – А, В, С; 3 – А, В; 4 – А, В, С, D. 7 – Д

*Для самостоятельной работы:*

1.5 – пируват + НАДН·Н<sup>+</sup> ↔ лактат + НАД<sup>+</sup>.

При приеме алкоголя отмечается гипогликемия, потому что в этих условиях в клетках печени снижается концентрация пирувата, что приводит к снижению скорости глюконеогенеза, являющегося важным источником глюкозы крови.

1.7 – А, Б, В, Г, Е, З; 2.1 – Б; 2.2 – А; 3.3 – Д; 3.4 – Б.

**Самостоятельная работа (60 минут)**

### Инструкция к практическому занятию

#### Работа 1. *Исследование коллоидоустойчивости белков сыворотки крови*

Проба Вельтмана в модификации Тейля

*Принцип метода.* Реакция основана на том, что белки сыворотки крови при добавлении раствора хлористого кальция определенной концентрации и последующем нагревании выпадают в виде хлопьев в осадок (происходит нарушение коллоидной устойчивости).

*Ход определения.* К 4,9 мл воды прибавляют 0,1 мл сыворотки, содержимое пробирки перемешивают путем ее опрокидывания (при этом пробирку можно закрывать большим пальцем) и затем приливают 0,1 мл 0,5%-ного раствора хлористого кальция (из пипетки на 1,0 мл или капельницы, если объем каждой капли соответствует 0,05 мл). Содержимое пробирки встряхивают и нагревают над пламенем спиртовки до однократного вскипания смеси. Затем пробирку охлаждают и смотрят через нее на свет. Если хлопья в пробирке обнаруживаются, то в нее добавляют еще 0,1 мл CaCl<sub>2</sub> и раствор вновь нагревают до кипения. Процедуру повторяют до выпадения хлопьевидного осадка. Записывают общий объем CaCl<sub>2</sub> (в мл), добавленный в пробирку.

*Примечание.* Сыворотка для исследования должна быть свежей (хранящейся не более 24 часов от момента взятия), без следов гемолиза.

Клинико-диагностическое значение реакции Вельтмана. Реакция коагуляции с хлористым кальцием (по Вельтману) может изменяться в двух направлениях: в сторону укорочения коагуляционной ленты или ее удлинения (см. схему).

CaCl <sub>2</sub> (мл)	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,35	0,3	0,2	0,1
Сужение (сдвиг влево)	Норма						Расширение (сдвиг вправо)				
Укорочение							Удлинение				

←—————

**Экссудаты, некрозы, опухоли**

—————→

**Фиброзы, повреждения печени, гемолиз**

Главные причины, которые ведут к удлинению полосы (коагуляция, наступающая при добавлении менее 0,4 мл CaCl<sub>2</sub>), — это фиброзные и пролиферативные процессы, повреждения паренхимы печени и гемолитические состояния. Сдвиг вправо отмечается при болезни

Боткина, циррозах, острой желтой атрофии печени, малярии, после переливания крови, аутогемотерапии и при многих воспалительных заболеваниях. Считают, что удлинение коагуляционной полосы обусловлено повышением содержания  $\gamma$ -глобулинов, снижающих стабильность сыворотки.

Укорочение коагуляционной полосы (коагуляция, наступающая при добавлении более 0,6 мл  $\text{CaCl}_2$ ) обнаруживается при острых воспалительных и экссудативных процессах. В этих случаях увеличивается количество  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинов и за счет этого повышается стабильность сыворотки (экссудативная фаза ревматизма, активный процесс туберкулеза легких, нефрозы, макроглобулинемия Вальденштрема,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ -плазмоцитомы, злокачественные опухоли, экссудативный перитонит, некрозы, большие потери жидкости, острые инфекционные заболевания). Крайнее укорочение коагуляционной ленты (отрицательная проба) наблюдается при остром ревматизме.

## Работа 2. **Определение содержания общего билирубина в сыворотке крови**

**Принцип метода.** Диазореактив образует с растворимым билирубином азобилирубин, окрашенный в розовый цвет. Интенсивность окраски раствора азобилирубина пропорциональна концентрации билирубина и может быть определена колориметрически. Конъюгированный (прямой) билирубин дает прямую реакцию с диазореактивом. Неконъюгированный (непрямой) билирубин можно перевести в растворимое состояние добавлением к сыворотке крови этилового спирта.

**Ход определения.** В центрифужную пробирку отмеривают 1 мл сыворотки крови, 2 мл этилового спирта, тщательно перемешивают содержимое стеклянной палочкой и центрифугируют 15 мин при скорости 3000 об/мин. Затем сливают надосадочную жидкость в другую пробирку и добавляют к ней 0,25 мл диазореактива. При этом появляется красно-розовое окрашивание, интенсивность которого определяют через 10 минут, измеряя оптическую плотность пробы против воды в кювете шириной 5 мм при зеленом светофильтре (500–560 нм). Параллельно колориметрируют стандартный раствор азобилирубина, соответствующий концентрации билирубина 0,4 мг% ( $C_{\text{ст}}$ ).

Расчет производят по формуле:

$$C_{\text{оп}} (\text{мг}\%) = E_{\text{оп}} \cdot C_{\text{ст}} / E_{\text{ст}}$$

В норме концентрация общего билирубина в плазме (сыворотке) крови составляет 0,5–1,2 мг% (8,55–20,52 мкмоль/л). 75 % его количества приходится на долю непрямого билирубина.

Клинико-диагностическое значение исследования пигментного обмена. Один из важных признаков нарушения пигментного обмена — появление желтухи, которое отмечается обычно при уровне билирубина в крови 27–34 мкмоль/л и более. Кровь новорожденных, особенно недоношенных детей, отличается более высоким содержанием билирубина (физиологическая желтуха). Наблюдаемое со 2–3-го до 7–10-го дня жизни увеличение концентрации билирубина, в основном за счет непрямого, связано с функциональной недостаточностью печени, в частности, малой активностью фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы, необходимого для образования прямого билирубина.

Гемолитическая желтуха (надпеченочная) — усиление гемолиза эритроцитов, что приводит к усиленному образованию неконъюгированного билирубина, так как печень не успевает его связывать.

**Паренхиматозная желтуха** (печеночная) — нарушение функции печеночных клеток. Может быть вызвана также наследственно обусловленными дефектами в процессах транспорта билирубина и образования диглюкуронида билирубина.

**Механическая желтуха** (обтурационная, подпеченочная) — задержка оттока желчи. Возникает при переполнении желчных путей вследствие закупорки, разрыва их и последующего перехода желчи в кровь.



Тяжесть желтухи обычно соответствует уровню билирубинемии. Принято считать, что желтуха протекает в легкой форме, если содержание билирубина в плазме (сыворотке) не превышает 85 мкмоль/л; уровень его 86–169 мкмоль/л свидетельствует о среднетяжелой, а свыше 170 мкмоль/л — о тяжелой форме желтухи.

### 33. Тема занятия: Биохимия питания. Минеральные вещества. Регуляция водно-электролитного баланса

#### Актуальность темы

Изменение состава минеральных веществ и нарушение распределения электролитов и жидкости в организме являются причиной многих серьёзных нарушений, коррекцией которых чаще всего приходится заниматься реаниматологам.

**Цель занятия:** закрепить знания электролитного состава жидкостей организма, роли микро- и макроэлементов в клетках и внеклеточной жидкости для последующего использования их во врачебной деятельности.

**Требования к исходному уровню знаний.** Для полного усвоения темы необходимо повторить:

а) из **нормальной физиологии человека:**

- распределение воды в организме. Аквапорины;
- состав интерстициальной (межклеточной) и клеточной жидкостей организма;
- механизм действия  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы;

б) **общей химии:**

– понятия «осмотическое давление», «осмоляльность», «гипотоническое и гипертоническое изменение объёма», «рН», «буферные системы»;

в) **биоорганической химии:**

– кетоновые тела, альбумины, глобулины;

г) **биологической химии:**

– гормоны, ферменты, регуляцию активности ферментов.

#### Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

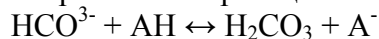
**Задание 1.** В обычных условиях неизбежная суточная потеря воды взрослым человеком составляет около 2500 мл. Сколько воды теряется:

- а) с выдыхаемым воздухом;      б) с мочой;      в) через кожу в виде пота?

**Задание 2.** Что произойдет при помещении эритроцитов в гипотоническую среду?

- А. Они не изменятся.  
Б. Наступит их сморщивание.  
В. Произойдёт гемолиз.

**Задание 3.** Кетоновые тела (АН) являются более сильными кислотами, чем угольная кислота. В какую сторону сместится равновесие реакции?



**Задание 4.** У больного появились отёки. Каковы возможные причины?

- А. Нарушение белоксинтезирующей функции печени.  
Б. Сгущение крови.  
В. Протеинурия.  
Г. Недостаток вазопрессина.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

### Вопросы для обсуждения

1. Натрий, калий, кальций, фосфор. Роль в метаболизме, гормональная регуляция их обмена.
2. Роль железа в организме (всасывание, транспорт, внутриклеточный обмен). Железодефицитные состояния и железодефицитные анемии.
3. Роль меди, цинка, селена, йода и фтора в метаболизме тканей.
4. Механизм действия гормонов, регулирующих водно-минеральный обмен (адренг-ломерулотропина, вазопрессина, натрий-уретического гормона, альдостерона).
5. Ренин-ангиотензиновая система и её роль в регуляции водно-солевого обмена.

### Литература для подготовки

#### Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 515–549.
2. *Берёзов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Берёзов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 449–452, 476–478.
3. *Конспект лекций.*

#### Дополнительная

1. *Уайт, А.* Основы биохимии / А. Уайт, Ф. Хендлер. М. : Мир, 1981. Т. 3. С. 1307–1314.
2. *Николаев, А. Я.* Биологическая химия / А. Я. Николаев, М. : Медицинское информационное агентство, 2004. С. 399–411.

### Задания для самостоятельной работы

*Задание 1.* Запомните физиологические концентрации основных катионов.

Катионы	Плазма	Эритроциты
Калий	3,4–5,6 ммоль/л	80–113 ммоль/л
Натрий: взрослые	135–150 ммоль/л	13,5–22 ммоль/л
дети	130–145 ммоль/л	

Содержание общего кальция в сыворотке крови — 2,2–2,7 ммоль/л, ионизированного кальция в сыворотке — 1,1–1,3 ммоль/л.

*Задание 2.* Все минеральные вещества в зависимости от их концентрации в организме подразделяются на макро- и микроэлементы. Минеральные вещества, содержание которых превышает 50 мг/кг массы тела, относятся к макроэлементам. Перечислите эти элементы.

*Задание 3.* В состав каких хромопротеинов входит железо?

- А. Цитохрома P<sub>450</sub>.
- Б. I и II комплексов дыхательной цепи.
- В. III и IV комплексов дыхательной цепи.
- Г. Церулоплазмина.
- Д. Миоглобина.

*Задание 4.* Муковисцидоз — наследственное заболевание, характеризующееся поражением желез внешней секреции. Клинически проявляется сгущением слизи в выводных протоках (главным образом, поджелудочной железы и бронхов). Этиология болезни — генетический дефект CFTR (перевод: кистозно-фиброзный транспортёр-регулятор), т. е. хлорного канала. Предложите способ лечения этого заболевания (на основании материала лекции).

*Задание 5.* После назначения препаратов селена в крови у пациента:

- А. Снизилось содержание продуктов ПОЛ.

- Б. Увеличилось содержание продуктов ПОЛ.
- В. Увеличилась активность глутатионпероксидазы эритроцитов.
- Г. Снизилась активность глутатионпероксидазы эритроцитов.

*Задание 6.* Усвоить, что в случае снижения объёма крови включаются два механизма:

- 1) раздражаются рецепторы гипоталамуса, что приводит к активации синтеза вазопрессина;
- 2) раздражаются рецепторы юстагломерулярного аппарата почек, что сопровождается выбросом в кровоток ренина.

Используя приведенную схему, рассмотрите основные эффекты гормонов и ренина.



*Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.*

**Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)**

*Задание 1.* У больного нефритом развились отёки. Что может служить их основной причиной?

- А. Уменьшение содержания в крови альбуминов.
- Б. Уменьшение содержания в крови глобулинов.
- В. Увеличение содержания в крови белков острой фазы.
- Г. Снижение концентрации глюкозы в плазме крови.
- Д. Снижение концентрации натрия в плазме.

*Задание 2.* Объясните, почему и недостаток, и избыточное поступление витамина Д в организм будет приводить к деструкции костной ткани.

*Задание 3.* Назовите минеральные вещества, выполняющие следующие функции:

- А. Поддержка электролитного баланса.
- Б. Поддержка определённого осмотического давления.
- В. Создание благоприятных условий растворимости белков клеток крови.
- Г. Участие в механизмах возбудимости.
- Д. Влияние на обменные процессы путём активирования или ингибирования ферментов.
- Е. Минерализация костей скелета и зубов.

*Задание 4.* Во время тиреоидэктомии хирург не заметил расположенных в толще щитовидной железы паращитовидных желёз. У больного начались судороги. Почему?

- А. В результате падения содержания в крови тиреокальцитонина.
- Б. В результате снижения содержания в крови паратирина.
- В. Вследствие снижения содержания  $Ca^{++}$  в плазме крови.
- Г. Вследствие увеличения содержания  $Ca^{++}$  в плазме крови.

**Задание 5.** Отёк головного мозга — опасное осложнение травм черепа. Он может также развиваться при неправильной тактике лечения кровопотери (из-за избытка введенной в организм жидкости). Нарушение функции каких классов аквапоринов при этом отмечается?

- А. Аквапоринов АQ Р<sub>1</sub> и АQ Р<sub>4</sub>.
- Б. Акваглицеропоринов.
- В. Аквапоринов АQ Р<sub>2</sub>.

#### Эталоны ответов к решению заданий

**Для самопроверки исходного уровня знаний:**

- 1. а) 300–400 мл; б) 1200–1500 мл; в) 500–600 мл.
- 2. В. 3. Вправо. 4. А, В.

**Для самостоятельной работы:**

- 2. Na, K, Ca, Mg, P, Cl, S. 3. А, В, Д. 4. Генная инженерия. 5. А, В.

#### Самостоятельная работа (60 минут)

##### Инструкция к практическому занятию

Работа 1. **Определение содержания натрия в сыворотке крови фотометрическим методом**

**Принцип метода.** Метод основан на том, что содержащийся в образце натрий осаждается уранилацетатом магния. Уранил-анионы, оставшиеся в растворе, способны образовывать окрашенный комплекс с тиогликолятом. Концентрация натрия прямо пропорциональна разности между холостой (без преципитации) и опытной пробамии.

**Ход работы.** Берут 2 центрифужные пробирки. В первую пробирку (опытная проба) отмеривают 1,0 мл реагента 1 и затем добавляют 0,02 мл сыворотки крови. Во вторую пробирку (стандартная проба) вносят 1,0 мл реагента 1 + 0,02 мл стандартного раствора. **Необходимо строго соблюдать последовательность внесения реактивов в пробирки (сыворотку добавляют к реагенту)!** Закрывают пробирки и 30 с встряхивают их содержимое. Через 5 мин вновь так же встряхивают и оставляют пробы на 30 мин в темноте. Затем центрифугируют 10 мин (1000 об/мин).

Из каждой центрифужной пробирки отбирают по 0,02 мл надосадочной жидкости в обычные пробирки и добавляют в каждую по 2,0 мл реагента 2. Одновременно готовят холостую пробу (0,02 мл реагента 1 + 2,0 мл реагента 2). Реакционную смесь тщательно перемешивают и инкубируют 5 мин при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность всех проб против воды, используя кюветы с рабочей шириной 5 мм (длина волны — 400 нм).

**Расчёт:** концентрацию Na<sup>+</sup> (ммоль/л) определяют по формуле:

$$C_{\text{оп}} = \frac{E_{\text{хол}} - E_{\text{оп}}}{E_{\text{хол}} - E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

где E<sub>хол</sub>, E<sub>оп</sub> и E<sub>ст</sub> — оптическая плотность холостой, опытной и стандартной проб, соответственно; C<sub>ст</sub> — концентрация стандартного раствора (150 ммоль/л).

**Клинико-диагностическое значение.** Содержание Na<sup>+</sup> в сыворотке крови в норме составляет 135–150 ммоль/л.

Уменьшение концентрации натрия в сыворотке крови обуславливает клинический симптомокомплекс, характеризующийся появлением апатии, потерей аппетита, тошнотой, рвотой, нарушением рефлексов, тахикардией, падением кровяного давления, психозами.

Гипернатриемия сопровождается тяжёлым общим состоянием больных, повышением температуры тела, тахикардией.

Работа 2. **Определение содержания калия в сыворотке крови турбодиметрическим методом**

*Принцип метода.* Метод основан на способности ионов калия образовывать стабильную суспензию с ионами тетрафенилбората. Мутность суспензии пропорциональна концентрации ионов калия.

*Ход работы.* Берут три пробирки. В первую пробирку (опытная проба) наливают 2,0 мл реагента и добавляют 0,04 мл сыворотки крови, во вторую пробирку (стандартная проба) вносят 2,0 мл реагента + 0,04 мл стандартного раствора, в третью пробирку (холостая проба) добавляют только реагент (2,0 мл). **Необходимо строго соблюдать последовательность внесения реактивов в пробирки (сыворотку добавляют к реагенту)!** Перемешивают и инкубируют 2 мин. Вновь тщательно перемешивают и инкубируют точно 10 мин при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность опытной пробы ( $E_{оп}$ ) и стандартного раствора ( $E_{ст}$ ) против холостой пробы, используя кюветы с рабочей шириной 5 мм (длина волны 590 нм). Перед фотометрированием пробы необходимо взболтать.

*Расчёт:* концентрацию  $K^+$  (ммоль/л) определяют по формуле:

$$C_{оп} = C_{ст} \times E_{оп} / E_{ст}.$$

*Клинико-диагностическое значение.* Содержание  $K^+$  в сыворотке крови в норме составляет 3,4–5,6 ммоль/л.

Уменьшение концентрации калия в сыворотке крови приводит к тяжёлым нарушениям — вплоть до появления вялых параличей. Ухудшаются психическая и умственная деятельность, угнетается перистальтика кишечника, развивается метеоризм, расширяются желудок и мочевого пузыря.

Гиперкалиемия сопровождается ощущением «ползания мурашек», исчезновением сухожильных рефлексов, нарушением функции сердца. При двукратном превышении содержания калия в крови сердце останавливается в фазе диастолы.

#### **34. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по темам: «Гормоны, биохимия печени, биохимия крови, биохимия питания, интеграция метаболизма»**

1. Свойства гормонов. Особенности биологического действия.
2. Рецепторы к гормонам, классификация, строение мембранных рецепторов.
3. G-белки, их роль в механизме действия гормонов, связывающихся с мембранными рецепторами.
4. Перечислить эффекторные системы и вторичные посредники проведения гормонального сигнала в клетку. Механизмы образования вторичных посредников.
5. Роль кальция в механизме передачи гормонального сигнала.
6. Растворимая и мембраносвязанная гуанилатциклазы, механизм активации, реализация эффекта.
7. Механизмы усиления гормонального сигнала в клетке.
8. Гормоны — белки: простые и сложные. Место образования, пример молекулярного действия.
9. Гормоны — производные аминокислот. Место образования, механизмы молекулярного действия.
10. Общие принципы синтеза гормонов белково-пептидной природы.
11. Общие принципы синтеза гормонов стероидной природы.
12. Вазопресин, химическая природа, механизм действия. Влияние на метаболизм.
13. Гормон роста, механизм действия, влияние на метаболизм.
14. Иодсодержащие гормоны щитовидной железы. Химическая природа, особенности синтеза, механизм действия, влияние на метаболизм.
15. Гормоны, регулирующие обмен кальция и фосфора в организме. Место синтеза, химическая природа, механизм действия.

16. Глюкагон. Химическая природа, место синтеза, механизм действия, влияние на метаболизм углеводов и липидов.
17. Гормоны мозгового вещества надпочечников. Химическая природа, схема синтеза, механизм действия.
18. Гормоны коры надпочечников: глюко- и минералокортикоиды. Химическая природа, особенности строения рецепторов, механизм действия, влияние на метаболизм.
19. Инсулин. Химическая природа, особенности синтеза, строение рецепторов, механизмы передачи гормонального сигнала. Влияние на метаболизм углеводов, липидов, белков.
20. Половые гормоны, химическая природа, особенности строения рецепторов, механизм передачи сигнала.
21. Сахарный диабет. Нарушения обмена углеводов, биохимическая диагностика, диагностическое значение гликемических кривых при сахарной нагрузке.
22. Сахарный диабет: механизм кетонемии и нарушение реакций гликозилирования. Метаболизм глюкозы в инсулиннезависимых тканях. Восстановительный путь обмена глюкозы, его роль в норме и при сахарном диабете.
23. Печень как главный орган гомеостаза. Функции печени.
24. Роль печени в обмене углеводов. Механизм гиперлактатемии и гипогликемии при алкогольном токсикозе.
25. Роль печени в обмене белков.
26. Роль печени в обмене липидов. Механизмы развития жировой инфильтрации и дегенерации печени (в том числе при алкоголизме).
27. Антитоксическая функция печени. Обезвреживание в печени токсичных веществ, нормальных метаболитов, лекарственных препаратов.
28. Роль печени в пигментном обмене. Биосинтез гемопroteинов и его регуляция. Распад гемоглобина в клетках РЭС. Метаболизм желчных пигментов. Порфирии.
29. Желтухи. Причины возникновения. Механизмы развития патологических изменений. Лабораторная диагностика.
30. Биохимические методы диагностики заболеваний печени.
31. Гемоглобин (структура, физиологические гемоглобины, производные гемоглобина, аномальные формы).
32. Механизмы транспорта кислорода и углекислого газа кровью. Виды гипоксий и их причины.
33. Буферные системы крови (разновидности, компоненты, механизм действия, емкость).
34. Индикаторные ферменты крови и их диагностическое значение.
35. Белки плазмы крови. Основные белковые фракции: альбумины, глобулины, фибриноген (содержание, функции); альбумино-глобулиновый коэффициент и его диагностическое значение. Биологическая роль и диагностическое значение некоторых белков плазмы крови (гаптоглобин, трансферрин, церулоплазмин, ингибиторы трипсина, С-реактивный белок, интерферон, криоглобулины).
36. Что понимают под гемостазом? Представление о механизмах гемостаза. Три основных структурно-функциональных компонента гемостаза. К каким патологическим состояниям могут привести нарушения в системе гемостаза?
37. Функциональные звенья системы свертывания крови и их биологическая роль.
38. Свертывающая система крови (компоненты и их происхождение). Гемокоагуляция (определение, время свертывания крови, фазы и их продолжительность). Внутренний и внешний механизм гемокоагуляции (схемы), общие этапы и отличия. Активаторы фактора Хагемана. Роль тромбоцитов в гемокоагуляции. Физиологические концентрации фибриногена в крови. Схема превращения фибриногена в фибрин. Молекулярные различия фибрина S и I. Физиологические концентрации кальция в крови и его участие в свертывании крови. Витамин К (химическая природа, разновидности, природные источники, роль в гемокоагуляции, викасол).

39. Антикоагулянтная система. Классификация естественных антикоагулянтов. Наиболее значимые естественные антикоагулянты, механизм их действия. Искусственные антикоагулянты (примеры). Механизм действия дикумарола и гепарина.

40. Фибринолитическая система, механизмы фибринолиза. Плазминовая система (компоненты и их происхождение, механизм действия).

41. Витамин В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), пантотеновая кислота, РР (никотиновая кислота), В<sub>6</sub> (пиридоксин), В<sub>9</sub> (фолиевая кислота), В<sub>12</sub> (кобаламин), Н (биотин), С (аскорбиновая кислота). Узнать витамин по нарисованной формуле, назвать химическую природу. Знать коферментные формы и участие в метаболизме, признаки гиповитаминоза, суточную потребность. Уметь нарисовать блок-схемы для коферментных форм витамина РР (НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup>) и витамина В<sub>2</sub> (ФМН и ФАД). Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (вит. Р), холин, липоевая кислота, парааминобензойная кислота, витамин U, карнитин, инозитол, пангамовая кислота и др. Оценка обеспеченности организма витаминами.

42. Энергозатраты организма взрослого человека в состоянии покоя в норме и изменения их при патологии. Пути использования АТФ в состоянии покоя. Реальный и желательный вклад в энергопродукцию белков, жиров и углеводов.

43. Метаболические процессы использования углеводов, жиров и белков в качестве источников энергии (гликогенолиз, дихотомическое расщепление глюкозы и последующее окисление ПВК, мобилизация жира из депо и β-окисление жирных кислот).

44. Метаболические процессы депонирования углеводов и липидов пищи.

45. Пищевая ценность углеводов, липидов и белков. Незаменимые и условно незаменимые факторы питания. Роль волокнистых полисахаридов пищи для работы пищеварительного тракта и обменных процессов в организме.

46. Квашиоркор и маразм — клинические формы синдрома недостаточности питания. Характерные черты, сходство и принципиальные отличия.

47. Регуляция и направленность метаболических процессов в печени после приема пищи и натощак.

48. Межорганый метаболизм для обеспечения организма энергией в различные периоды голодания. Механизм гиперпродукции кетоновых тел.

49. Токоферол. Химическая природа, участие в метаболизме, признаки гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники витамина Е.

50. Ретинол. Химическая природа, участие в метаболизме, признаки гипо- и гипervитаминоза, суточная потребность, основные источники витамина А.

51. Витамин К. Химическая природа, участие в процессе свертывания крови. Синтетические производные. Антивитамины.

52. Витамин D. Химическая природа, всасывание, механизм действия.

### Перечень экзаменационных вопросов по биологической химии

#### Первые вопросы

1. Аминокислоты. Строение, классификация, свойства, применение как лекарственных препаратов.
2. История развития представлений о структуре белков. Теории Мульдера, Фишера. Принципы классификации белков. Сходства и отличия белков и пептидов.
3. Физико-химические свойства белков. Растворимость белков в воде. Факторы устойчивости белковых растворов. Общие реакции на белки: цветные и осадения. Использование этих реакций в медицинской практике.
4. Методы разделения белков, пептидов и аминокислот (электрофорез; адсорбционная, ионообменная, распределительная хроматографии; вестерн-блот анализ).
5. Этапы исследования первичной структуры белков и пептидов. Методы очистки, разделения и определения молекулярной массы белков и пептидов (диализ, гель-хроматография, гель-электрофорез, изоэлектрофокусирование, аффинная хроматография).
6. Методы исследования аминокислотного состава (ионообменная хроматография) и аминокислотной последовательности белков и пептидов (Сэнджер, Эдман, Акабори, секвенатор Эдмана–Бэга). Сравнительный анализ гомологичных белков.
7. Методические подходы к искусственному синтезу белков и пептидов (синтез в растворе, твердофазный, полусинтез, генная инженерия). Биологическая роль пептидов.
8. Первичная и вторичная структура белковой молекулы. Связи, стабилизирующие их. Особенности строения пептидной связи и их роль в формировании пространственной структуры белка (постулаты Полинга–Кори). Виды вторичной структуры.
9. Понятие о надвторичной структуре белка. Структурные и функциональные домены. Причины формирования третичной структуры белковой молекулы.
10. Третичная структура белка. Силы, стабилизирующие третичную структуру. Конформационные изменения при функционировании белков. Денатурация белка и факторы, ее вызывающие. Использование явления денатурации в медицинской практике.
11. Четвертичная структура белков. Преимущества существования белков с четвертичной структурой. Кооперативные изменения конформации полипептидных цепей при функционировании белков с четвертичной структурой на примере гемоглобина. Сравнительные особенности транспорта кислорода гемоглобином и миоглобином.
12. Белок-лигандное взаимодействие. Сложные белки. Типы связей между белковой и небелковой частями молекулы. Функции сложных белков в организме.
13. Мононуклеотиды, их строение и роль в клетке. Роль циклических нуклеотидов. Первичная структура нуклеиновых кислот. Особенности строения, функции и распределения в клетке ДНК и РНК. Метод анализа первичной структуры ДНК (Сэнджер).
14. Вторичная структура ДНК и РНК. Виды РНК и их функции. Взаимодействие нуклеиновых кислот с белками. Строение нуклеопротеинов. Особенности строения хромосом и рибосом.
15. Блот-анализ ДНК (Саузерн-блот) и метод «отпечатков пальцев» ДНК. Основные этапы и применение в медицинской практике.
16. Липиды, классификация липидов. Функции ацилглицеролов, фосфо- и гликолипидов в организме.
17. Сложные липиды. Представители. Строение, полярность, биологическая роль.
18. Жирные кислоты, классификация и номенклатура. Высоконепредельные жирные кислоты. Происхождение и биологическая роль простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов.



19. Углеводы. Классификация. Биологическая роль отдельных групп углеводов (моносахаридов, дисахаридов, гомо- и гетерополисахаридов).
20. Роль ферментов в процессах жизнедеятельности. Принципы номенклатуры и классификации ферментов. Единицы активности.
21. Химическая природа и общие свойства ферментов.
22. Коферменты, классификация и роль.
23. Механизм действия ферментов и ферментативная кинетика. Уравнения Михаэлиса-Ментен и Лайнуивера–Бэрка.
24. Множественные формы ферментов, их классификация. Изоферменты, их молекулярные разновидности, значение в клетке.
25. Понятие об активном и аллостерическом центрах ферментов. Роль пространственной структурной организации в их формировании.
26. История развития учения о витаминах. Общая характеристика и классификация витаминов, гипер-, гипо- и авитаминозы. Антивитамины. Оценка обеспеченности организма витаминами.
27. Витамины группы А. Провитамины (каротины). Строение, свойства и биологическая роль. Всасывание в кишечнике. Явления гипо- и гипервитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
28. Витамины группы Д. Провитамины. Строение и свойства. Биологическая роль. Явления гипо- и гипервитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
29. Витамины группы Е. Строение и свойства. Биологическая роль. Явления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
30. Витамины группы К. Строение и свойства. Биологическая роль. Гиповитаминоз. Пищевые источники. Суточная потребность. Викасол. Антагонисты витамина К.
31. Биотин. Строение и свойства, коферментная форма. Биологическая роль. Комплекс биотин-авидин. Явления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
32. Витамин В<sub>1</sub>. Строение и свойства. Участие в построении коферментов. Роль в обмене веществ. Явления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
33. Витамин В<sub>2</sub>. Строение и свойства. Участие в образовании флавиновых коферментов. Биологическая роль. Пищевые источники. Суточная потребность.
34. Витамин В<sub>6</sub>. Строение и свойства, участие в образовании коферментов. Роль в обмене веществ. Явления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
35. Витамин В<sub>12</sub>. Строение и свойства. Кобамидные коферменты. Участие в обмене веществ. Внутренний фактор. Явления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
36. Витамин С. Строение и свойства. Биологическое значение. Признаки гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
37. Пантотеновая кислота. Строение и свойства. Коферменты, содержащие пантотеновую кислоту. Биологическая роль. Пищевые источники. Суточная потребность.
38. Витамин РР. Строение и свойства. Участие в образовании никотинамидных коферментов. Биологическое значение. Проявления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
39. Фолиевая кислота, строение и свойства, участие в образовании коферментов. Роль в обмене веществ. Основные проявления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
40. Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (витамин Р), парааминобензойная кислота, инозитол, пангамовая кислота, липоевая кислота, холин, витамин U, карнитин, антоцианины, глюкозинолаты. Биологическая роль.

## Вторые вопросы

1. Обмен веществ и энергии, как важнейший признак жизнедеятельности. Общее представление о метаболизме. Катаболические и анаболические пути. Центральные пути метаболизма. Единство процессов ассимиляции и диссимиляции. Связь на уровне субстратов, восстановленных коферментов, энергии, регуляторов обмена
2. Адениловая система (АТФ, АДФ, АМФ) и ее биологическое значение. Энергетический заряд клетки. Другие макроэргические соединения. Механизмы синтеза АТФ.
3. Окислительно-восстановительные процессы в тканях. Оксидоредуктазы, коферменты оксидоредуктаз. Роль кислорода в процессах биологического окисления. Участие митохондрий в процессах биологического окисления.
4. Современное представление о тканевом дыхании. Субстраты тканевого дыхания. Дыхательная цепь митохондрий и ее характеристика: пиридинзависимые и флавинзависимые дегидрогеназы, убихинон (коэнзим Q), цитохромы. Химическое строение, участие в транспорте электронов на кислород.
5. Окислительное фосфорилирование как основной механизм синтеза АТФ в животных клетках. Этапы, регуляция. Причины гипозенергетических состояний. Разобщители и ингибиторы окислительного фосфорилирования, механизм их действия.
6. Митохондрии, особенности строения мембран митохондрий. Комплексы дыхательной цепи: состав, топология, участие в процессах биологического окисления. Митохондриальный синтез АТФ. АТФ-синтетаза. Сопряжение процессов тканевого дыхания и фосфорилирования.
7. Дегидрогеназы, оксидазы, оксигеназы. Биологическая роль в клетке. Система микросомного окисления.
8. Транспорт глюкозы в клетки различных органов и тканей. Пути метаболизма глюкозы, их значение и взаимосвязь.
9. Метаболизм гликогена: гликогенез и гликогенолиз, назначение. Последовательность реакций. Механизмы регуляции. Гликогеновые болезни (гликогенозы и агликогенозы).
10. Фосфоролиз и гидролиз гликогена в печени и мышцах. Влияние адреналина, глюкагона и инсулина на гликогенолиз.
11. Дихотомический распад углеводов как путь получения энергии в клетках. Анаэробное и аэробное окисление глюкозы, этапы, конечные продукты. Энергетический выход.
12. Гликолиз. Этапы, реакции, регуляция, биологическая роль. Энергетический выход и механизм образования АТФ в анаэробных условиях. Связь гликолиза с другими метаболическими процессами.
13. Спиртовое брожение углеводов. Общие реакции для спиртового брожения и гликолиза, различия этих двух процессов. Обмен экзогенного этанола.
14. Пируват как центральный метаболит. Пути превращения пирувата в зависимости от энергетического статуса и особенностей окислительного метаболизма клетки.
15. Глюконеогенез. Субстраты, ферменты, энерготраты, биологическая роль. Регуляция глюконеогенеза.
16. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и других  $\alpha$ -кетокислот, ферменты, коферменты, биологическое значение. Отличие от простого декарбоксилирования.
17. Лимоннокислый цикл как центральный метаболический путь (локализация, последовательность химических превращений). Биологическое значение цикла. Связь с процессом окислительного фосфорилирования.
18. Пентозофосфатный путь распада глюкозы, этапы, назначение.
19. Глюкуроновая кислота. Путь образования. Пути метаболизма глюкуроновой кислоты.
20. Взаимопревращения моносахаридов в организме. Нарушение обмена галактозы (галактоземия) и фруктозы (идиопатическая фруктозурия, врожденная непереносимость фруктозы), подходы к диагностике и лечению.

21. Механизмы образования углекислого газа и воды — конечных продуктов обмена веществ.
22. Ресинтез липидов в клетках слизистой тонкого кишечника. Пути ресинтеза триацилглицеролов, фосфолипидов, эфиров холестерина.
23. Транспорт липидов в крови. Структура, образование и метаболизм хиломикронов. Роль липопротеинлипазы в обмене хиломикронов и других липопротеинов.
24. Транспорт липидов в крови. Структура, образование и метаболизм ЛПОНП, ЛППП и ЛПНП. Роль липопротеинлипазы, печеночной липазы и рецепторов клеточной поверхности.
25. Доставка липидов в клетки органов и тканей. Транспорт холестерина, жирных кислот. Механизм поддержания баланса холестерина в клетках организма.
26. Транспорт липидов. Образование и последующий метаболизм ЛПВП в организме. Роль ЛХАТ. Пути снижения повышенного уровня холестерина в плазме крови.
27. Депонирование липидов в жировой ткани и мобилизация жира из депо. Роль гормонов, лептина. Источники субстратов для синтеза триацилглицеролов в жировой ткани.
28. Транспорт, поступление в клетку и использование жирных кислот в качестве источников энергии. Окисление жирных кислот в митохондриях и пероксисомах. Энергетический выход.
29. Катаболизм жирных кислот в клетках. Особенности окисления ненасыщенных жирных кислот, с нечетным числом углеродных атомов, с разветвленным радикалом, с большим числом углеродных атомов.  $\alpha$ - и  $\omega$ -Окисление. Болезнь Рефзума.
30. Биосинтез жирных кислот. Происхождение субстратов. Полиферментный комплекс, синтезирующий жирные кислоты в эукариотической клетке. Значение биотина, НАДФН<sup>+</sup>. Активаторы и ингибиторы синтеза жирных кислот.
31. Биосинтез ненасыщенных жирных кислот, жирных кислот с большим числом углеродных атомов. Роль микросомных ферментов.
32. Биосинтез холестерина. Регуляция уровня холестерина в клетках. Производные холестерина. Связь нарушений обмена липидов с развитием заболеваний (атеросклероз, желчно-каменная болезнь, жировое перерождение печени).
33. Нарушения обмена холестерина. Факторы, оказывающие влияние на уровень липопротеинов плазмы крови.
34. Кетоновые тела. Образование кетоновых тел. Пути катаболизма. Причины и следствия повышения образования кетоновых тел.
35. Биосинтез фосфолипидов. Роль липотропных факторов.
36. Переаминирование. Ферменты. Коферменты. Роль этого процесса для жизнедеятельности клетки. Диагностическое значение определения активности трансаминаз в сыворотке крови.
37. Пути дезаминирования аминокислот. Ферменты и коферменты окислительного дезаминирования. Биологическое значение глутаматдегидрогеназной реакции.
38. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
39. Пути обезвреживания аммиака в организме. Транспорт аммиака по крови.
40. Аминокислотный фонд клетки. Источники пополнения. Пути использования аминокислотного фонда. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Механизмы синтеза аминокислот.
41. Общие пути метаболизма аминокислот. Особенности обмена отдельных аминокислот на примере обмена фенилаланина и тирозина.
42. Образование мочевины. Роль печени в мочевинообразовании. Значение исследования уровня мочевины и остаточного азота в клинической практике.
43. Декарбоксилирование аминокислот. Образование биогенных аминов и их роль в организме. Пути их распада.
44. Связь обмена липидов и углеводов. Их взаимопревращения.

45. Образование и использование в клетке ацил-КоА и ацетил-КоА.
46. Образование и роль свободных радикалов в клетке.
47. Перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков и нуклеиновых кислот и роль этих процессов в развитии оксидативного стресса.
48. Ферментативная и неферментативная системы антиоксидантной защиты в клетке.

### Третьи вопросы

1. Гормоны. Химическая природа. Классификация. Связь структуры гормонов с механизмом их действия.
2. Гормоны гипофиза, их химическая природа. Связь с гипоталамусом. Вазопрессин — молекулярный механизм проведения сигнала в клетку, влияние на метаболизм.
3. Гормоны щитовидной железы. Их строение и образование. Механизм действия, влияние на метаболизм. Гипо- и гипертиреоз.
4. Гормоны, регулирующие обмен кальция и фосфора. Химическая природа. Механизм действия.
5. Инсулин. Химическая природа и механизм действия. Роль инсулина в регуляции обмена углеводов, липидов и белков.
6. Метаболические нарушения при сахарном диабете. Роль гликозилирования белков, восстановительного пути обмена глюкозы.
7. Глюкагон. Химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, влияние на метаболизм.
8. Глюкокортикоиды, их строение, рецепторы, механизм передачи сигналов в клетках-мишенях. Влияние на метаболизм.
9. Минералокортикоиды, их строение, механизм передачи сигналов в клетках-мишенях. Влияние на метаболизм.
10. Гормоны мозговой части надпочечников: адреналин, норадреналин. Строение, синтез. Механизм проведения сигнала в клетки-мишени, влияние на метаболизм.
11. Мужские половые гормоны, химическая природа, механизм передачи сигналов в клетках-мишенях.
12. Женские половые гормоны, химическая природа, механизм передачи сигналов в клетках-мишенях.
13. Биосинтез пуриновых нуклеотидов. Исходные субстраты синтеза. Регуляция синтеза. Роль витаминов в механизмах синтеза.
14. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов. Оротовая кислота. Источники пентоз. Регуляция синтеза. Роль витаминов в синтезе пиримидиновых нуклеотидов.
15. Матричный механизм синтеза ДНК. Ферменты и субстраты синтеза. Особенности синтеза у эукариот.
16. Полимеразная цепная реакция и клонирование как методы искусственного размножения ДНК. Основные этапы и применение в медицинской практике.
17. Синтез РНК. Ферменты и субстраты синтеза. Особенности синтеза у эукариот. Регуляция синтеза.
18. Генетический код и его свойства.
19. Роль т-РНК в синтезе белка. Специфичность АРСаз. Адапторная функция т-РНК.
20. Рекогниция и трансляция как этапы реализации генетической информации в клетке. Субстраты, ферменты, механизм.
21. Регуляция биосинтеза белка в клетке на генетическом уровне. Роль гистонов, гормонов, жирорастворимых витаминов, антибиотиков.
22. Посттрансляционная модификация молекул белка. Особенности синтеза коллагена. Гидроксилирование, гликозилирование, ограниченный протеолиз. Другие механизмы посттрансляционных модификаций.

23. Обратимая и необратимая регуляция биохимических реакций. Представление о механизме изостерической регуляции. Использование принципов изостерической регуляции в медицинской практике.

24. Представление о механизме аллостерической регуляции биохимических реакций. Аллостерические эффекторы. Виды аллостерической регуляции.

25. Ковалентная модификация структуры ферментов как механизм регуляции биохимических реакций. Роль реакций фосфорилирования в ковалентной модификации. Регуляторы фосфорилирования ферментов.

26. Гуморальная регуляция обмена липидов. Роль отдельных гормонов в механизмах регуляции липидного обмена (инсулин, адреналин, глюкагон, стероидные гормоны).

27. Гуморальная регуляция обмена углеводов. Роль отдельных гормонов в механизмах регуляции обмена углеводов (инсулин, адреналин, глюкагон, глюкокортикоиды).

28. Гуморальная регуляция содержания глюкозы в крови. Механизмы регуляторного действия гормонов.

29. Общие представления о молекулярной организации биологических мембран. Участие структурных компонентов мембран в межклеточной сигнализации. Рецепторы, классификация рецепторов.

30. Механизмы передачи информации от внешних сигналов на внутриклеточные процессы. Механизмы усиления сигналов. Вторичные посредники и механизмы их образования.

31. Механизмы передачи информации от внешних сигналов на внутриклеточные процессы. Механизмы усиления сигналов. Роль G- белков в этих процессах.

32. Механизмы передачи информации от внешних сигналов на внутриклеточные процессы. Аденилатциклаза и фосфодиэстераза. Регуляция активности этих ферментов. Значение уровня цАМФ для клетки.

33. Механизмы передачи информации от внешних сигналов на внутриклеточные процессы. Фосфолипаза С. Субстраты и продукты. Роль этих продуктов в механизмах трансформации внешнего сигнала.

34. Механизмы передачи информации от внешних сигналов на внутриклеточные процессы. Инозитолфосфолипидный путь внутриклеточной сигнализации. Инозитолтрифосфат и диацилглицерол, механизмы образования и действия.

35. Механизмы передачи информации от внешних сигналов на внутриклеточные процессы. Роль ионов кальция в механизмах трансформации внешних сигналов. Калмодулин.

36. Роль ограниченного протеолиза в механизмах регуляции процессов жизнедеятельности. Свертывание крови. Факторы и механизмы свертывания. Значение ионов кальция и витамина К в процессах свертывания крови.

37. Роль ограниченного протеолиза в механизмах регуляции процессов жизнедеятельности. Фибринолиз. Биологическая роль фибринолиза. Плазминовая система.

38. Антикоагулянтная система. Первичные и вторичные антикоагулянты.

39. Важнейшие характеристики и составляющие интеграции метаболизма.

40. Межорганный метаболизм и обеспечение организма энергосубстратами в состоянии после приема пищи.

41. Межорганный метаболизм и обеспечение организма энергосубстратами в состоянии натошак и при длительном голодании.

42. Гормональная регуляция адаптации метаболических путей к состоянию после приема пищи и голоданию (инсулин, глюкагон, катехоламины, кортикостероиды).

#### **Четвертые вопросы**

1. Предмет и задачи биологической химии. Роль биохимии в теоретической и практической медицине. Объекты и методы биохимических исследований.

2. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте. Конечные продукты распада пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов. Гиперурикемия, подагра, подходы к диагностике, профилактике и лечению.
3. Азотистый баланс. Нормы белков в питании. Биологическая ценность белков.
4. Пищевая ценность белков, углеводов, липидов, усваиваемость в желудочно-кишечном тракте. Незаменимые факторы питания. Энергия — потребность, происхождение и расходование в организме.
5. Применение ферментов и их ингибиторов в медицинской практике.
6. Роль печени в обмене белков, углеводов, липидов.
7. Антитоксическая функция печени. Обезвреживание в печени токсичных веществ, нормальных метаболитов, лекарственных препаратов.
8. Синтез и распад кровяных пигментов. Роль печени в образовании желчных пигментов. Метаболизм желчных пигментов.
9. Желтухи, происхождение, методы диагностики желтух.
10. Биохимические методы диагностики поражений печени.
11. Происхождение ферментов плазмы крови. Значение определения активности ферментов в плазме крови с диагностической целью и для контроля за эффективностью лечения.
12. Химический состав плазмы крови. Методы исследования химического состава плазмы крови, используемые в клинической практике.
13. Буферные системы крови и их значение. Доказательство буферных свойств сыворотки крови. Общие представления о регуляции кислотно-основного состояния (КОС). Значение определения показателей КОС в медицинской практике.
14. Механизмы переноса углекислоты и кислорода кровью. Механизмы развития гипоксических состояний.
15. Белки плазмы крови. Функции. Клинико-биохимическое значение определения общего белка плазмы крови и белковых фракций.
16. Методы обнаружения и количественного определения белков в биологических жидкостях (моча, плазма крови).
17. Дислипотеинемии, причины возникновения, способы распознавания и значение в развитии заболеваний.
18. Основные показатели анализа мочи здорового человека.
19. Азотсодержащие вещества мочи, их происхождение и роль в организме. Принцип определения общего азота мочи.
20. Патологические составные части мочи и их определение.
21. Протеинурия. Обнаружение и количественное определение белка. Причины протеинурии.
22. Глюкозурия, ее происхождение. Значение определения глюкозы в моче.
23. Ацетонурия, ее происхождение. Значение определения кетоновых тел.
24. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Качественный и количественный анализ желудочного сока. Роль соляной кислоты.
25. Сок поджелудочной железы. Участие в переваривании углеводов и липидов. Принципы и клиническое значение определения активности амилазы в моче.
26. Классификация и свойства протеаз. Участие в переваривании белков. Субстратная специфичность. Ингибиторы протеаз и их использование в клинической практике при нарушении функции поджелудочной железы.
27. Пищевая ценность углеводов. Переваривание и всасывание углеводов. Роль клетчатки и пектинов в питании. Нарушения переваривания углеводов, принципы диагностики и лечения.
28. Этапы переваривания липидов пищи в желудочно-кишечном тракте. Роль желчных кислот, ферментов. Печеночно-кишечная рециркуляция желчных кислот. Механизмы всасывания продуктов ферментативного гидролиза жира.

29. Химические реакции, лежащие в основе гниения белков в кишечнике. Понятие о ксенобиотиках. Механизмы обезвреживания их в организме.
30. Причины гипер- и гипоферментемий при патологических процессах.
31. Вода. Значение воды. Биологическая роль натрия, калия, хлора. Механизмы регуляции водно-минерального обмена.
32. Макроэлементы (кальций, фосфор, магний). Биологическая роль.
33. Роль серы в обмене веществ. Тиоловые и дисульфидные группы белков и гормонов, их участие в формировании структуры и специфических свойств белка. Глутатион, сульфолипиды, тиамин, биотин, участие в обезвреживании.
34. Микроэлементы. Их значение. Роль ионов марганца, меди, цинка, селена, кобальта, йода, фтора.
35. Механизмы всасывания, транспорта и депонирования железа. Роль железа в обмене веществ.
36. Особенности метаболизма в клетках соединительных тканей. Функции соединительных тканей и биомедицинское значение внеклеточного матрикса.
37. Белки волокнистых структур соединительных тканей: структурные (коллаген, эластин) и адгезивные (фибронектин, фибриллин, ламинин, энтактин). Особенности первичной и пространственной структуры. Функции.
38. Белково-углеводные комплексы (БУК), классификация. Роль в организме. Особенности синтеза и распада БУК, нарушение этих процессов.
39. Химический состав мышечной ткани. Строение и роль сократительных белков.
40. Молекулярный механизм мышечного сокращения и расслабления. Источники энергии и механизмы энергообеспечения мышечного сокращения.
41. Врожденные и приобретенные заболевания сердечной и скелетных мышц. Биохимические методы диагностики.
42. Клинические формы синдрома недостаточного питания. Происхождение, характерные нарушения метаболизма.
43. Синдром недостаточного питания. Основные причины развития при заболеваниях.

Учебное издание

**Таганович** Анатолий Дмитриевич  
**Котович** Ирина Леонидовна  
**Олецкий** Эдуард Иванович др.

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ.  
ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ РУКОВОДСТВО  
К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ**

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск А. Д. Таганович  
В авторской редакции  
Компьютерная верстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 31.03.11. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка».

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 5,58. Уч.-изд. л. 3,1. Тираж 1300 экз. Заказ 471.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».  
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.  
ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.  
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.