

**МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ -
филиал федерального государственного бюджетного образовательного учре-
ждения высшего образования
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*Кафедра микробиологии и иммунологии
с курсом биологической химии*

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ
к лабораторным занятиям по биологической химии
для студентов 3 курса VI семестр
33.05.01 Фармация (уровень специалитета)**

Пятигорск, 2021

УДК 577.1 (076.5)
ББК 28. 072я73
С 46

Рецензент: Кодониди И.П. д-р ф. н., профессор кафедры органической химии ПМФИ - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации

Скульте И.В., Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Жилина О.М., Парфентьева Е.П.

С 46 УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ к лабораторным занятиям по биологической химии для студентов 3 курса VI семестр 33.05.01 Фармация (уровень специалитета)
/ Скульте И.В. [и др.]. – Пятигорск: ПМФИ, 2021. –100 с.

Учебно-методическое пособие составлено в соответствии с рабочей программой дисциплины по биологической химии для студентов 3-го курса направления 33.05.01 Фармация (уровень специалитета) очной формы обучения. В учебно-методическое пособие включены вопросы для обсуждения по темам занятий, примеры тестовых заданий, список используемой литературы, алгоритмы выполняемых на занятиях самостоятельных работ, подробное их описание, формы протоколов для оформления результатов, а также задания для самостоятельной (внеаудиторной) работы студентов.

Пособие призвано помочь структурировать выполняемую работу во время занятий, систематизировать знания по темам.

УДК 577.1 (076.5)
ББК 28.072я73

*Печатается по решению Центральной методической комиссии
Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ
ВО ВолгГМУ Минздрава РФ*

© ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ИНСТИТУТ - филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, 2021

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

№ п/п	Темы лабораторных занятий	Вид занятия	Коли- чество часов
1.	Катаболизм липидов.	ЛЗ	3
2.	Синтез липидов. Обмен стероидов.	ЛЗ	3
3.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Обмен липидов.	ЛЗ	3
4.	Обмен аминокислот и белков.	ЛЗ	3
5.	Пути обезвреживания аммиака в клетке.	ЛЗ	3
6.	Обмен сложных белков.	ЛЗ	3
7.	Матричные биосинтезы: репликация, транскрипция и трансляция. Основные этапы белкового синтеза.	ЛЗ	3
8.	Итоговое занятие. Контрольная работа и итоговое тестирование по теме: Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков.	ЛЗ	3
9.	Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Классификация. Механизм действия.	ЛЗ	3
10.	Стероидные гормоны. Гормоны – производные аминокислот. Белково-пептидные гормоны. Гормоны производные жирных кислот.	ЛЗ	3
11.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны.	ЛЗ	3
12.	Биохимия органов и тканей.	ЛЗ	3
13.	Фармацевтическая биохимия.	ЛЗ	3
14.	Метаболизм лекарственных соединений.	ЛЗ	3
15.	Итоговое занятие и итоговое тестирование по темам: Обмен липидов. Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков. Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Фармацевтическая биохимия.	ЛЗ	3

Занятие 1. Тема: Катаболизм липидов.

Цель: научиться методам количественного определения липидов.

Задачи:

- провести гидролиз триацилглицеринов молока под действием панкреатической липазы и желчных кислот с определением продуктов гидролиза жирных кислот;
- выполнить определение бета – и пре-бета- липопротеинов в сыворотке крови.

Вопросы для обсуждения

1. Гидролиз и ресинтез триацилглицеринов и фосфолипидов в желудочно – кишечном тракте с написанием уравнений.
2. Структура желчных кислот и их роль в пищеварении жиров.
3. Особенности всасывания жирных кислот в кишечнике.
4. Катаболизм триацилглицеринов в тканях.
5. Окисление глицерина в тканях (схема) и его энергетический итог.
6. Бета-окисление жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов, бета – окисление непредельных жирных кислот с написанием уравнений. Энергетический итог окисления жирных кислот.
7. Синтез жирных кислот в тканях с написанием уравнений.

Самостоятельная работа

Работа 1. Изучение динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы.

Работа 2. Определение содержания бета и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови по методу Бурштейна и Самай.

Методы выполнения

Изучение динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы

Принцип метода: основан на титриметрическом определении с помощью гидроксида натрия жирных кислот, освобождающихся из триглицеридов под влиянием липазы.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	Номер колбы		
	№ 1	№ 2	№ 3
Молоко	5 мл	5 мл	5 мл
H ₂ O дистиллированная	1 мл	-	-
5% раствор панкреатина, рН=8,0	-	1 мл	1 мл
Желчь	-	-	5 кап
Термостат, 37°C	30 мин	30 мин	30 мин
Инкубационная смесь	5 мл колбы 1	5 мл колбы 2	5 мл колбы 3
H ₂ O дистиллированная	10 мл	10 мл	10 мл
Раствор фенолфталеина, 0,5%	2 кап.	2 кап.	2 кап.
Объем 0,1М раствора NaOH, пошедшего на титрование (до слабо – розового окрашивания)			

Вывод: скорость гидролиза триглицеридов под влиянием липазы панкреатина (повышается / понижается) в присутствии желчи.

Определение содержания бета – и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови по методу Бурштейна и Самой

Принцип метода: бета – и пре-бета-липопротеиды с гепарином дают комплекс, который под действием хлорида кальция выпадает в осадок. Мутность пропорциональна количеству липопротеинов.

Таблица 2

Кювета	Хлорид кальция 0,025М раствор	Сыворотка крови	ФЭК, $\lambda=750$ нм, против воды	Гепарин 1000 Ед в 1 мл	Через 4 мин ФЭК, $\lambda=750$ нм, против воды
0,5 см	2,0 мл	0,2 мл	$E_I = ?$	0,04 мл (\approx 2 кап.)	$E_{II} = ?$
Расчет: $X = (E_{II} - E_I) \cdot 11,65 = ?$ (г/л)					

Норма: 3,6 – 6,5 г/л

Вывод: в пробе сыворотки крови содержится ____ г/л пре-бета- и бета-липопротеинов.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола.

Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Назовите принцип определения динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы.
2. Назовите принцип определения бета – и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови.
3. С какой целью при изучении динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы добавляется желчь?
4. Опишите ход определения бета - и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови.
5. С какой целью используется раствор фенолфталеина при изучении динамики гидролиза триацилглицеринов?
6. Каково диагностическое значение определения бета- и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови?
7. Какие липопротеины имеются в сыворотке крови?
8. О чем свидетельствует результат гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы?
9. Опишите постановку изучения динамики гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы, в чем отличие трех проб взятых для исследования?
10. Опишите отличия химического состава триацилглицеринов от бета- и пре-бета-липопротеинов.

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Приведите уравнения реакций фосфатидного и бета-моноголицеридного путей ресинтеза триацилглицеринов в кишечном эпителии с указанием ферментов.
2. Приведите уравнения реакций бета – окисления жирной кислоты с четным числом углеродных атомов и указать ферменты их катализирующие.
3. Приведите уравнения реакций (с указанием ферментов) метилмало-

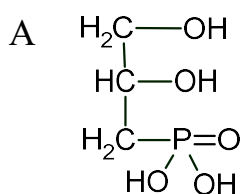
нилового пути окисления пропионил-КоА.

4. Приведите уравнения реакций синтеза жирных кислот в тканях с указанием ферментов.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные представления о роли липопротеинов при нарушениях липидного обмена.

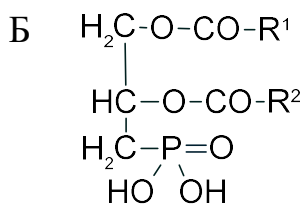
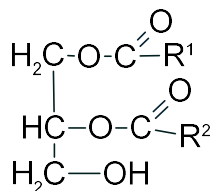
Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

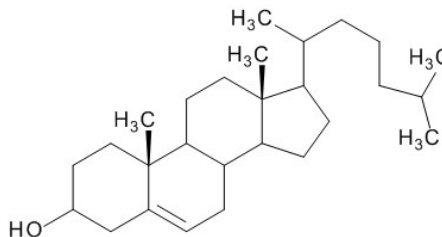
1. Промежуточными продуктами ресинтеза триацилглицеринов являются:



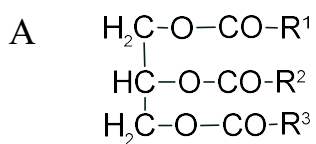
В



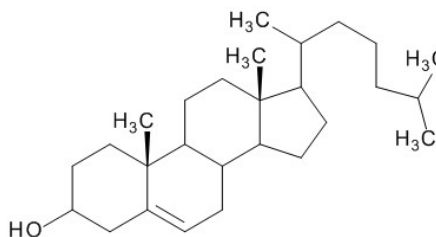
Г

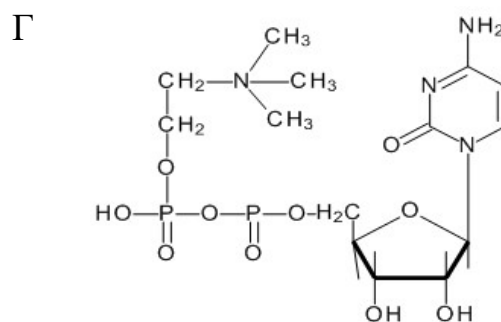
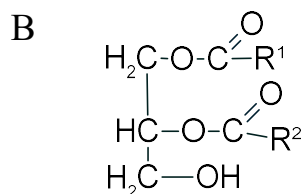


2. Промежуточными продуктами ресинтеза фосфолипидов являются:

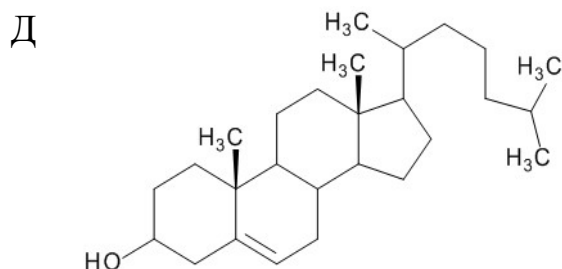
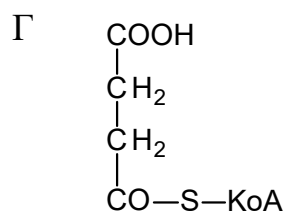
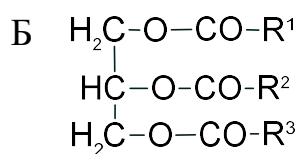
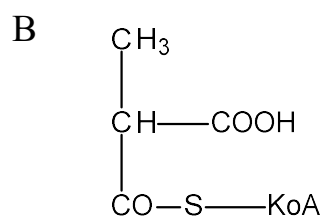
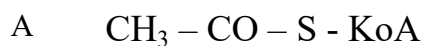


Б





3. Образующийся в процессе β -окисления пропионил-КоА последовательно превращается затем в:



4. В синтезе жирных кислот ацилпереносящий белок (АПБ):

А – участвует в реакциях дегидрирования

Б – участвует в реакции гидратации

В – выполняет роль акцептора и переносчика ацильных остатков

Г – участвует в синтезе малонил-КоА

Д – участвует в синтезе гидроксибутирата

5. Процесс окисления жирных кислот осуществляется путем:

А – повторяющегося гидролиза

- Б – повторяющейся изомеризации
- В – повторяющегося дегидрирования в бета-положении
- Г – повторяющейся циклизации
- Д – повторяющегося дегидрирования в альфа-положении

Занятие 2. Тема: Синтез липидов. Обмен стероидов.

Цель: научиться методам качественного и количественного определения липидов и их метаболитов.

Задачи:

- определить содержание холестерина в сыворотке крови по методу Илька;
- определить наличие кетоновых тел в моче;
- провести качественные реакции на стероиды.

Вопросы для обсуждения

1. Синтез липидов в тканях.
2. Особенности синтеза триацилглицеринов в печени и почках.
3. Особенности синтеза триацилглицеринов в мышцах и жировой ткани.
4. Синтез фосфолипидов у холинсинтезирующих и холиннесинтезирующих организмов.
5. Катаболизм холестерина и холестерина.
6. Роль холестерина как предшественника холевых кислот, витамина Д₃, стероидных гормонов.
7. Биосинтез холестерина и реакции образования мевалоновой кислоты.
8. Основные формы нарушений липидного обмена.
9. Биосинтез кетоновых тел, их роль в условиях нормального и нарушенного обмена веществ.
10. Нейрогуморальная регуляция обмена липидов.

Самостоятельная работа

Работа 1. Определение содержания холестерина в сыворотке крови по методу Илька.

Работа 2. Определение кетоновых тел в моче.

Работа 3. Качественные реакции на стероиды.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Определение содержания холестерина в сыворотке крови по методу Илька

Принцип метода: холестерин в присутствии уксусного ангидрида и смеси уксусной и серной кислот дает зеленое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству холестерина.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	Номер пробирки (пробирка должна быть абсолютно сухой)	
	№ 1	№ 2
Реактив Илька	2,1 мл	2,1 мл
Сыворотка крови	0,1 мл сыворотка №1	0,1 мл сыворотка №2
Встряхивание	11-12 раз	11-12 раз
Термостат 37°C	10-20 мин	10-20 мин
ФЭК, $\lambda=750$ нм против реактива Илька (кювета на 0,5 см)	$E_I = ?$	$E_{II} = ?$
Расчет по калибровочному графику	$X_I = \text{_____}$ ммоль/л	$X_{II} = \text{_____}$ ммоль/л

Норма: 3,0 – 6,2 ммоль/л

Вывод: в сыворотке №1 содержится _____ ммоль/л холестерина, в сыворотке №2 - _____ ммоль/л.

Определение кетоновых тел в моче Проба Легалья на ацетон и ацетоуксусную кислоту

Принцип метода: ацетон и ацетоуксусная кислота образуют с нитропруссидом натрия в щелочной среде оранжево – красный комплекс, а при подкислении – вишнево – красный комплекс.

Таблица 2

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	Исходный материал	
	Нормальная моча 10 кап.	Патологическая моча 10 кап.
10% раствор нитропруссид натрия	2 кап.	2 кап.
10% раствор NaOH	4 кап.	4 кап.
Изменение окрашивания		
	нет	Оранжево – красное окрашивание
Конц. CH ₃ COOH	10 кап.	10 кап.
Изменение окрашивания		
	Нет	Вишнево – красное окрашивание

Определение кетоновых тел в моче
Проба Герхарда на ацетоуксусную кислоту

Принцип метода: железо с енольной формой ацетоуксусной кислоты образует красно – фиолетовый комплекс.

Таблица 3

Реагент	Исходный материал	
	Нормальная моча 10 кап.	Патологическая моча 10 кап.
10% раствор хлорида железа (III)	3 кап.	3 кап.
Изменение окрашивания		
	нет	Красно-фиолетовое

Вывод: с помощью пробы Легаля и Герхарда можно выявить присутствие в моче кетоновых тел.

Качественные реакции на стероиды

Таблица 4

Реакция	Раствор стероида	Реактив	Наблюдаемые изменения	Принцип реакции
Гупперт – Сальковско-го	10 кап.	Конц. H_2SO_4 – 10 капель	Красное окрашивание, переходящее в красно – фиолетовый цвет	Образование холестерилена красного цвета
Либермана - Бурхарда	10 кап.	Уксусный ангидрид, 10 кап. + 2 кап. конц. H_2SO_4 (реактив Либермана – Бурхарда)	Красное окрашивание, переходящее в зеленое	Образование сульфопроизводного бихолестадиена зеленого цвета

Вывод: с помощью реакций Гупперта – Сальковского и Либермана – Бурхарда можно установить присутствие стероидов.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков принцип метода определения холестерина по Ильку?
2. Каково диагностическое значение определение содержания холестерина в крови?
3. Опишите ход определения холестерина по методу Илька и назовите используемые реактивы.
4. Укажите принцип определения кетоновых тел в моче.
5. Каково диагностическое значение определения кетоновых тел в моче?
6. Как проводится проба Легалья и на чем она основана?
7. Как проводится проба Герхарда и на чем она основана?
8. Как проводится реакция Гуперт – Сальковского и на чем она основана?
9. Как проводится реакция Либермана – Бурхарда и на чем она основана?

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Напишите уравнения реакций синтеза фосфолипидов – глицерофосфолипидов (фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина) у организмов способных синтезировать холин.
2. Напишите уравнение реакции гидролиза холестерина и указать фермент.
3. Приведите уравнения реакций синтеза мевалоновой кислоты.
4. Напишите уравнения реакций образования ацетоновых тел из ацетил-КоА.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Изучение роли кетоновых в норме и при патологии.

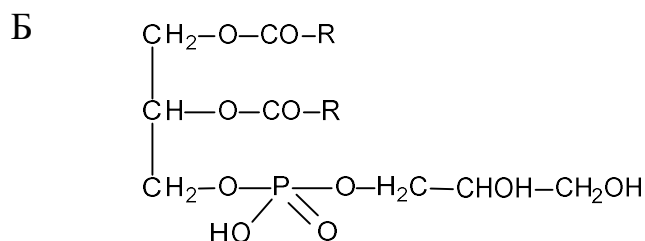
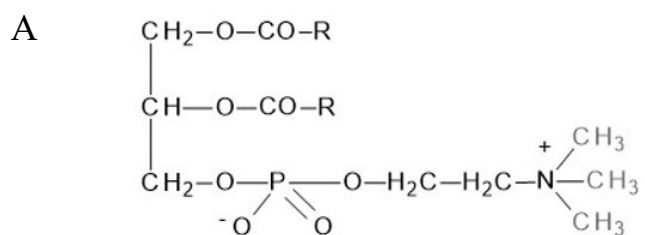
Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

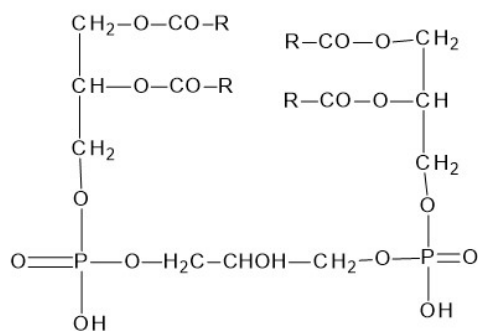
1. Веществами, относящимися к фосфолипидам, являются:

- А – сфингофосфатид
- Б – кефалин
- В – лецитин
- Г – холестерин
- Д – глицерин

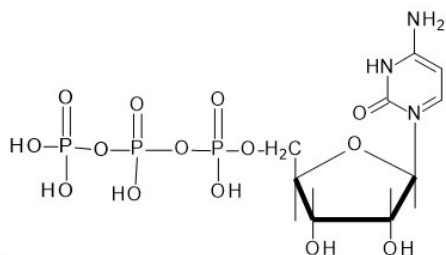
2. Выберите формулы липидов, участвующих в построении биологических мембран:



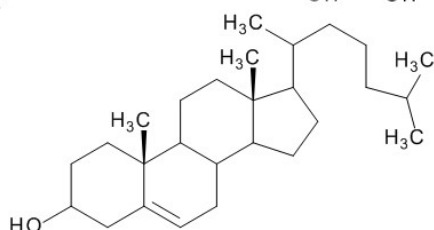
В



Г



Д



3. Укажите основные стадии синтеза холестерина:

- А – образование из ацетата мевалоновой кислоты
- Б – образование сквалена из мевалоновой кислоты
- В – циклизация сквалена в холестерин
- Г – ацилирование по гидроксильной группе стерола
- Д – образование геранил пиррофосфата

4. Укажите ферменты, участвующие в синтезе мевалоновой кислоты:

- А – ацетилтрансфераза
- Б – гидроксиметилглутарил-КоА-синтаза
- В – гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза
- Г – холестеролэстераза
- Д – липаза

6. При полном окислении одной молекулы стеариновой кислоты $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$, учитывая, что при бета-окислении образуется 9 молекул $\text{H}_3\text{C}-\text{CO}\sim\text{S}-\text{CoA}$ в ходе 8 циклов, образуется молекул АТФ:

- А – 130
- Б – 15
- В – 19
- Г – 147
- Д – 12

Занятие 3. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Обмен липидов.

Цель: закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Обмен липидов.

Задачи:

- определить количественно содержание пре-бета – и бета – липопротеинов в сыворотке крови в контрольной пробе;
- определить наличие кетоновых тел в моче в контрольной пробе.

Вопросы для обсуждения

1. Какова роль липидов в жизнедеятельности организма?
2. Гидролиз триацилглицеринов в пищеварительном тракте, напишите уравнения.
3. Гидролиз фосфолипидов в пищеварительном тракте, напишите уравнения.
4. Структура желчных кислот и их роль в пищеварении липидов, напишите формулы кислот.
5. Всасывание продуктов гидролиза липидов.
6. Ресинтез триацилглицеринов в кишечном эпителии, фосфатидный и бета – моноглицеридный пути ресинтеза, напишите уравнения.
7. Ресинтез в кишечном эпителии фосфолипидов (фосфотидилхолина), напишите уравнения.
8. Гидролиз жиров в тканях, три вида липаз участвующих в гидролизе.
9. Окисление глицерина (продукта гидролиза триацилглицеринов) в тканях до CO_2 и H_2O , энергетический итог окисления.
10. Напишите реакции бета – окисления жирных кислот в тканях, особенности окисления насыщенных жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов, окисление ненасыщенных жирных кислот.
11. Каков энергетический итог окисления жирных кислот? Рассчитать энергетический итог бета – окисления пальмитиновой кислоты.
12. Напишите реакции синтеза жирных кислот в тканях.
13. Синтез триацилглицеринов в тканях. Особенности их синтеза в тканях печени, почек, жировой ткани, мышцах.
14. Синтез фосфолипидов в тканях. Особенности синтеза в холинсинтезирующих и холиннесинтезирующих организмах, напишите уравнения этих синтезов.
15. Напишите реакции катаболизма холестеридов и холестерина в тканях.
16. Основные этапы синтеза холестерина в тканях, напишите реакции биосинтеза мевалоновой кислоты.

17. Синтез холестеридов в тканях, напишите уравнения.
18. Нейрогуморальная регуляция липидного обмена.
19. Нарушения липидного обмена: гиперлипидемия, кетоз, атеросклероз, желчекаменная болезнь, нарушение перехода липидов из крови в ткани.
20. Напишите реакции биосинтеза кетоновых тел в тканях.
21. Нарушения липидного обмена при сахарном диабете. Как развивается кетонемия и кетонурия?

Самостоятельная работа

Работа 1. Определение бета – и пре –бета-липопротеинов в контрольных пробах по методу Бурштейна и Самай.

Работа 2. Определение кетоновых тел в контрольных пробах.

Контроль практических умений и навыков

Проведение количественного определения бета- и пре-бета-липопротеинов и наличия кетоновых тел в контрольных пробах.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по окончании демонстрирует преподавателю и оформляет протокол в рабочей тетради.

Определение содержания бета - и пре-бета-липопротеинов в сыворотке крови по методу Бурштейна и Самай

Таблица 1

Кювета	Показания ФЭК при 750 нм, против воды	Показания ФЭК через 4 мин при 750 нм против воды	Расчет $X = (E_{II} - E_I) * 11,65 =$ (г/л)
0,5 см	$E_1 =$	$E_2 =$	

Вывод: _____

Определение кетоновых тел в моче

Таблица 2

Исследуемый образец мочи	Изменение окрашивания	
	Проба Легала	Проба Герхарда
№1		
№2		

Вывод: _____

Итоговый контроль

Работа студента на занятии оценивается по результатам тестового контроля, устного ответа на занятии, правильности выполнения контрольных проб и сделанных выводов.

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Напишите пути ресинтеза липидов в кишечном эпителии.
2. Приведите уравнения реакций бета – окисления жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов.
3. Приведите уравнения реакций синтеза фосфолипидов, холестерина, кетоновых тел.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные исследования в изучении биохимических аспектов атеросклероза.

Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Назовите промежуточные метаболиты синтеза холестерина
 - А – фосфатидная кислота
 - Б – мевалоновая кислота
 - В – фосфатидилхолин
 - Г – альфа-глицерофосфат
 - Д – ацетоацетил-КоА
2. Какую роль играют кетоновые тела в организме?
 - А – выполняют энергетическую функцию
 - Б – участвуют в синтезе белков
 - В – участвуют в распаде триглицеридов

Г – участвуют в синтезе фосфолипидов
Д – выполняют пластическую функцию

3. Какая реакция лимитирует скорость биосинтеза холестерина?

А – образование мевалоновой кислоты
Б – образование сквалена
В – образование бета-гидроксибутирата
Г – образование фарнезилпирофосфата
Д – образование изопентенилпирофосфата

4. Какое соединение является общим предшественником в синтезе холестерина и кетоновых тел?

А – сквален
Б – глицерофосфат
В – бета-гидрокси-бета-метилглутарил-КоА
Г – ланостерол
Д – фарнезилпирофосфат

5. Назовите заболевания, связанные с нарушением липидного обмена

А – атеросклероз
Б – желчнокаменная болезнь
В – панкреатит
Г – кетоз
Д – ожирение

Занятие 4. Тема: Обмен аминокислот и белков.

Цель: научиться методам количественного определения белка в крови и моче.

Задачи:

- количественно определить содержание белка;
- количественно определить содержание остаточного азота;
- выполнить качественную реакцию на белок.

Вопросы для обсуждения

1. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Преферменты и протеолитические ферменты: пепсин, гастриксин, химозин, трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, аминопептидаза, дипептидаза и их роль в пищеварении белков.
2. Гниение белков в кишечнике, как нейтрализуются токсические продукты.
3. Межуточный обмен белков. Катепсины. Аминокислотный пул. Азотистый баланс.
4. Общие пути превращения аминокислот в организме: реакции по аминогруппе, по карбоксильной группе и радикалу аминокислот.
5. Реакции дезаминирования, переаминирования, трансдезаминирования.
6. Судьба безазотистого углеродного скелета аминокислот.

Самостоятельная работа

Работа 1. Биуретовый метод определения содержания белка в сыворотке крови.

Работ 2. Количественное определение остаточного азота в крови фотоэлектроколориметрическим методом.

Работа 3. Обнаружение белка в моче.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Таблица 1

Количественное определение белка в сыворотке крови

Принцип метода: основан на способности пептидных связей белка и пептидов образовывать с ионами меди в щелочной среде комплексное соединение фиолетового цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию белка в среде.

№ пробирки	Сыворотка крови	0,9% раствор NaCl	Стандартный раствор белка, 80 г/л	Биуретовый реактив	Через 30 мин. ФЭК против контроля, $\lambda=540$ нм, кювета 1 см	Расчет Норма 65-85 г/л
№1 контроль	-	0,1 мл	-	5,0 мл встряхнуть	-	Е ст – 80 г/л
№2 стандарт	-	-	0,1 мл	5,0 мл встряхнуть	Е ст = ?	$X = \frac{E_{оп} * 80}{E_{ст}} = ? \text{ г/л}$
№3 опыт	0,1 мл	-	-	5,0 мл встряхнуть	Е опыт = ?	

Вывод: _____

Обнаружение белка в моче

Принцип метода: денатурацию белков осуществляют под влиянием высокой температуры и при изменении pH.

Таблица 2

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы	
	№1	№2
Нормальная моча	20 кап.	-
Патологическая моча	-	20 кап.
Нагреть до кипения	+	+
Наблюдаемый результат		
	Нет изменений	Образование осадка
Проба Геллера		
Конц. HNO ₃	1 мл	1 мл
Нормальная моча	10 кап.	-
Патологическая моча	-	10 кап.
Наблюдаемый результат		
	Нет изменений	Кольцо денатурированного белка

Вывод: с помощью кипячения и пробы Геллера возможно обнаружить присутствие белка в моче.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. На чем основан метод количественного определения белка в сыворотке крови?
2. Каков порядок работы количественного определения белка в сыворотке крови?
3. Как проводится расчет количественного определения белка в сыворотке крови?
4. Каково в норме содержание белка в сыворотке крови?
5. При каких заболеваниях наблюдается повышение содержание белка в сыворотке крови?
6. При каких заболеваниях наблюдается понижение содержание белка в сыворотке крови?
7. Каков принцип метода определения белка в моче?
8. Опишите ход работы определения белка в моче?

9. На что указывает наличие белка в моче?
10. При каких заболеваниях наблюдается появление белка в моче?
11. На чем основан метод количественного определения остаточного азота крови?
12. Опишите ход работы количественного определения остаточного азота крови.
13. Как проводится расчет количественного определения остаточного азота крови?
14. При каких заболеваниях наблюдается понижение содержания остаточного азота крови?
15. При каких заболеваниях наблюдается повышение содержания остаточного азота крови?
16. Как проводится расчет количественного определения содержания остаточного азота крови?
17. Какова норма содержания остаточного азота в крови?

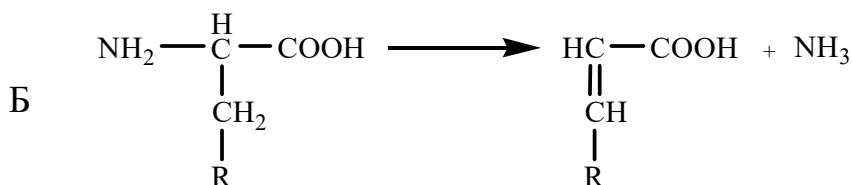
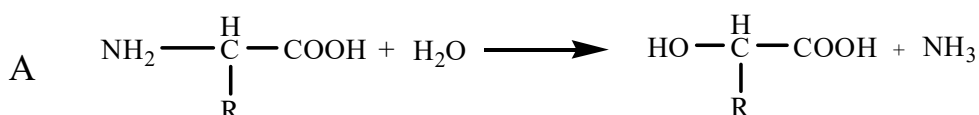
Задание для самостоятельной работы студентов

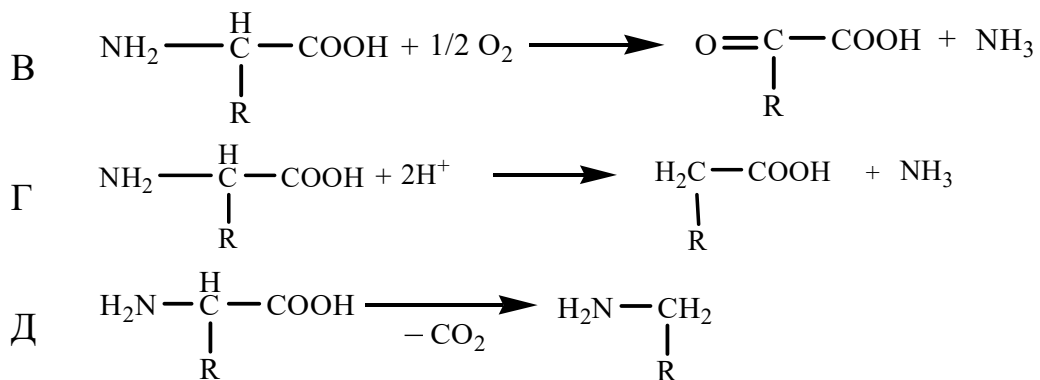
1. Укажите типы общих реакций свойственных аминокислотам по аминогруппе, карбоксильной группе и радикалу.
2. Приведите уравнения реакций дезаминирования глутаминовой кислоты и укажите ферменты.
3. Приведите уравнения реакций переаминирования и укажите ферменты.
4. Опишите процесс трансдезаминирования.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные данные об особенностях обмена аминокислот серина, глицина, метионина, тирозина.

Проверь себя:

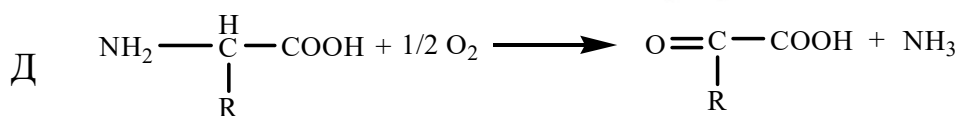
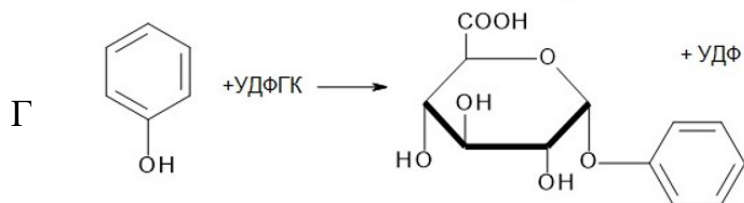
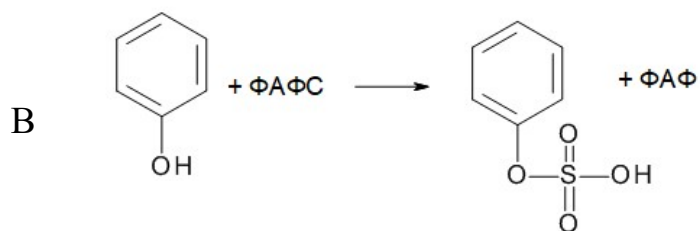
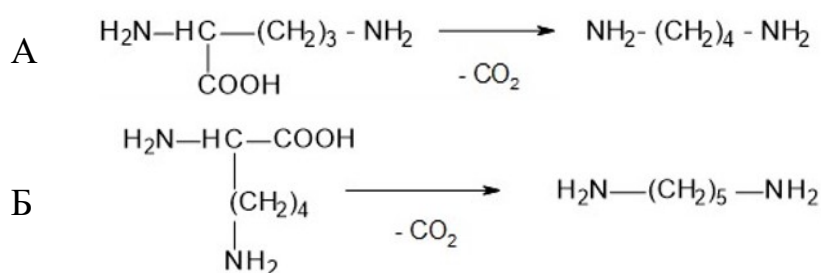
ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Укажите реакции гидролитического и внутримолекулярного дезаминирования аминокислот:

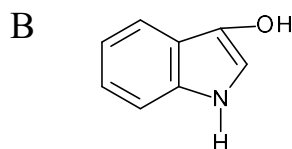
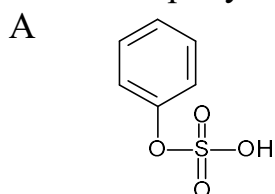


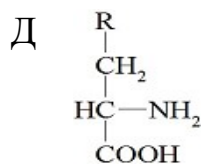
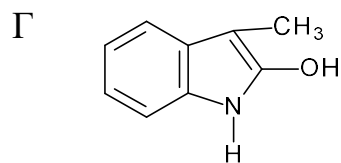
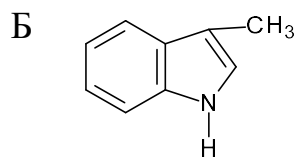


2. Укажите реакции декарбоксилирования аминокислот в кишечнике с образованием путресцина и кадаверина:

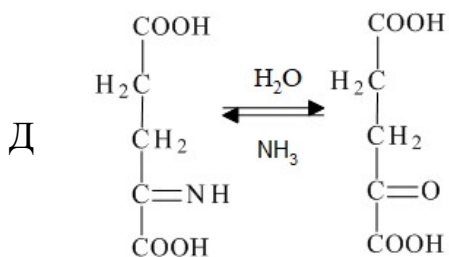
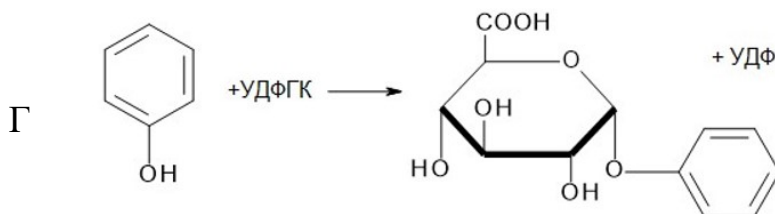
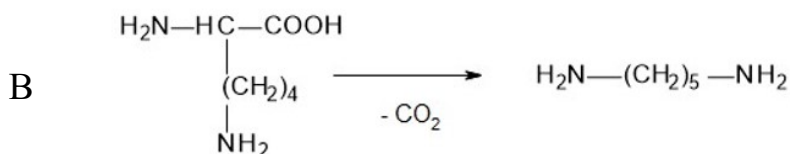
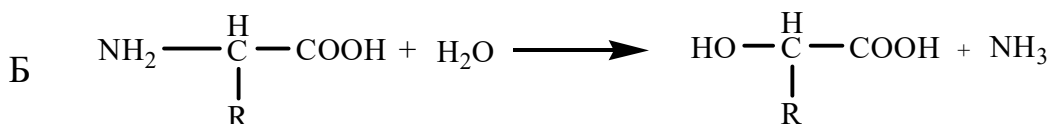
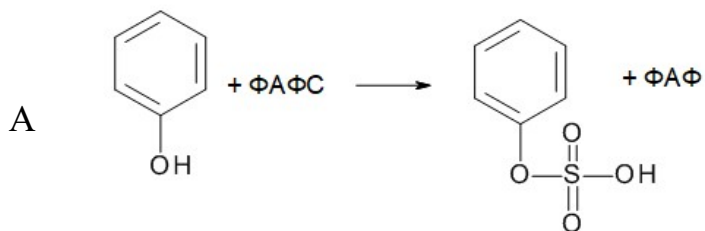


3. Укажите продукты окисления индола и скатола:

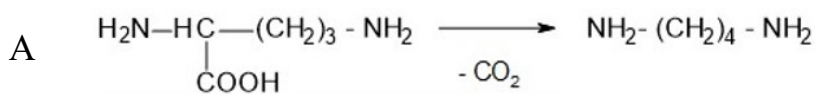


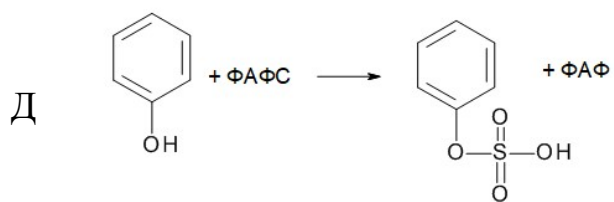
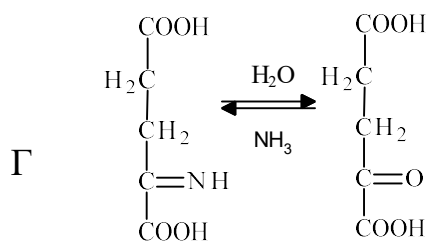
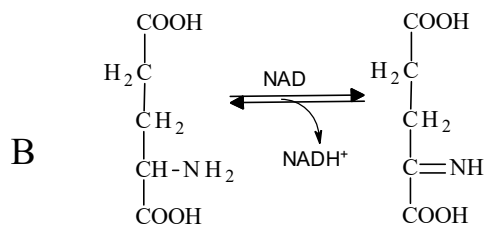
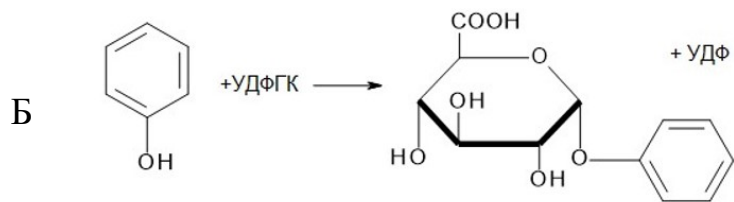


4. Укажите реакции обезвреживания фенола, катализируемые арилсульфотрансферазой и УДФ-глюкуронилтрансферазой:



5. Укажите реакции окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты:





Занятие 5. Тема: Пути обезвреживания аммиака в клетке.

Цель: научиться методам количественного определения метаболитов белкового обмена.

Задачи:

- количественно определить содержание мочевины в сыворотке крови.

Вопросы для обсуждения

1. Общие пути превращения аминокислот в организме: реакции по карбоксильной группе и по радикалу аминокислот.
2. Обезвреживание аммиака (первичное связывание аммиака с образованием амидов).
3. Орнитиновый цикл.
4. Биосинтез аминокислот, первичный синтез аминокислот.
5. Аминокислоты как лечебные средства.

Самостоятельная работа

Работа 1. Определение мочевины крови уреазным методом с реактивом Несслера.

Методы выполнения

Определение мочевины сыворотки крови уреазным методом по реакции с реактивом Несслера

Принцип метода: основан на разложении мочевины крови ферментом уреазой с последующим измерением количества образовавшегося аммиака колориметрическим способом с использованием реактива Несслера.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы	
	№1 опыт	№2 стандарт
Дистиллированная вода	3 мл	3 мл
Сыворотка крови	0,2 мл	-
Стандартный раствор мочевины, 5ммоль/л	-	0,2 мл
Препарат уреазы	1 мл	1 мл
Перемешать, закрыть пробкой	+	+
Термостат, 37°C	20 мин	20 мин
Раствор ZnSO ₄ , 7,5г/100мл	0,4 мл	0,4 мл

Раствор NaOH 1,5г/100мл	0,4 мл	0,4 мл
Перемешать, отфильтровать через 5 мин. Далее работа ведется с фильтратом		
	1,25 мл фильтрат №1	1,25 мл фильтрат №2
Раствор сегнетовой соли, 0,2г/ 100 мл	2,25 мл	2,25 мл
Реактив Нesslerа	0,5 мл	0,5 мл
перемешать	+	+
ФЭК, $\lambda=490$ нм, кювета 0,5см против 3 мл воды + 0,5 мл реактива Нesslerа	Е _{оп} =?	Е _{ст} =?
Расчет	$X = \frac{E_{оп} \cdot 5}{E_{ст}} = \text{_____}$ ммоль/л	

Норма – 2,50- 8,33 ммоль/л

Вывод: в сыворотке содержится _____ ммоль/л мочевины

Примечание: препарат уреазы готовят из зёрен 3-4 семечек арбуза растиранием в ступке с 10 мл воды, с последующей фильтрацией через вату или марлю.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Какова норма содержания мочевины в сыворотке крови человека?
2. На чем основан принцип метода определения мочевины в сыворотке крови уреазным методом?
3. При каких патологических состояниях определение мочевины в крови может служить диагностическим признаком?
4. Почему при паренхиматозных поражениях печени уровень мочевины в сыворотке крови понижен?
5. Опишите ход определения содержания мочевины в опытной пробирке.
6. Опишите ход определения содержания мочевины в стандартной пробирке
7. Как проводится расчет содержания мочевины в пробе крови?

Задание для самостоятельной работы студентов

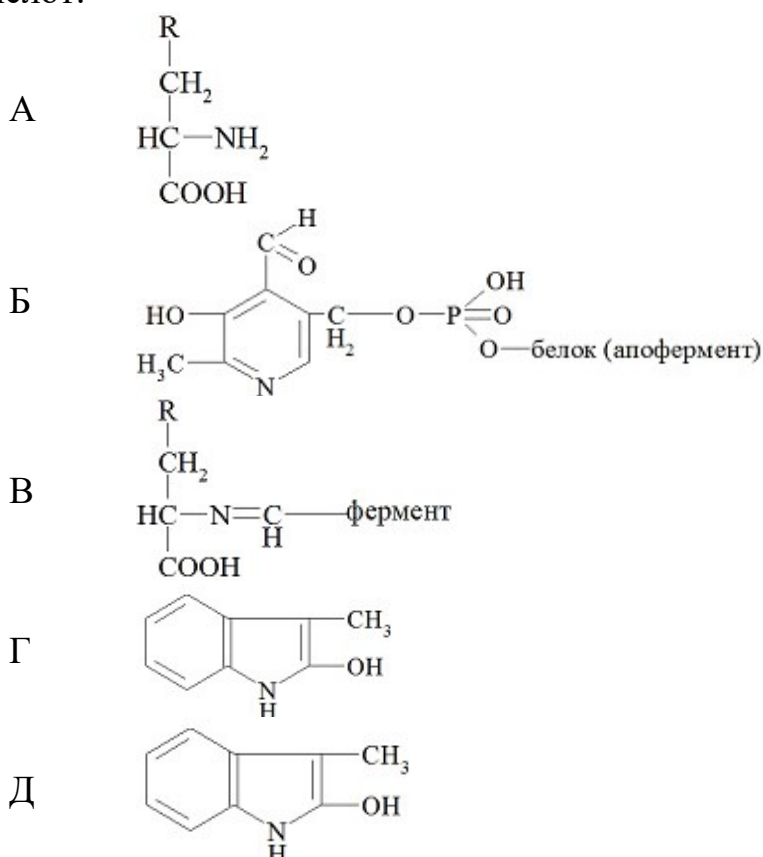
1. Напишите уравнения реакций декарбоксилирования глутамата,

- гистидина, 5-гидрокситриптофана.
2. Напишите уравнение реакции образования аминокциладенилата.
 3. Напишите уравнения реакций по радикалу аминокислот аспартата, фенилаланина, метионина и указать их тип.
 4. Напишите уравнение реакции образования адреналина из тирозина и указать тип реакции.
 5. Напишите уравнения реакций орнитинового цикла и указать ферменты.
 6. Напишите уравнение реакции первичного синтеза глутаминовой кислоты и указать фермент.
 7. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные сведения о метаболизме гема и обмене железа.

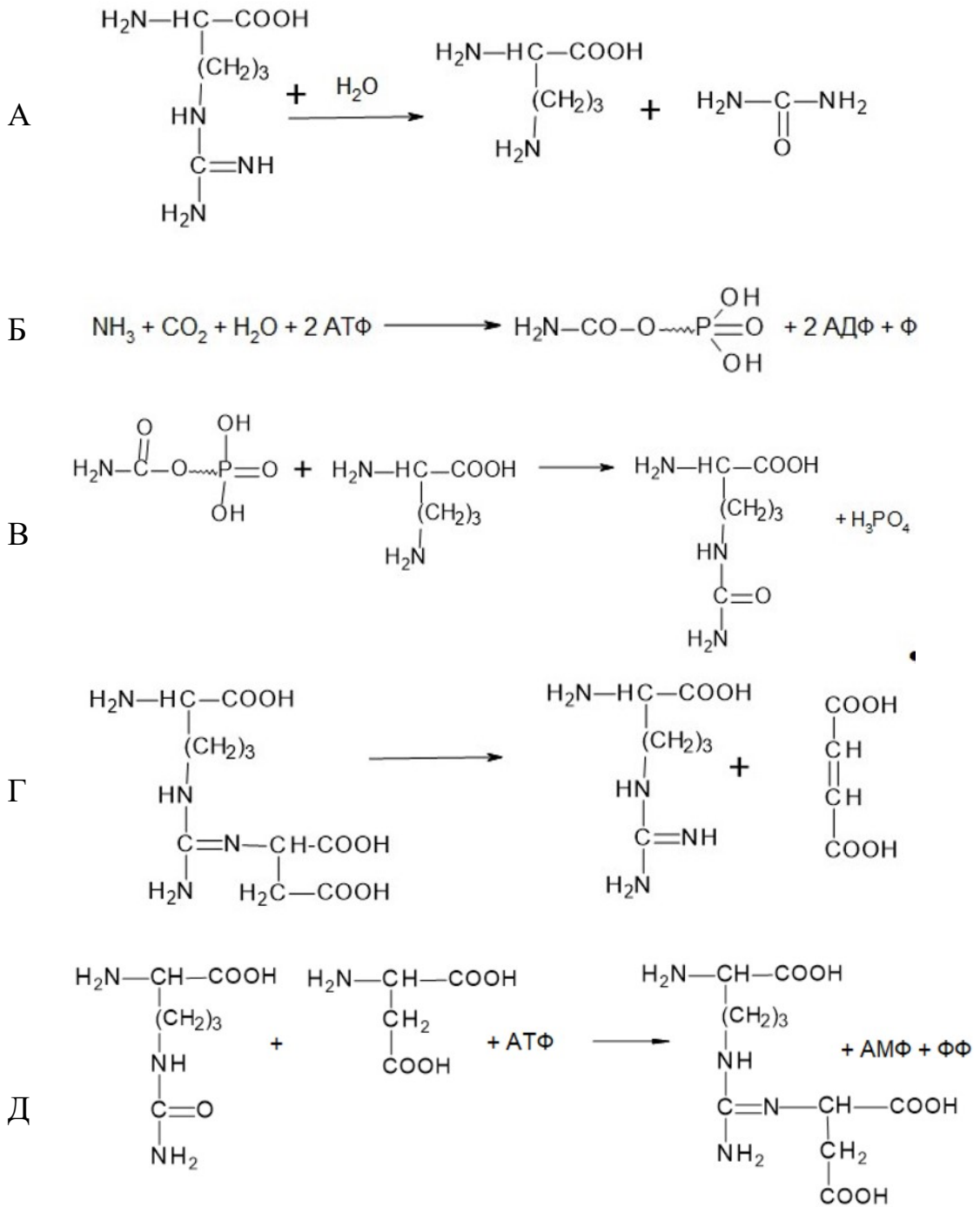
Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

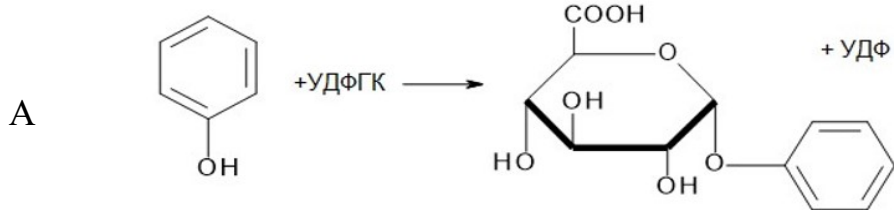
1. Выберите формулы веществ, участвующих в переаминировании аминокислот:

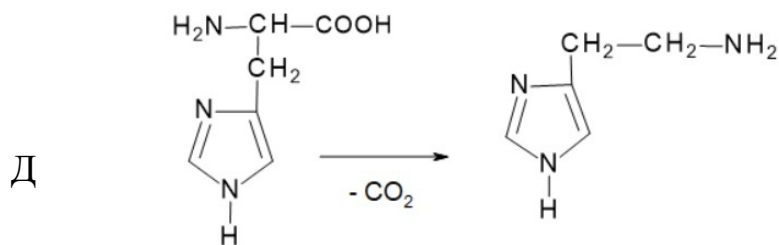
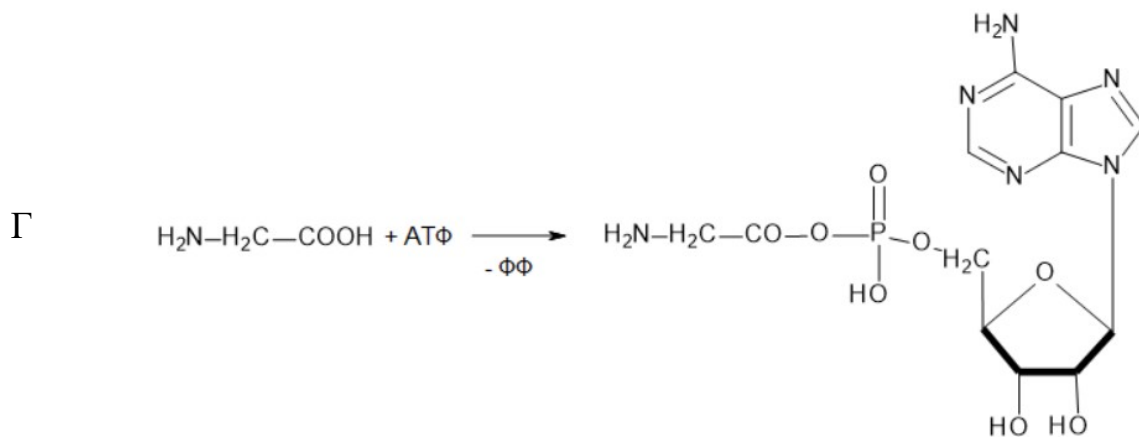
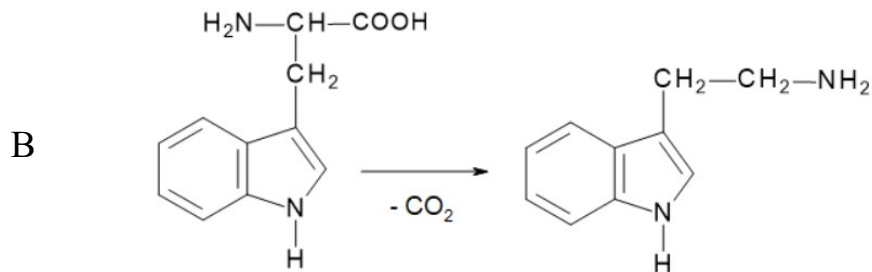
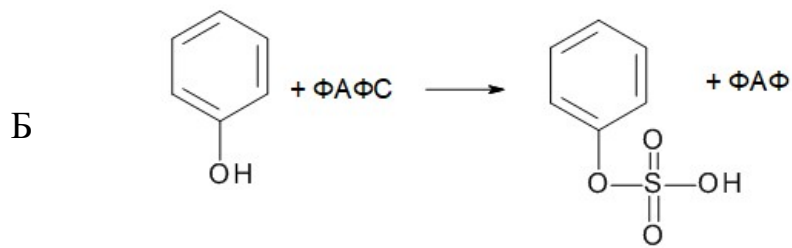


2. Аргининосукцинатсинтетаза катализирует реакцию:

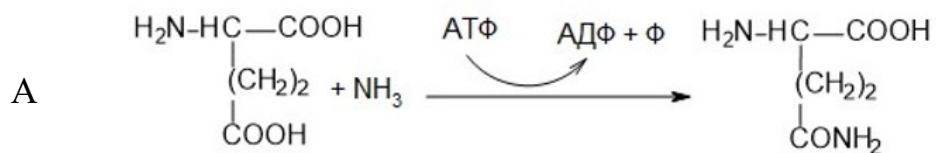


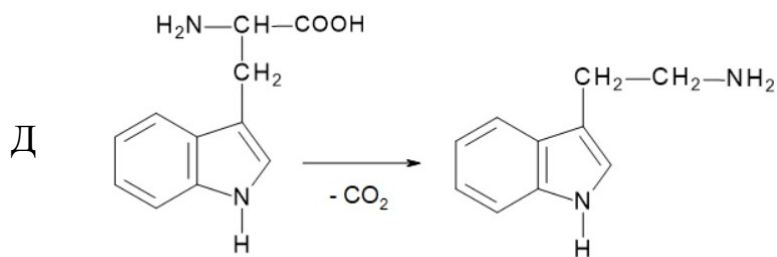
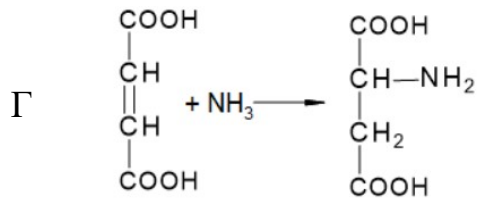
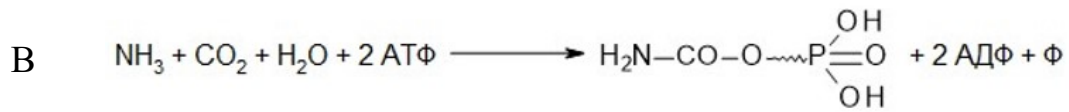
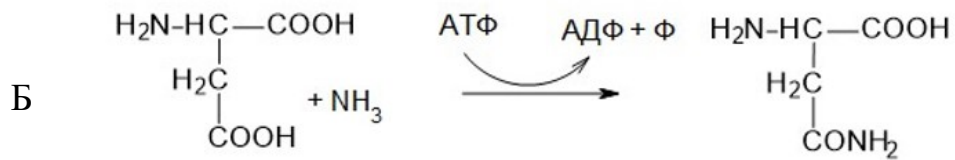
3. Укажите реакции по карбоксильной группе аминокислот:



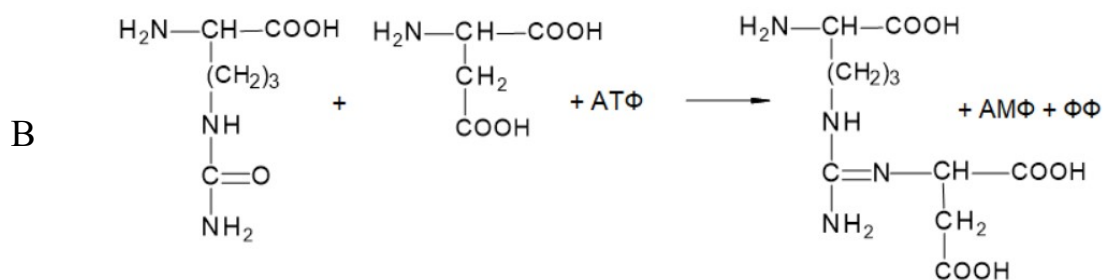
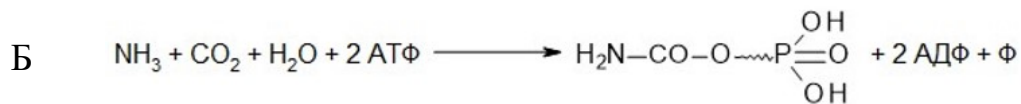
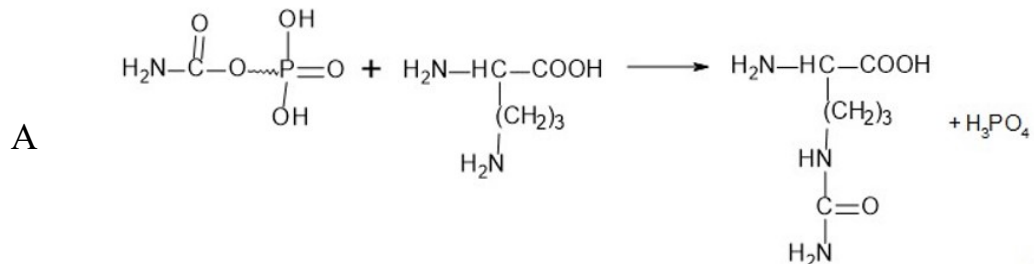


4. Укажите реакции первичного связывания аммиака, сопровождающиеся образованием амидов:

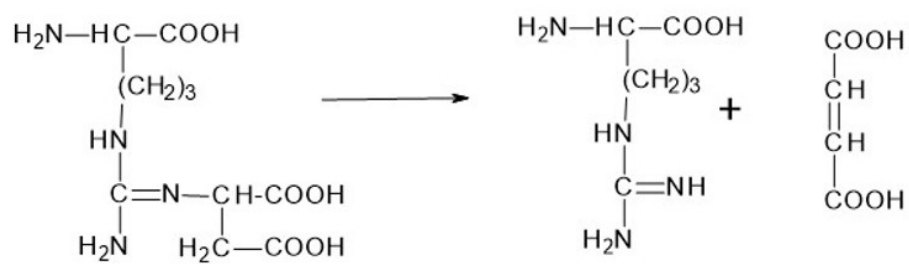




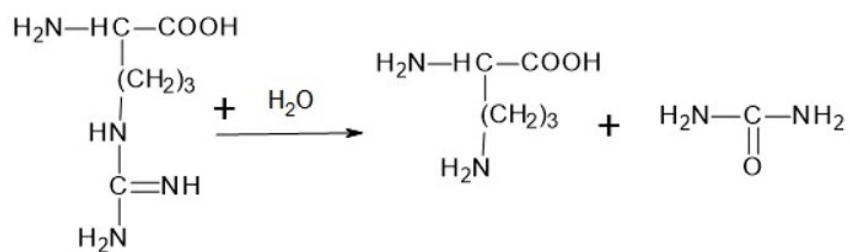
5. Орнитинкарбамилтрансфераза катализирует реакцию:



Г



Д



Занятие 6. Тема: Обмен сложных белков.

Цель: научиться методам количественного определения метаболитов обмена хромопротеинов и нуклеопротеинов.

Задачи:

- количественно определить содержание билирубина и его фракции в сыворотке крови;
- обнаружить кровяные и желчные пигменты в моче;
- количественно определить содержание мочево́й кислоты в сыворотке крови;
- количественно определить содержание гемоглобина плазмы крови.

Вопросы для обсуждения

1. Особенности обмена сложных белков. Обмен хромопротеинов.
2. Распад гемоглобина в пищеварительном тракте.
3. Катаболизм гемоглобина эритроцитов в клетках ретикуло-эндотелиальной системы. Этапы образования продуктов распада гемоглобина.
4. Характеристика “прямого” и “непрямого” билирубина. Виды желтух.
5. Диагностическое значение определения билирубина и его фракций.
6. Диагностическое значение определения уробилиногена в моче.
7. Основные стадии синтеза гемоглобина, источники атомов углерода и азота для построения тетрапиррольного кольца гема.
8. Характеристика этапов пищеварения нуклеопротеинов.
9. Характеристика основных стадий катаболизма нуклеиновых кислот в тканях.
10. Уравнения дезаминирования пуриновых и пиримидиновых оснований.
11. Уравнения образования мочево́й кислоты из аденина.
12. Уравнения образования бета-аланина и карбаминовой кислоты из урацила.
13. Основные этапы и ферменты биосинтеза пуриновых нуклеотидов.
14. Основные этапы и ферменты биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.

Самостоятельная работа

Работа 1. Определение билирубина и его фракций в сыворотке крови спиртовым методом.

Работа 2. Определение некоторых пигментов в моче.

Работа 3. Количественное определение мочевины в сыворотке крови по методу Мюллера и Зейферта.

Работа 4. Количественное определение гемоглобина, растворенного в плазме крови.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Определение билирубина и его фракций в сыворотке крови спиртовым методом

Принцип метода: основан на способности связанного и растворенного растворенного билирубина (свободный билирубин переводится в растворенное состояние разбавленным этанолом) с диазореактивом образовывать желтое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству билирубина.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	Проба			
	Общий билирубин		Связанный (прямой) билирубин	
	опыт	контроль	опыт	контроль
Сыворотка крови	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл
Диазореактив	1,0 мл смеси реагентов №1 и №2	1,0 мл реактива №1	1,0 мл смеси реагентов №1 и №2	1,0 мл реактива №1
Разведенный этанол	1,5 мл	1,5 мл	Не добавлять	1,5 мл
	Взболтать, оставить на 25 мин в термостате			
Дистиллированная вода	1,0 мл	1,0 мл	-	1,0 мл
Физ. раствор	-	-	3,0 мл взболтать	-
ФЭК, $\lambda=490$ нм, против воды, кювета на 1 см	$E_{1-0} = ?$	$E_K = ?$	$E_{1-C} = ?$	$E_K = ?$
Расчет	Вычисляют: $E_{1-0} - E_K$		Вычисляют: $E_{1-C} - E_K$	

	и по калибровочному графику находят содержание общего билирубина в мкмоль/л	и по калибровочному графику находят содержание связанного билирубина в мкмоль/л
--	---	---

Свободный (непрямой) билирубин определяют:

$$C_{\text{общий}} - C_{\text{прямой}} = \text{_____ мкмоль/л}$$

Вывод: в сыворотке крови содержится:

- общего билирубина - _____ мкмоль/л
- связанного билирубина - _____ мкмоль/л
- свободного билирубина - _____ мкмоль/л

Норма: общий билирубин – 8,6-20,5 мкмоль/л; прямой билирубин – до 4,3 мкмоль/л.

Определение пигментов в моче

Принцип метода: бензидиновая проба основана на способности гема катализировать окисление бензидина перексидом водорода в дифенохинондиимин, который конденсируется с молекулой неокисленного бензидина, с образованием сине-зеленого комплекса. Проба Розина основана на образовании из билирубина под действием иода биливердина, окрашенного в зеленый цвет.

Таблица 2

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы	
	№1 нормальная моча	№2 патологическая моча
Бензидиновая проба		
	5 кап.	5 кап.
Бензидиновый реактив – 1% раствор в 32% растворе уксусной кислоты	3 кап.	3 кап.
Пероксид водорода, 3% раствор	3 кап.	3 кап.
Окрашивание		
	нет	Сине-зелёное
Проба Розина		
	20 кап.	20 кап.
1% раствор йода спиртовой. Наслоить	10 кап.	10 кап.
Окрашивание		
	нет	зелёное

Вывод: с помощью проб Розина и бензидиновой можно определить присутствие в моче пигментов.

Количественное определение растворенного гемоглобина в плазме крови

Принцип метода: основан на способности гемоглобина катализировать окисление бензидина перекисью водорода с образованием соединения голубого (дифенохинодиамина) цвета, интенсивность которого пропорциональна количеству гемоглобина.

Таблица 3

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы	
	№1	№2 контроль
Ацетатный буфер, рН= 4,6	4,0 мл	4,0 мл
Пероксид водорода, 0,3% раствор	2,0 мл	2,0 мл
Бензидин, 0,1% раствор	2,0 мл	2,0 мл
Плазма крови	0,04 мл	-
Физиологический раствор	-	0,04 мл
1% раствор йода спиртовой. Наслоить	10 кап.	10 кап.
Через 3 минуты ФЭК, $\lambda=750$ нм, кювета на 1 см, против контроля	$E_{оп} = ?$	-
Расчет по калибровочной кривой, мг%	$X = ?$ мг%	

Вывод: в плазме крови содержится _____ мг % гемоглобина.

Норма: 0,2 – 2,5 мг%

Примечание: через 5-6 мин голубое окрашивание пробы переходит в лилово-бурый цвет и E пробы снижается.

Определение содержания мочевой кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера – Зейферта

Принцип метода: основан на способности мочевой кислоты восстанавливать фосфорновольфрамовый реактив (раствор Фолина) с образованием соединений синего цвета, интенсивность окраски которых пропорциональна концентрации мочевой кислоты.

Таблица 4

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы	
	№1	№2 стандарт
Сыворотка	1,5 мл	-
Дистиллированная вода	1,5 мл	0,5 мл
Т.Х.У. кислота, 20% раствор	1,5 мл	0,5 мл
Перемешивание, фильтрация через 5 мин	да	нет
Фильтрат	1,5 мл	-
Насыщенный раствор Na ₂ CO ₃	0,7 мл	0,7 мл
Стандартный раствор мочево- й кислоты, 0,02 мг/мл	-	0,5 мл
Реактив Фолина	1 кап.	1 кап.
Через 10 мин ФЭК, λ=540 нм, кювета на 0,5 см, против воды	Еоп = ?	Ест = ?
Расчет	$X = \frac{E_{оп} \cdot 0,01 \cdot 2000}{E_{ст} \cdot 168} =$ ммоль/л	

Норма: 0,1 – 0,4 ммоль/л

Вывод: в сыворотке содержится _____ ммоль/л мочево-
й кислоты.

Примечание: 0,01- масса мочево-
й кислоты в стандартной пробе,
2000 – коэффициент пересчёта на 1л сыворотки крови,
168 – молекулярная масса мочево-
й кислоты.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков принцип определения билирубина в сыворотки крови?
2. Опишите ход определения общего билирубина.
3. Опишите ход определения связанного билирубина.
4. Как определяют свободный билирубин?
5. Какое количество общего билирубина содержится в крови здорового человека?
6. Каково соотношение в крови здорового человека «прямого» и «непрямого» билирубина?
7. Что такое «прямой» и «непрямой» билирубин?

8. Каково диагностическое значение определения билирубина и его фракций в биологических жидкостях?
9. На чем основана бензидиновая проба на кровяные пигменты мочи?
10. На чем основана проба Розина на желчные пигменты мочи?
11. Какое окрашивание развивается при бензидиновой пробе и пробе Розина?
12. Какое диагностическое значение имеет определение пигментов в моче?
13. Какой принцип метода определения мочевого кислоты в сыворотке крови по методу Мюллера-Зейферта.
14. Опишите ход определения мочевого кислоты.
15. При каких патологических состояниях и почему наблюдается повышение содержания мочевого кислоты в крови и моче?
16. С чем может быть связано понижение мочевого кислоты в сыворотке крови?
17. На чем основан метод определения гемоглобина, растворенного в плазме?
18. Каков химизм реакции окисления бензидина?
19. Опишите этапы определения гемоглобина плазмы.
20. Каким диагностическим признаком является повышение содержания растворенного в плазме гемоглобина?

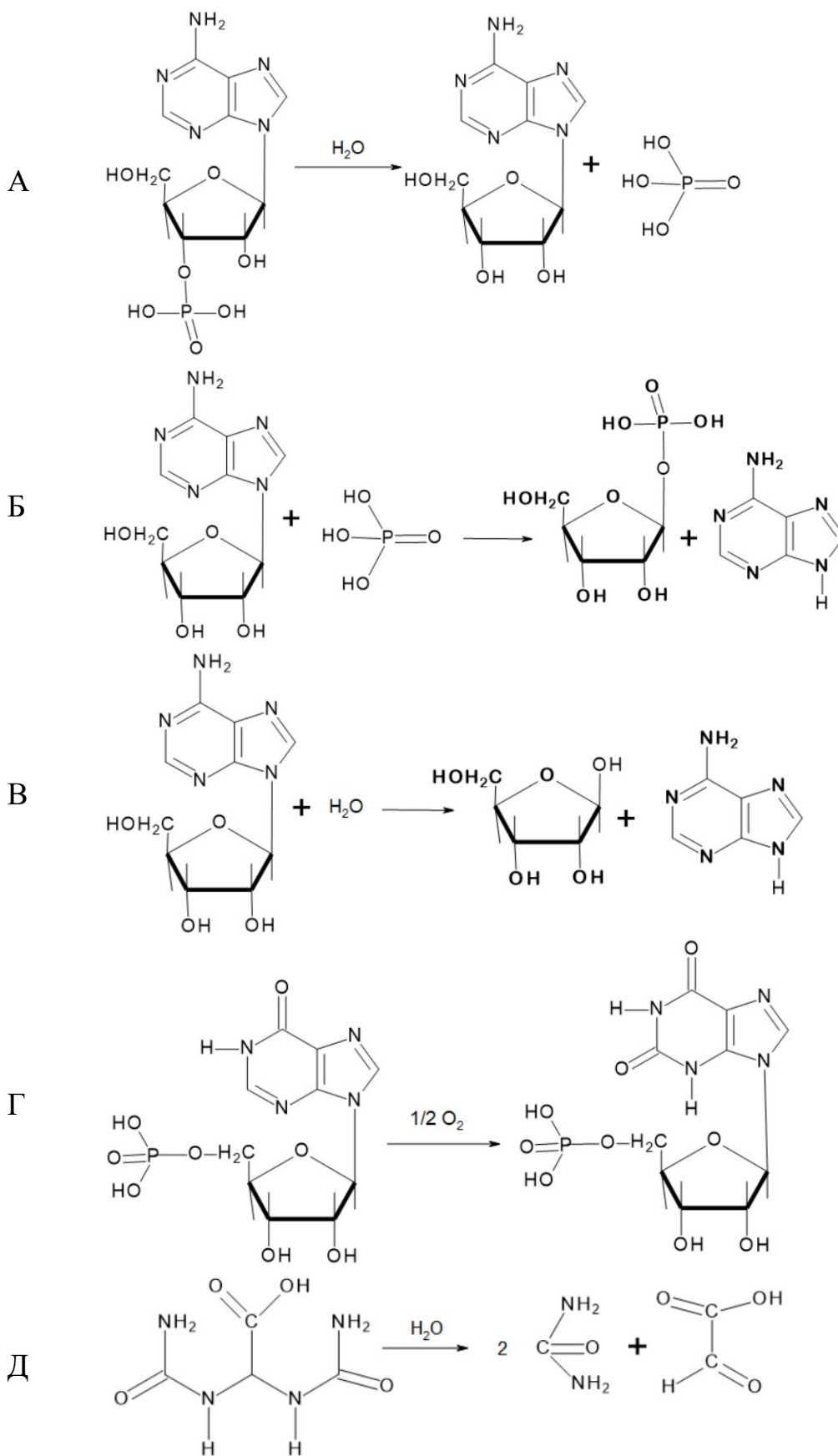
Задание для самостоятельной работы студентов

1. Напишите уравнения реакций синтеза порфибилиногена из сукцинил-КоА и глицина.
2. Приведите схемы катаболизма и синтеза гемоглобина в тканях.
3. Укажите диагностическое значение определения общего, прямого и непрямого билирубина в крови и моче.
4. Напишите уравнение реакции распада дГТФ в тканях до образования свободного азотистого основания.
5. Напишите уравнение реакции образования мочевого кислоты из аденина.
6. Напишите уравнения реакций образования бета-аланина и карбаминновой кислоты из цитозина.
7. Приведите уравнения реакций синтеза УМФ, АМФ и ГМФ.
8. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные представления о биосинтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

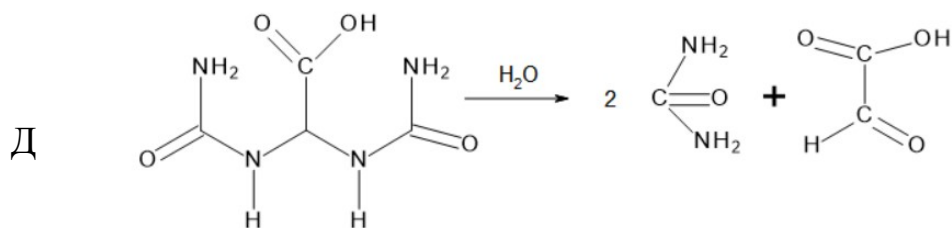
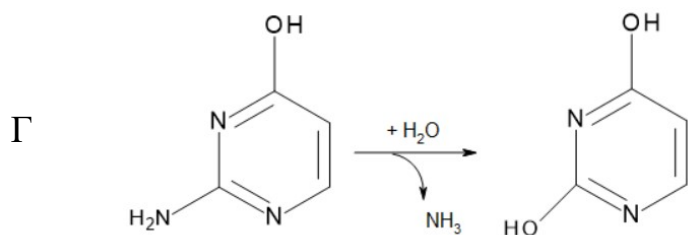
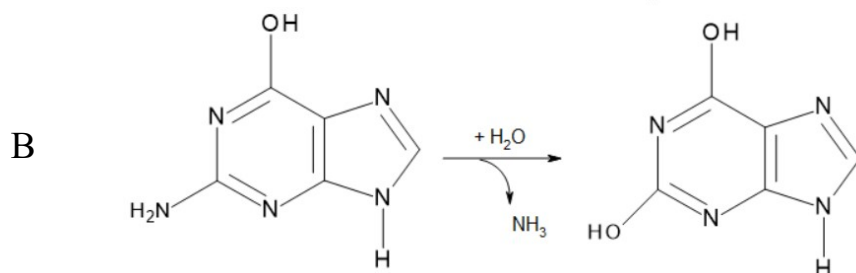
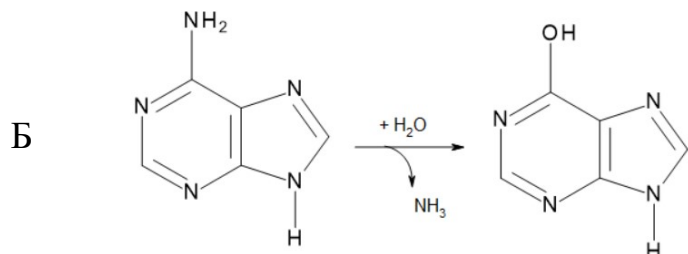
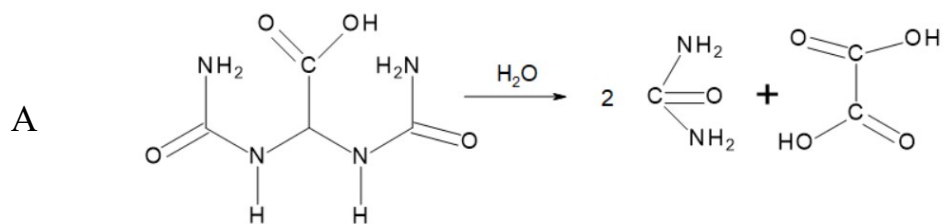
Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

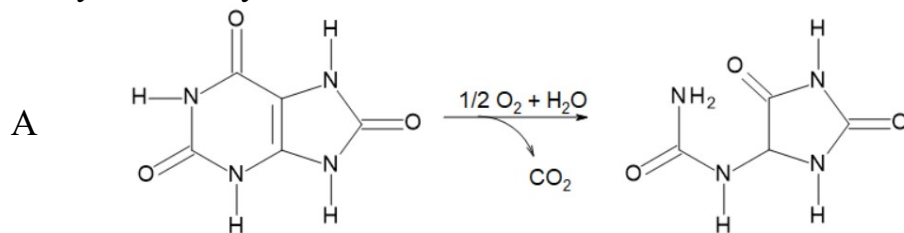
1. Укажите реакции распада мононуклеотидов в тканях до более простых соединений:

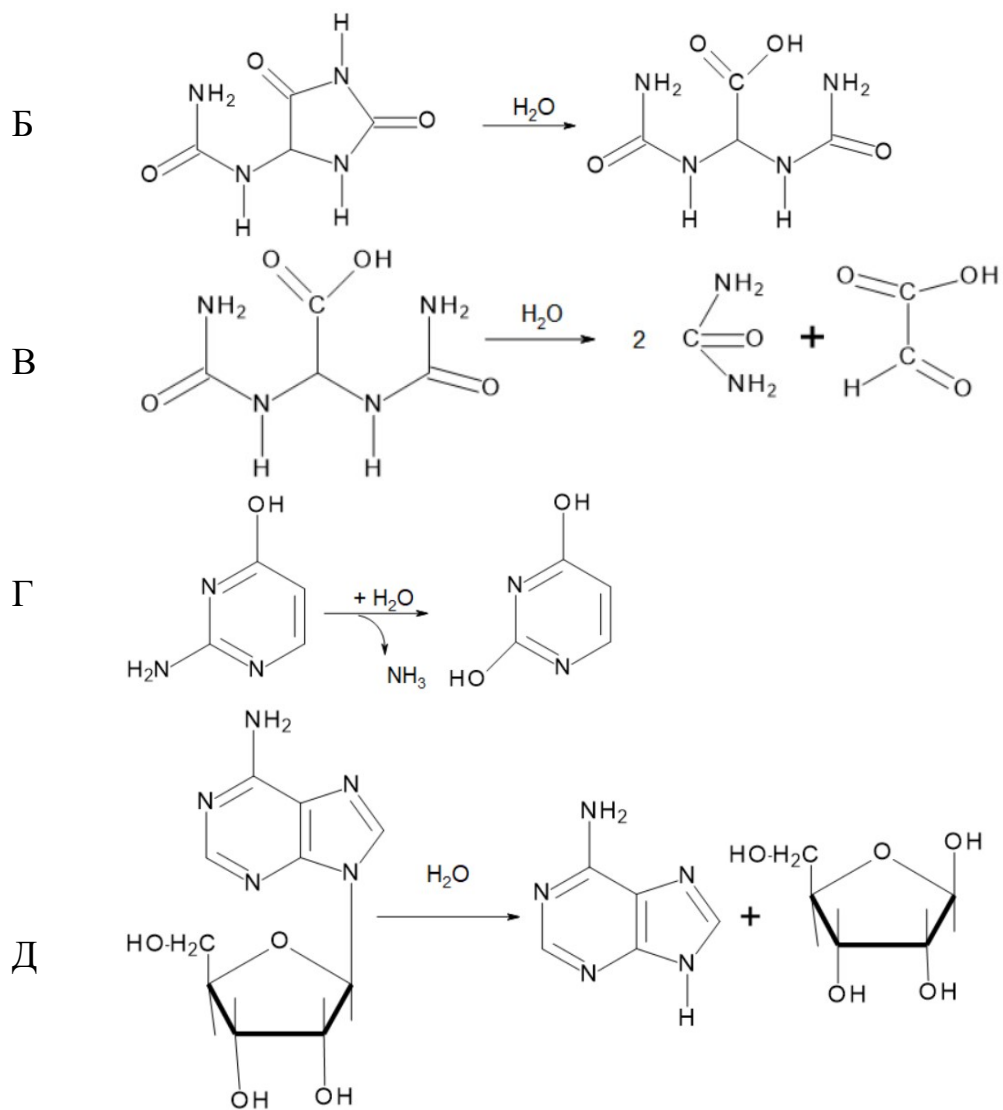


2. Укажите реакции дезаминирования пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований:

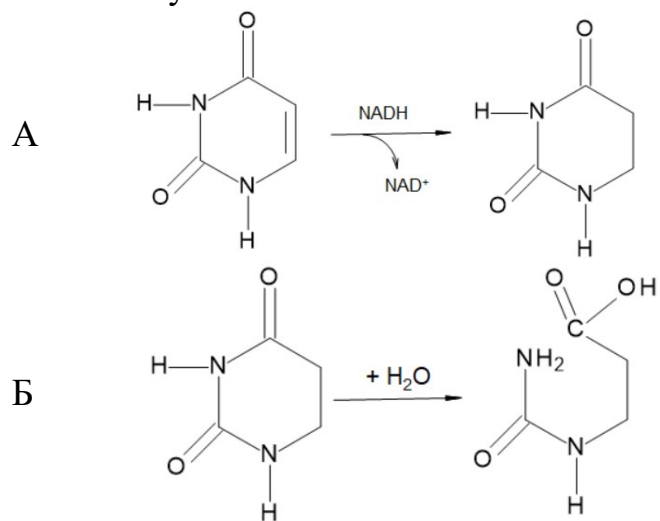


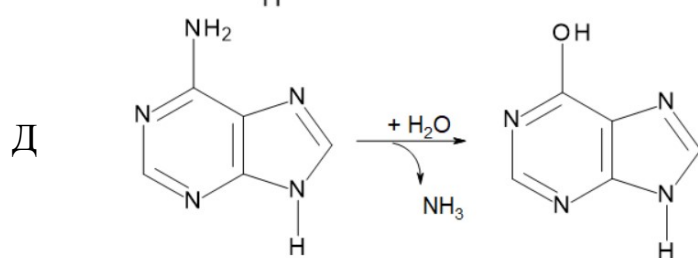
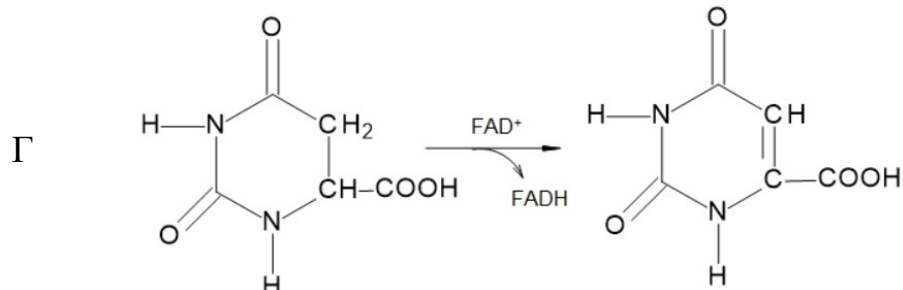
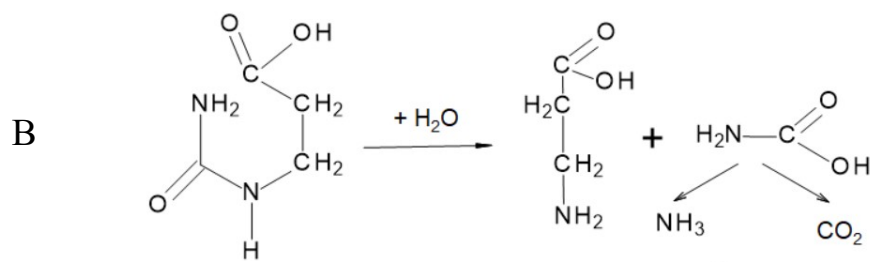
3. Укажите реакции превращения мочевой кислоты в мочевины и глиоксильную кислоту:



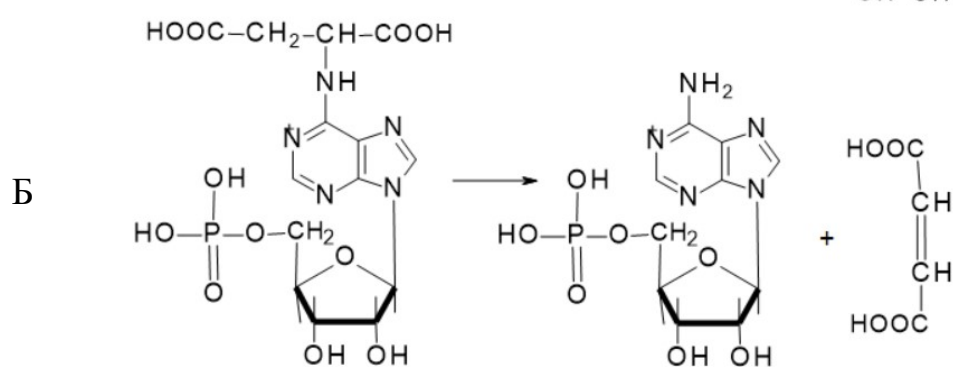
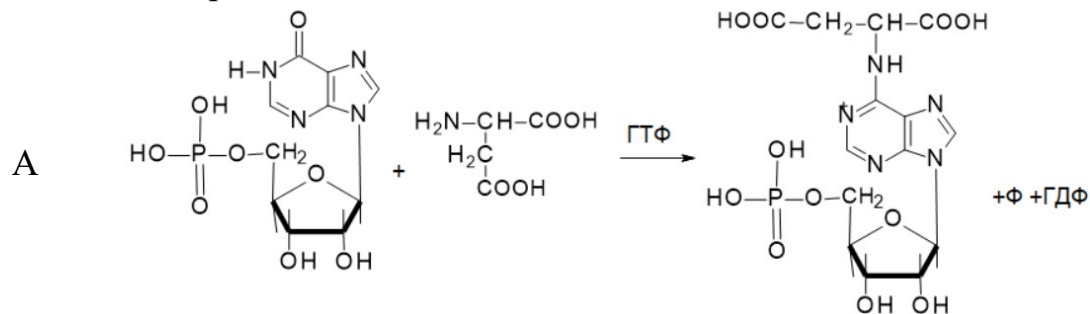


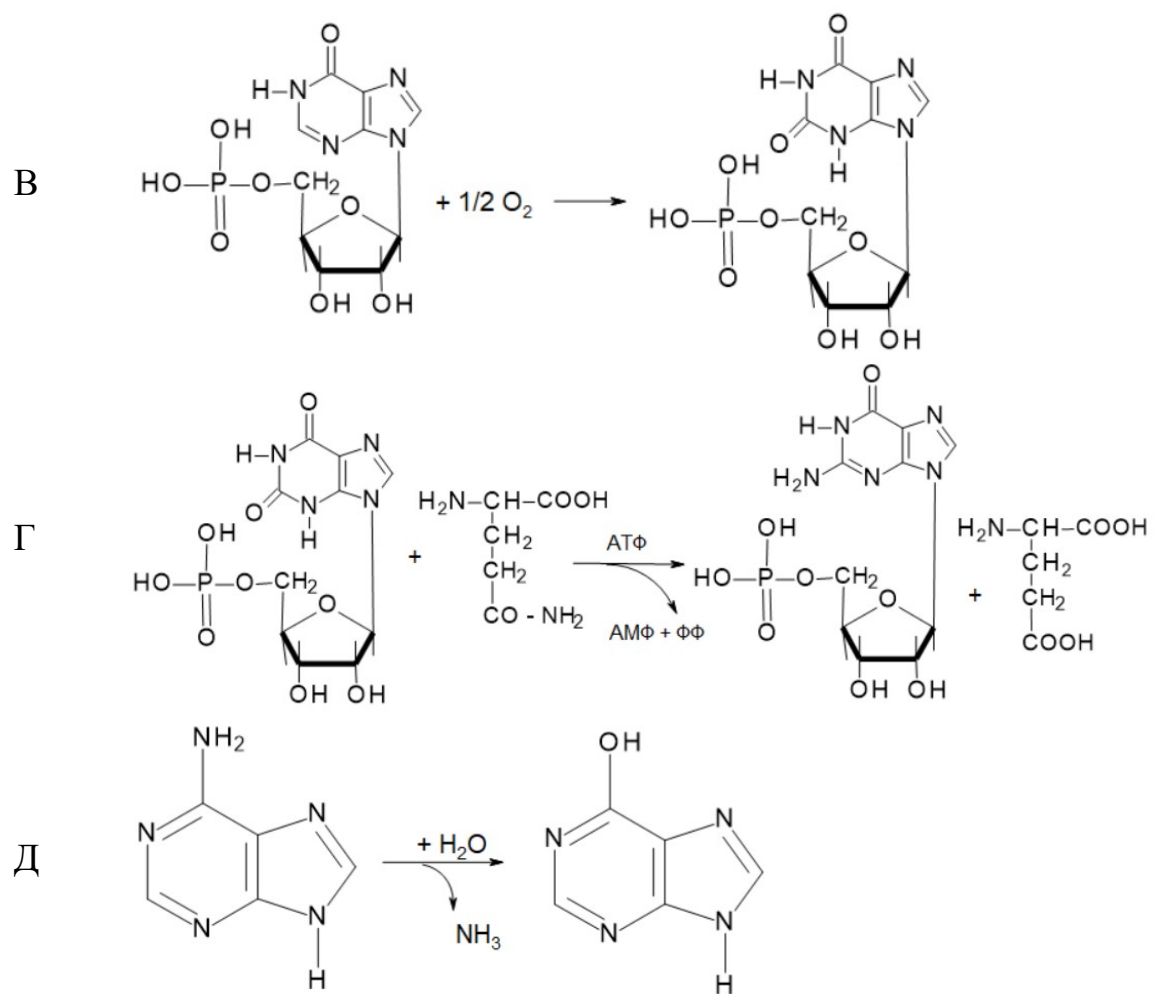
4. Укажите реакции превращения урацила в бета-аланин и карбаминую кислоту:





5. Укажите реакции синтеза адениловой кислоты:





Занятие 7. Тема: Матричные биосинтезы: репликация, транскрипция и трансляция. Основные этапы белкового синтеза.

Цель: научиться методам экспресс-диагностики патологии аминокислотного и углеводного обменов.

Задачи:

- выделить дРНК из ткани селезёнки;
- провести качественную реакцию на ДНК;
- выполнить пробу на гипераминоацидурию;
- выполнить пробу на тирозинурию;
- выполнить пробу Бельке на мальтозонурию;
- выполнить пробу на алкаптонурию;
- выполнить пробу на фенилкетонурию.

Вопросы для обсуждения

1. Путь биосинтеза ДНК (репликация).
2. Путь биосинтеза РНК (транскрипция).
3. Свойства генетического кода.
4. Обратная транскрипция.
5. Неспецифический синтез РНК.
6. Основные этапы биосинтеза белка (транскрипция, рекогниция, трансляция).
7. Этапы трансляции при биосинтезе белка.
8. Регуляция биосинтеза белка у прокариотов.
9. Регуляция биосинтеза белка у эукариотов.
10. Препараты, влияющие на синтез белка.
11. Молекулярные основы изменчивости.
12. Основные варианты генных мутаций.
13. Характеристика протеинопатий и ферментопатий.
14. Полиморфизм белков.
15. Строение иммуноглобулинов.

Самостоятельная работа

Работа 1. Выделение дезоксирибонуклеопротеинов из ткани селезенки.

Работа 2. Качественная реакция на ДНК (реакция ДИШЕ).

Работа 3. Экспресс-диагностика патологии аминокислотного и углеводного обменов.

- Проба на гипераминоацидурию.
- Проба на тирозинурию.
- Проба на алкаптонурию.
- Проба на фенилкетонурию.

– Проба на мальтозонурию.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Работа 1. Выделение дезоксирибонуклеопротеинов из ткани селезенки.

Ход определения

2-3 г ткани селезенки тщательно растирают в ступке со стеклянным порошком, приливая постепенно небольшими порциями 40 мл раствора хлорида натрия. Полученный вязкий раствор фильтруют через 2 слоя марли в малый кристаллизатор. Отмеривают цилиндром шестикратный (по отношению к фильтрату) объем воды очищенной и медленно выливают ее в фильтрат. Образовавшиеся нити дезоксирибонуклеопротеинов осторожно наматывают на деревянную палочку, переносят в пробирку.

Работа 2. Качественная реакция на ДНК (реакция ДИШЕ)

Таблица 1

Ход определения	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
К $\frac{1}{4}$ части осадка дезоксирибонуклеопротеина приливают 1 мл 0,4% раствора гидроксида натрия (до растворения). Отбирают в пробирку 15-20 капель раствора, добавляют равный объем дифенилового реактива. Содержимое пробирки перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане 15 мин.	Синее	Метод качественного и количественного определения дезоксирибонуклеиновой кислоты, основан на способности входящей в ее состав дезоксирибозы давать синее окрашивание при нагревании с дифениламином в присутствии сильных кислот.

Вывод: _____

Работа 3. Экспресс-диагностика патологии аминокислотного и углеводного обменов.

Определение наследственных дефектов обмена веществ скрининг-тестами

Таблица 2

Исследуемый материал и реактивы	Окрашивание	Причины нарушения
<i>1. Проба на тирозин и пара-оксифенилпировиноградную кислоту (тирозурия)</i>		
1) Патологическая моча – 5 кап. + 1 кап. реактива Милона. 2) Нормальная моча – 5 кап. + 1 кап. реактива Милона. Обе пробирки поместите в кипящую водяную баню на 2-3 мин.	Розовое Нет	Дефект пара-гидроксифенилпируват-диоксигеназы (тормозится переход пара-гидроксифенилпировиноградной кислоты в тирозин).
<i>2. Проба на гомогентизиновую кислоту (алкаптонурия)</i>		
1) Патологическая моча – 10 кап. + 2-3 кап. 10% раствора NaOH. 2) Нормальная моча – 10 кап. + 2-3 кап 10% раствора NaOH.	Фиолетовое Нет	Дефект гомогентизина-токсидазы (тормозится переход гомогентизиновой кислоты в фумарилацетоуксусную кислоту).
<i>3. Проба на фенилпировиноградную кислоту (фенилкетонурия)</i>		
1) Патологическая моча – 20 кап. + 5 кап. 5% раствора FeCl ₃ . 2) Нормальная моча – 20 кап. +5 кап. 5% раствора FeCl ₃ .	Зеленое Нет	Дефект фенилаланингидроксилазы (тормозится переход фенилаланина в тирозин).
<i>4. Проба на гипераминоацидурию (гипераминоацидурия)</i>		
1) Патологическая моча – 5 кап. + 5 кап. 0,5% раствора нингидрина. 2) Нормальная моча – 5 кап.	Синее Слабо синее	Дефект мембранных транспортных белков в почечном эпителии канальцев –

+5 кап. 0,5% раствора нингидрина. Обе пробирки поместите в кипящую водяную баню на 2-3 мин		нарушается реабсорбция аминокислот
5. Проба Бельке на лактозу и мальтозу (мальтозонурия)		
1) Патологическая моча – 5 кап. + 2,5 мл конц. раствора аммиака; + 0,2 мл 20% раствора КОН. 2) Нормальная моча – 5 кап. + 2,5 мл конц. раствора аммиака; + 0,2 мл 20% раствора КОН. Обе пробирки поместите в кипящую водяную баню на 30 мин	Коричнево- оранжевое Нет	Дефект мембранных транспортных белков в почечном эпителии канальцев – нарушение реабсорбции моносахари- дов

Вывод: с помощью скрининг-тестов можно установить наличие наследственных дефектов обмена веществ (протеинопатию, в том числе – ферментопатию).

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. В каком материале определяли дРНП?
2. Опишите этапы выделения дРНП.
3. Какой реакцией определяли дРНП?
4. Назовите причину тирозинурии и опишите ход выполнения пробы на тирозин и параоксифенилпировиноградную кислоту.
5. Назовите причину алкаптонурии, опишите ход выполнения пробы на гомогентизиновую кислоту.
6. Назовите причину фенилкетонурии и опишите ход выполнения пробы на фенилпировиноградную кислоту.
7. Назовите причину гипераминоацидурии и опишите ход выполнения пробы на гипераминоацидурию.
8. Назовите причину мальтозонурии и опишите ход выполнения пробы на мальтозу.
9. Какова диагностическая ценность экспресс – диагностики наследственных заболеваний?

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Перечислите основные этапы в синтезе ДНК.
2. Назовите три этапа обратной транскрипции.
3. Укажите основные этапы матричного синтеза РНК и неспецифического синтеза РНК.
4. Перечислите основные этапы биосинтеза белка.
5. Охарактеризуйте основные этапы регуляции синтеза белка.
6. Охарактеризуйте молекулярные основы изменчивости, протеинопатии и ферментопатии.
7. Дайте определение понятию полиморфизм белков.
8. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные достижения в области изучения процесса репликации.

Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Что является матрицей при репликации?
А – участие ДНК
Б – участие РНК
В – цепи ДНК
Г – белковые молекулы
Д – цепи РНК
2. Какое соединение является «затравкой» при биосинтезе ДНК?
А – полипептид
Б – олигодезоксирибонуклеотид
В – полинуклеотид
Г – олигорибонуклеотид
Д – полиадениловый нуклеотид
3. Какие ферменты участвуют в образовании фосфодиэфирной связи между нуклеотидами?
А – ДНК-полимераза I
Б – фосфодиэстераза
В – ДНК-полимераза III
Г – рибонуклеаза
Д – ДНК-лигазы
4. Что такое трансляция?
А – перевод нуклеотидной последовательности м-РНК в аминокислотную последовательность синтезируемого белка
Б – биосинтез ДНК

- В – биосинтез РНК
- Г – биосинтез белка
- Д – биосинтез аминокислот

5. Что происходит на этапе элонгации при биосинтезе белка?

- А – образование пептидной связи между аминокислотами (транспептидация)
- Б – присоединение аминоацил-т-РНК антикодоном к кодону м-РНК
- В – присоединение аминоацил-т-РНК к аминоацильному участку (А-участку) рибосомы
- Г – соединение субъединиц рибосомы
- Д – перемещение м-РНК на один триплет (транслокация)

Занятие 8. Итоговое занятие. Контрольная работа и итоговое тестирование по теме: Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков.

Цель: закрепление знаний, усвоения практических умений и навыков по теме: Обмен аминокислот и белков. Передача генетической информации. Биосинтез белка и его регуляция, генетическая изменчивость, полиморфизм белков. Иммуноглобулины. Молекулярная патология.

Вопросы контрольной работы

1. Пищеварение белков. Роль протеолитических ферментов желудка, поджелудочной железы, тонкого кишечника.
2. Специфичность действия пепсина, трипсина, химотрипсина, карбоксипептидаз, аминопептидаз, дипептидаз.
3. «Гниение» белков в кишечнике.
4. Межуточный обмен белков (общая характеристика, роль катепсинов, азотистый баланс, аминокислотный пул).
5. Общие пути катаболизма аминокислот, реакции по альфа-аминогруппе.
6. Судьба безазотистого углеродного скелета аминокислот.
7. Обезвреживание аммиака: образование амидов, орнитинный цикл.
8. Реакции по карбоксильной группе аминокислот, обезвреживание биогенных аминов.
9. Реакции по радикалу аминокислот.
10. Биосинтез аминокислот, первичный синтез аминокислот.
11. Аминокислоты и белки как лечебные средства.
12. Катаболизм и синтез гемопротеинов (гемоглобина).
13. Катаболизм нуклеопротеинов, нуклеиновых кислот, нуклеотидов, нуклеозидов, пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований.
14. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
15. Общие черты сходства в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований.
16. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, рибонуклеозид- и дезоксирибонуклеозид – 5' трифосфатов.
17. Репликация (синтез ДНК).
18. Обратная транскрипция.
19. Транскрипция (синтез РНК).
20. Неспецифический синтез РНК.
21. Общая характеристика синтеза белка. Матричный и мультиэнзимный синтез белка.
22. Этап транскрипции в синтезе белка.
23. Этап рекогниции в синтезе белка. Характеристика тРНК.
24. Этапы трансляции в синтезе белка: инициация, элонгация и терминация.

25. Регуляция биосинтеза белка у прокариотов. Гипотеза Жакоба и Моно.
26. Регуляция биосинтеза белка эукариотов.
27. Молекулярные механизмы изменчивости. Типы генетической мутации.
28. Молекулярная патология. Ферментативные и не ферментативные протеинопатии.
29. Полиморфизм белков.
30. Иммуноглобулины: строение, синтез, функции.

Контроль практических навыков и умений

Студенты индивидуально выполняют анализ контрольной пробы по экспресс - диагностике наследственной патологии.

Выполнение контрольной работы

Проводится в отдельности каждым студентом в письменной - устной форме, в соответствии с полученным заданием включающим 2-3 контрольных вопроса.

Анализ контрольных проб на содержание компонентов белкового обмена.

Результаты анализ контрольных проб на содержание компонентов белкового обмена

Таблица 1

Название реакции	Исследуемый материал	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
Проба Геллера	№А		
	№Б		
	№В		
Бензидиновая проба	№А		
	№Б		
	№В		
Проба Розина	№А		
	№Б		
	№В		

Вывод: _____

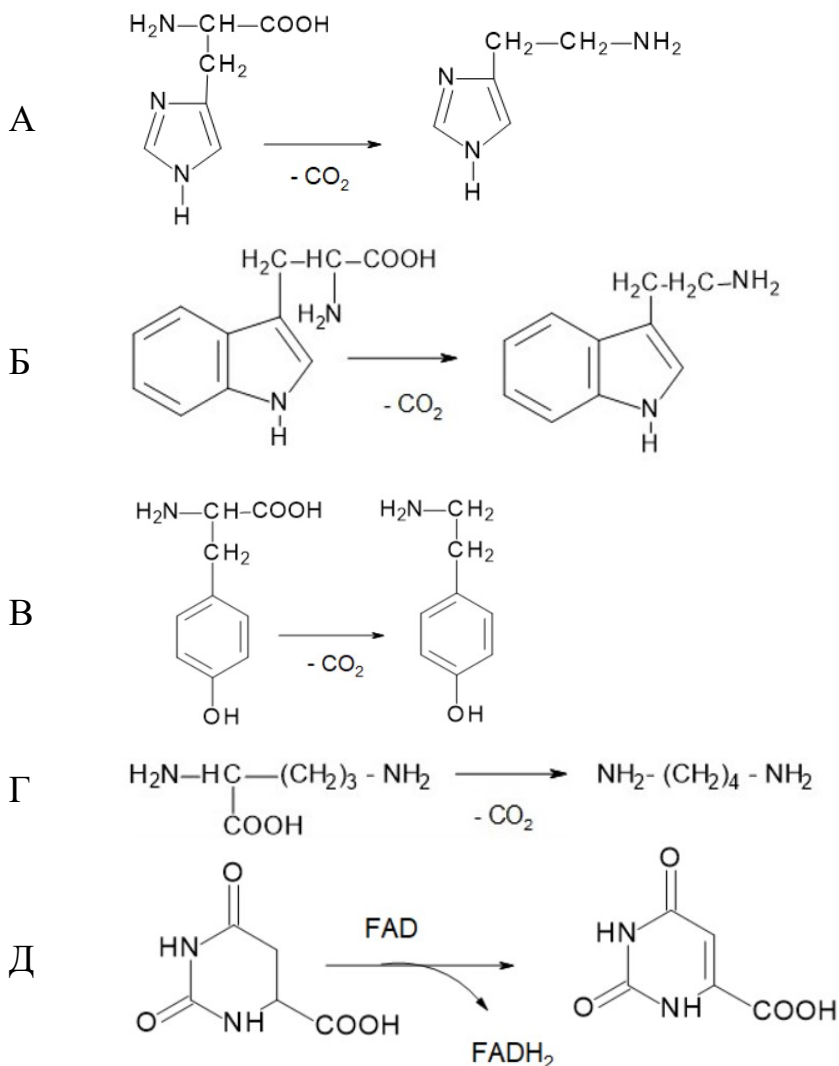
Задание для самостоятельной работы студентов

1. Напишите примеры реакций свойственных аминокислотам по аминогруппе, карбоксильной группе и радикалу.
2. Охарактеризуйте основные этапы в синтезе ДНК и РНК.
3. Опишите этапы биосинтеза белка.
4. Охарактеризуйте основные этапы регуляции синтеза белка у прокариот и эукариот.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные представления о механизмах межклеточной коммуникации.

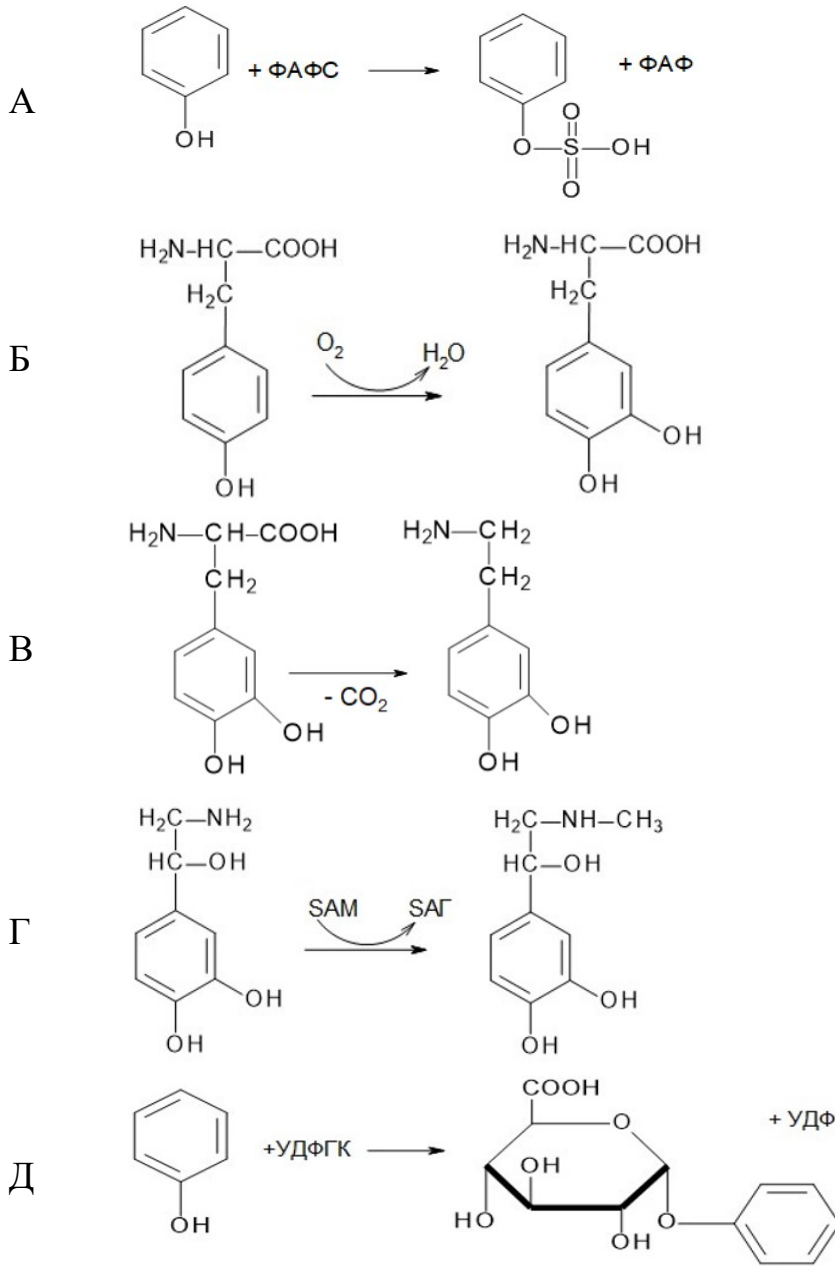
Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

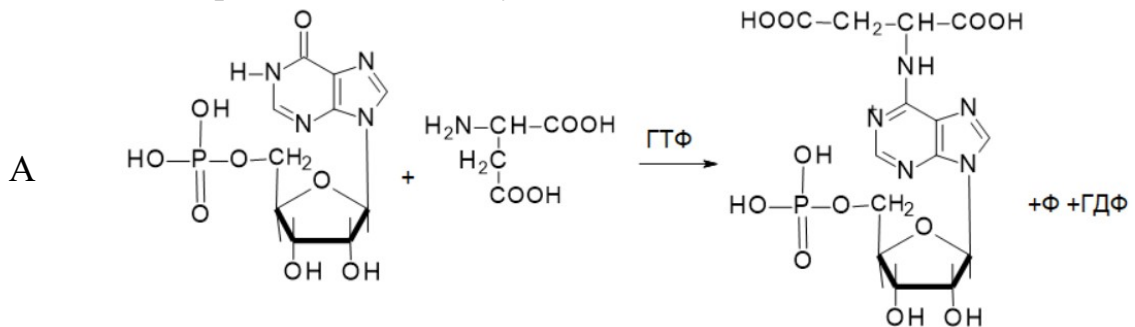
1. Укажите реакции декарбоксилирования гистидина, триптофана, тирозина:

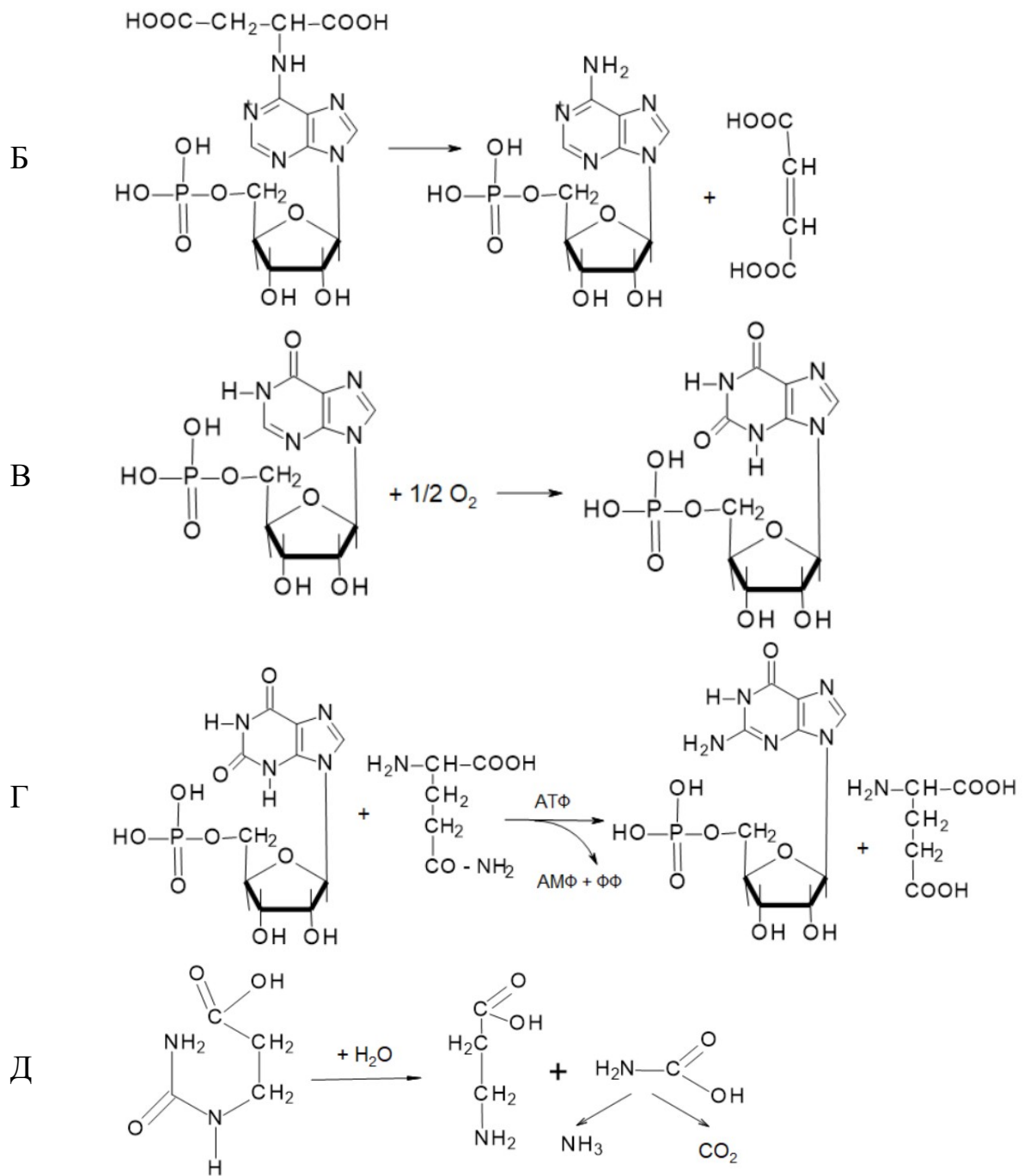


2. Укажите реакции превращения аминокислоты тирозина в адреналин (реакции по радикалу аминокислот):



3. Укажите реакции синтеза гуаниловой кислоты:

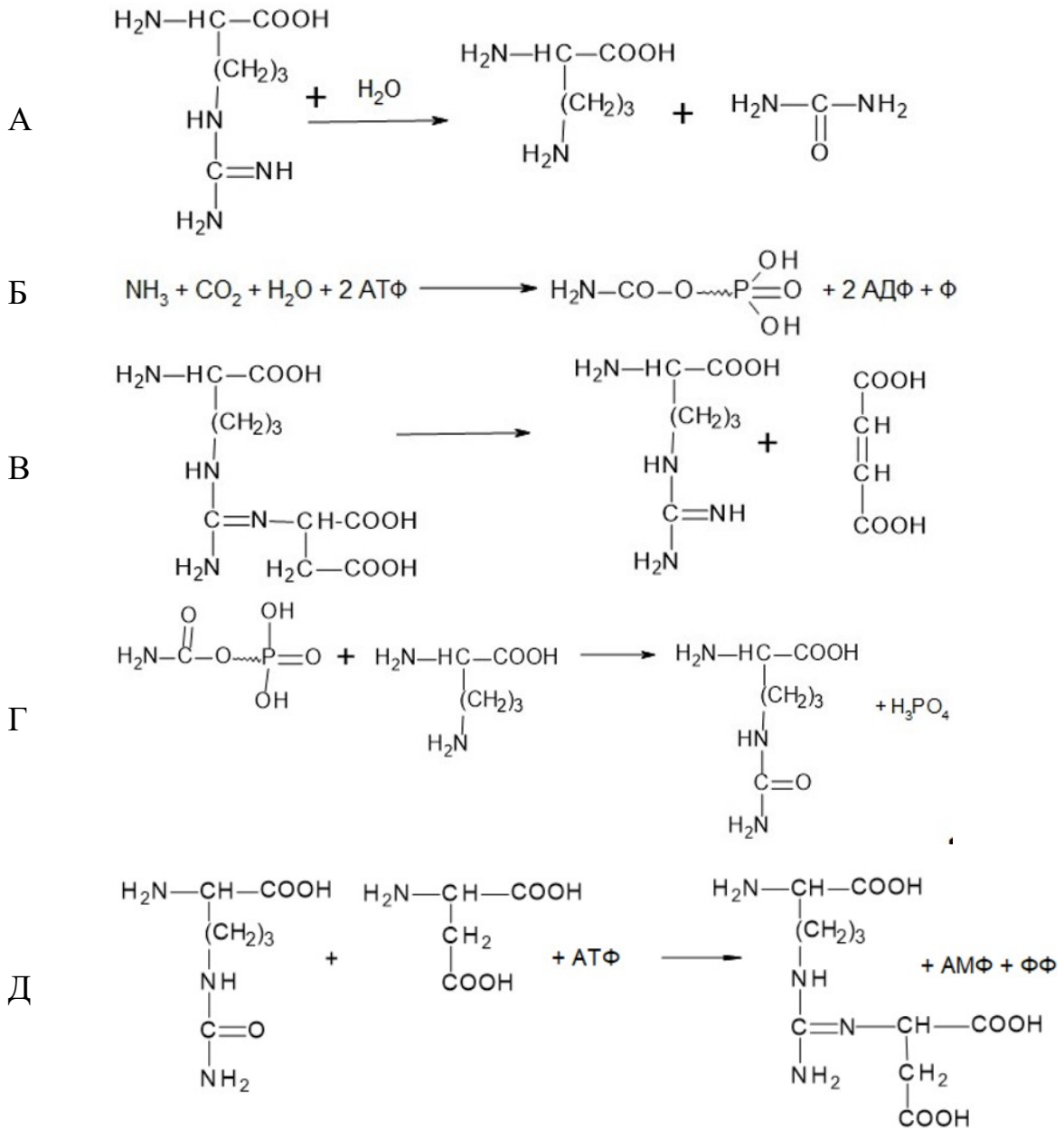




4. Передача генетической информации осуществляется:

- А—ДНК →РНК→белок
- Б — белок→ДНК→РНК
- В— белок→белок→белок
- Г— белок→РНК→ДНК
- Д— белок→ДНК→белок

5. Аргининосукцинатсинтететаза катализирует реакцию:



Занятие 9. Тема: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Классификация. Механизм действия.

Цель: научиться методам качественного и количественного определения гормонов.

Задачи:

- выполнить качественную реакцию на дофамин;
- выполнить количественное определение содержания гистамина;
- выполнить качественные реакции на белково-пептидные гормоны;
- выполнить качественные реакции на гормоны, производные аминокислот;
- выполнить качественные реакции на стероидные гормоны.

Вопросы для обсуждения

1. В чем состоят основные принципы интеграции обмена веществ?
2. Назовите ключевые метаболиты и лимитирующие вещества в интеграции обмена веществ?
3. Уровни и системы регуляции обмена веществ
4. Как обеспечивается единство нейрогуморальной регуляции обмена веществ? Нейросекреторные клетки. Рилизинг-факторы.
5. Какова химическая природа гормонов?
6. Какие процессы в организме регулируют гормоны?
7. Какие различают типы действия гормонов на клетку?
8. Как подразделяются гормоны по характеру взаимодействия их с клетками? Назовите соответствующие гормоны.
9. Охарактеризуйте цитозольный тип взаимодействия гормонов с клеткой.
10. Охарактеризуйте мембрано – внутриклеточный тип взаимодействия гормонов с клеткой.
11. Назовите вторичные мессенжеры клетки при ее взаимодействии с гормонами.
12. Охарактеризуйте общие принципы метаболизации гормонов в животном организме.
13. Какие общие принципы метаболизации гормонов в животном организме.

Самостоятельная работа

Работа 1. Качественная реакция на дофамин.

Работа 2. Количественное определение гистамина.

Работа 3. Качественные реакции на гормоны.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения
Качественная реакция на дофамин

Таблица 1

Ход определения	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
К 1 мл 0,5% раствора препарата или 0,1 мл 4% раствора препарата прибавляют 4 мл воды очищенной и 0,02 мл 1% раствора хлорида железа (III), а затем 0,05 мл 10% раствора аммиака	Появление изумрудно-зеленого цвета, переходящего в вишнево-красное окрашивание	Образование окрашенного комплекса

Вывод: _____

Количественное определение гистамина в крови с диазотированным
п-нитроанилином

Таблица 2

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы		
	№1 стандарт	№2 опыт	№3 контроль
Стандартный раствор гистамина 200 мкмоль/л	0,2 мл	-	-
Дистиллированная вода	4,8 мл	4,8 мл	5,0 мл
Сыворотка крови	-	0,2 мл	-
Дистиллированная вода	3 мл	3 мл	3 мл
4% раствор натрия нитрита	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
	Перемешать		
Диазотированный п-нитроанилин	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
	Перемешать		
20% раствора Na ₂ CO ₃	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
	Перемешать		
5 М раствор натрия гидроксида	5 кап.	5 кап.	5 кап.
Через 10 мин ФЭК, λ=540 нм, кювета 0,5 см, против контроля	E _{ст} =?	E _{оп} =?	-
Расчет	$X_{оп} = \frac{E_{оп} \cdot 200}{E_{ст}} = ? \text{ мкмоль / л}$		

Вывод: содержание гистамина в сыворотке крови - _____ мкмоль/л

Примечание: в норме у здорового человека в сыворотке крови содержание гистамина – 0,02-0,04 мкмоль/л, у белых крыс – 90-220 мкмоль/л

Качественные реакции на гормоны

Таблица 3

Название гормона	Химическая природа	Название реакции и употребляемые реактивы	Принцип реакции	Наблюдаемое окрашивание
1. Инсулин	Белок	1) Биуретовая реакция: инсулин 5 кап. + биуретовый реактив – 2 кап.	Образование комплекса меди с пептидными группами	Фиолетовое
		2) Нингидриновая реакция: инсулин – 5 кап. + 0,5% раствор нингидрина – 2 кап. Нагреть	Образование комплексного соединения	Синее
		3) Реакция Геллера: инсулин – 5 кап. + конц. азотная кислота – 5 кап.	Денатурация белка	Белое кольцо
2. Окситоцин	Пептид	1) Биуретовая реакция: окситоцин 5 кап. + биуретовый реактив – 5 кап.	Образование комплексного соединения	Синее
		2) Нингидриновая реакция: окситоцин – 5 кап. + 0,5% раствор нингидрина – 2 кап. Нагреть	Денатурация белка	Белое кольцо
3. Адреналин	Производное аминокислоты	1) Реакция с хлоридом железа: адреналин, 0,1% раствор – 10 кап. + 0,5М раствор хлорида железа (III)– 1 кап.	Образование комплексного соединения с хлоридом железа (III)	Зеленое
		2) Реакция с иодатом калия: адреналин, 0,1% раствор – 3 кап. + 10% раствор иодата калия –	Образование комплексного соединения	Красное, а затем вишневое

		2 кап. + 10% раствор уксусной кислоты – 2 кап. Нагреть.		
		3) Реакция с диазобензосульфокислотой: 1% раствор сульфониловой кислоты – 3 кап. + 5% раствор натрия нитрита – 3 кап. + адреналин, 0,1% раствор – 5 кап + 10% раствор карбоната натрия – 3 кап. Встряхнуть.	Образование комплексного соединения	Красное или желто-оранжевое
4. Йодтиронин	Производное аминокислоты	1) Реакция с выделением свободного иода: 1% раствор йодтиронина – 10 кап. + конц. азотной кислоты – 2 кап. + 1% раствор иодата калия – 10 кап. + хлороформ – 10 кап. Встряхнуть	Выделение свободного иода, который в хлороформе приобретает малиновый цвет	Малиновый
5. Эстрон	Стероид	1) Реакция с реактивом Фолина: 0,1% раствор эстрона (фолликулина) – 5 кап. + реактив Фолина – 2 кап. + 30% раствор натрия гидроксида – 2 кап.	Восстановление фосфорновольфрамового реактива	Синее
6. Дийодтирозин	Производное аминокислоты	1) Качественная реакция на дийодтирозин – фармакопейная: 0,1% раствор дийодтирозина - 10 кап. + 0,5% раствор нингидрина - 10 кап. Нагреть до кипения	Образование комплекса из аммиака, окисленного и восстановленного нингидрина	Синее

7. Метилтестостерон	Стероид	1) Качественная реакция на метилтестостерон (фармакопейная): 0,1% раствор метилтестостерона – 5 кап. + конц. серная кислота – 5 кап. Осторожно перемешать	Образование окрашенного соединения	Оранжево-красное или желто-оранжевое
---------------------	---------	--	------------------------------------	--------------------------------------

Вывод: с помощью качественных реакций на гормоны можно установить их присутствие в среде.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Каков принцип метода определения дофамина?
2. Опишите ход определения дофамина.
3. Каков принцип метода определения гистамина в крови?
4. Опишите ход определения гистамина в крови.
5. Объясните формулу расчета содержания гистамина в крови.
6. Какое значение имеет определение гистамина в биологических жидкостях?
7. Как используются препараты гистамина в медицине?
8. К какой группе по химической классификации относятся гормоны инсулин, адреналин, эстрадиол?
9. Укажите, на каком принципе основываются качественные реакции на инсулин и окситоцин: биуретовая реакция, нингидриновая реакция, реакции Геллера.
10. Опишите ход выполнения биуретовой реакции.
11. Опишите ход выполнения нингидриновой реакции.
12. Опишите ход выполнения реакции Геллера.
13. Укажите на каком принципе основываются качественные реакции на адреналин: реакция с хлоридом железа, реакция с иодатом калия, реакция с диазобензосульфокислотой.
14. Опишите ход выполнения реакции с хлоридом железа.
15. Опишите ход выполнения реакции с иодатом калия.
16. Опишите ход выполнения реакции диазобензосульфокислотой.
17. Укажите на каком принципе основываются качественные реакции на эстрон и метилтестостерон.
18. Опишите ход выполнения реакции с реактивом Фолина.
19. Опишите ход выполнения реакции с концентрированной серной кислотой на метилтестостерон.

20. Укажите фармакопейную реакцию на метилтестостерон.
21. Укажите, на чем основывается цветная реакция на дейодтирозин.
22. Опишите ход выполнения качественной реакции на йодтиронин.

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Перечислите уровни и системы регуляции обмена веществ.
2. Назовите ключевые и лимитирующие метаболиты в интеграции обмена веществ.
3. Назовите две группы гормонов, различающиеся по характеру первичного - взаимодействия с клетками; назвать вторичные посредники в действии гормонов на клетку.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные концепции механизмов передачи гормонального сигнала.

Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Главной ролью гормонов передней доли гипофиза является:
А - регуляция функций периферических эндокринных желез
Б - ингибирование секреции рилизинг-факторов
В - выработка вазопрессина
Г - образование окситоцина
Д - выработка тропных гормонов
2. В активации фермента аденилатциклазы принимают участие:
А - адреналин
Б - альдостерон
В - глюкагон
Г - кортикостерон
Д - эстрадиол
3. По химической природе гормоны являются:
А - производными нуклеиновых кислот
Б - стероидами
В - пептидами
Г - производными аминокислот
Д - производными жирных кислот
4. Вторичным посредником в передаче гормонального сигнала в клетке являются:
А - продукты превращения фосфоинозитидов
Б - цикло- АМФ;

В - цикло- ГМФ;
Г - калмодулин;
Д - 2',5' - олигоаденилат

5. Аденилатциклазный путь передачи гормонального сигнала включает:

А - фермент аденилатциклазу
Б - G белок
В - рецептор
Г - ц-АМФ зависимые протеинкиназы
Д - фосфодиэстеразу

Занятие 10. Тема: Стероидные гормоны. Гормоны – производные аминокислот. Белково-пептидные гормоны. Гормоны производные жирных кислот.

Цель: научиться методам количественного определения гормонов – производных аминокислот.

Задачи:

– количественно определить содержание адреналина.

Вопросы для обсуждения

1. Классификация гормонов, основанная на химическом строении.
2. Строение, свойства и функции стероидных гормонов.
3. Строение, свойства и функции гормонов – производных аминокислот.
4. Строение, свойства и функции пептидных гормонов.
5. Строение, свойства и функции гормонов – производных жирных кислот (простагландинов).
6. Использование гормонов и их синтетических аналогов в медицине.

Самостоятельная работа студентов

Работа 1. Количественное определение адреналина в исследуемой жидкости с реактивом Фолина.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Количественное определение адреналина в исследуемой жидкости с реактивом Фолина

Принцип метода: основан на колориметрическом определении интенсивности синего окрашивания, возникающего при взаимодействии адреналина с реактивом Фолина.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы	
	№1 стандарт	№2 опыт
Стандартный раствор адреналина C _{ст} =0,04 мг/мл	1 мл	-
Исследуемый раствор	-	1 мл
10% раствор карбоната натрия	4 мл	4 мл
Реактив Фолина	0,5 мл	0,5 мл
	Встряхнуть	
Через 5 мин добавить 10 % раствор карбоната натрия	4,5 мл	4,5 мл
	Перемешать	
ФЭК, λ=750 нм, кювета на 1 см, против воды	E _{ст} = ?	E _{оп} =?
Расчет	$C_{оп} = \frac{C_{ст} \cdot E_{оп}}{E_{ст}} = \frac{0,04 \cdot E_{оп}}{E_{ст}} = ? \text{ мг/мл}$	

Вывод: содержание адреналина в пробе = _____ мг/мл

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Каков принцип метода определения адреналина?
2. Опишите ход определения адреналина в исследуемой жидкости.
3. Объясните расчет содержания адреналина в жидкости
4. Какое значение имеет определение адреналина в биологических жидкостях?
5. Как используются препараты адреналина в медицине?

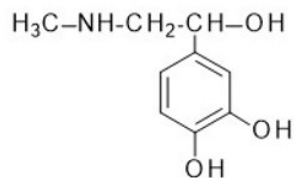
Задание для самостоятельной работы студентов

1. Привести классификацию гормонов по их химическому строению.
2. Написать формулы стероидных гормонов коры надпочечников.
3. Написать формулы половых гормонов стероидной природы.
4. Написать формулы гормонов мозгового вещества надпочечников.
5. Написать формулы гормонов щитовидной железы и указать их природу.
6. Подготовить доклад с презентацией по теме: Исследования по изучению гормональной регуляции водно-солевого обмена.

Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Формула какого гормона изображена?



- А – альдостерон
- Б – инсулин
- В – кортизол
- Г – адреналин
- Д – тироксин

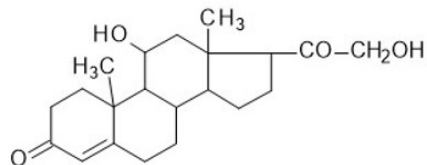
2. Какие гормоны пассивно проникают через клеточную мембрану?

- А – стероидные гормоны
- Б – белково-пептидные
- В – тироксин
- Г – адреналин
- Д – глюкагон

3. Какие гормоны находятся в задней доле гипофиза?

- А – вазопрессин, окситоцин
- Б – адреналин, глюкагон
- В – инсулин, тестостерон
- Г – глюкокортикоиды, тиреотропный
- Д – соматотропный, кортизол

4. Формула какого гормона изображена?



- А – адреналин
- Б – кортикостерон
- В – инсулин
- Г – гидрокортизон
- Д – эстрон

5. Какие гормоны пассивно проникают через клеточную мембрану и взаимодействуют с рецепторами внутри клеток?

А – адреналин

Б – глюкагон

В – альдостерон

Г – эстрогены

Д – тироксин

Занятие 11. Итоговое занятие и итоговое тестирование по теме: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны.

Цель: закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны и гормональная регуляция как механизм межклеточной и межорганной координации обмена веществ.

Задачи:

- провести качественные реакции на подлинность гормональных препаратов в контрольной пробе.

Вопросы для обсуждения

1. Основные принципы интеграции обмена веществ
2. Ключевые метаболиты и лимитирующие вещества в интеграции обмена веществ.
3. Основные системы регуляции обмена веществ
4. Уровни регуляции жизненных процессов.
5. Гормоны и гормональная регуляция как механизм межклеточной и межорганной координации обмена веществ.
6. Общая характеристика действия гормонов на организм.
7. Химическое строение гормонов. Классификация гормонов.
8. Механизм действия гормонов. Инсулин.
9. Механизм действия гормонов. Мембранно-внутриклеточный тип действия гормонов. Катехоламины.
10. Механизм действия гормонов. Цитозольный тип действия гормонов. Эстрагены.
11. Гормоны щитовидной железы.
12. Гормоны коры надпочечников.
13. Гормоны мозгового вещества надпочечников.
14. Гормоны поджелудочной железы.
15. Половые гормоны (андрогены, эстрагены).
16. Гормоны передней доли гипофиза.
17. Гормоны средней и задней долей гипофиза.
18. Простагландины.

Самостоятельная работа

Идентификация содержимого полученной контрольной пробы.

В полученных контрольных пробах провести идентификацию гормонов.

Для этого с каждой пробой провести качественные реакции:

- а) биуретовую реакцию;
- б) реакцию с хлоридом железа;

в) реакцию с концентрированной серной кислотой.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат работы по завершении продемонстрировать преподавателю и оформить протокол в рабочей тетради.

Идентификация содержимого полученной пробы

Таблица 1

Название реакции	Исследуемый материал	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции	Химическая природа определяемого вещества и его количество
Биуретовая реакция	№1 №2 №3			
Реакция с хлоридом железа	№1 №2 №3			
Реакция с концентрированной серной кислотой	№1 №2 №3			
Реакция с реактивом Фоллина и карбонатом натрия	№1 №2 №3			

Вывод:

Итоговый контроль

Работа студента на занятии оценивается по результатам тестового контроля, устного ответа на занятии, правильности выполнения индивидуальных практических задач и сделанных выводов.

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Охарактеризуйте уровни и системы регуляции метаболизма.
2. Опишите механизм действия гомонов.
3. Напишите химические формулы стероидных гормонов, производных аминокислот и производных жирных кислот.
4. Укажите участие пептидных гормонов в обмене веществ в организме.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Научные исследования в изучении биохимических аспектов сахарного диабета.

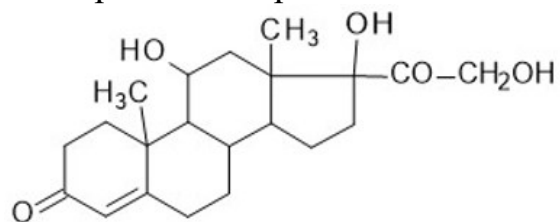
Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какие вещества являются исходными для синтеза тестостерона?
А – глюкоза
Б – гликоген
В – холестерол
Г – жирные кислоты
Д – аминокислоты
2. Какова причина бронзовой болезни?
А – гиподисфункция коры надпочечников
Б – гипердисфункция коры надпочечников
В – гипердисфункция щитовидной железы
Г – гиподисфункция яичников
Д – гиподисфункция паращитовидных желез
3. Какое вещество относится к мужским половым гормонам?
А – инсулин
Б – адреналин
В – тестостерон
Г – альдостерон
Д – прогестерон
4. Какова химическая природа адреналина?
А – производное жирных кислот
Б – производное стеролов

- В – белково-пептидная природа
- Г – производное аминокислоты
- Д – производное углеводов

5. Формула какого гормона изображена?



- А – гидрокортизон
- Б – глюкагон
- В – тироксин
- Г – альдостерон
- Д – кортикостерон

Занятие 11. Биохимия органов и тканей.

Цель: научиться методам количественного определения некоторых биохимических показателей крови.

Задачи:

- определить содержание белковых фракций;
- выполнить пробу Вельтма на коллоидную устойчивость белков.

Вопросы для обсуждения

1. Каковы биохимические функции и состав крови?
2. Охарактеризуйте белки плазмы крови и их диагностическое значение.
3. Назовите азотсодержащие небелковые компоненты плазмы крови и их диагностическое значение.
4. Охарактеризуйте кининовую систему крови.
5. Какие препараты получают из крови?
6. Каковы особенности метаболизма в форменных элементах крови?
7. Роль печени в обмене белков, липидов, углеводов, витаминов, гормонов, минеральных веществ.
8. Охарактеризуйте детоксицирующую функцию печени.
9. Назовите биохимические методы диагностики заболеваний печени.

Самостоятельная работа

Работа 1. Определение содержания белковых фракций крови турбидиметрическим методом.

Работа 2. Проба Вельтмана на коллоидную устойчивость белков сыворотки крови.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Проба Вельтмана на коллоидную устойчивость белков сыворотки крови

Принцип: основан на разной устойчивости отдельных белковых фракций сыворотки кров к коагуляции под действием определенных концентраций кальция хлорида и нагревания.

Ход определения: в пробирку вносят 0,1 мл сыворотки крови и 4,9 мл дистиллированной воды. Перемешивают, добавляют по 0,1 мл раствора хлорида кальция и нагревают до появления хлопьев.

Таблица 1

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CaCl ₂ , мл	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Изменения	Сдвиг влево				норма		Сдвиг вправо			
Патология	Острые воспалительные и экссудативные состояния, опухоли (обусловлено увеличением α и β-глобулинов). Альбумины снижаются.						Повреждение печени, фиброзы, гемолиз, хронические воспалительные заболевания (обусловлено увеличением γ-глобулинов). Альбумины снижаются.			

Вывод: внесено 0,7 мл CaCl₂ – сдвиг влево.

Определение содержания белковых фракций сыворотки крови турбидиметрическим методом

Принцип метода: основан на способности определенных белковых фракций сыворотки крови осаждаться в виде взвеси в фосфатных растворах определенной концентрации, степень мутности пропорциональна содержанию белковых фракций.

Таблица 2

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробирки					
	контроль	№1	№2	№3	№4	№5
Дистиллированная вода	5,0 мл	-	-	-	-	0,4 мл
Буферный рабочий раствор №1	-	2,5 мл	-	-	-	-
Буферный рабочий раствор №2	-	-	2,5 мл	-	-	-
Буферный рабочий раствор №3	-	-	-	2,5 мл	-	-
Буферный рабочий раствор №4	-	-	-	-	2,5 мл	-
Основной буферный раствор						1,9 мл
Сыворотка крови						0,25 мл
Содержимое пробирки №5	0,5 мл	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл	-

Через 15 мин. ФЭК, $\lambda=750\text{нм}$ против контроля, кювета 0,5 см	-	$E_1 = ?$	$E_2 = ?$	$E_3 = ?$	$E_4 = ?$	-
---	---	-----------	-----------	-----------	-----------	---

Расчет:

Общий белок $C=70$ г/л

Альбумины = $E = E_1 - E_2$

α -глобулины = $E = E_2 - E_3$

β -глобулины = $E = E_3 - E_4$

γ -глобулины = $E = E_4$

$$X = \frac{E_{\text{оп}} * C}{E_{\text{общ}}} = \text{_____ г/л}$$

$$X = \frac{E_{\text{оп}} * 100\%}{E_{\text{общ}}} = \text{_____ \%}$$

Вывод:

В норме в сыворотке содержится:

Альбумины: 35-60 г/л (40-50%)

Глобулины: 25-35 г/л (20-30%)

α_1 -глобулины: 2,0-5,0 г/л (2,5-5,0 %)

α_2 -глобулины: 4,0-7,0 г/л (7-13%)

β -глобулины 5,0-9,0 г/л (8-14%)

γ -глобулины: 8,0-17,0 г/л (12-22%)

Индекс альбумины/ глобулины = 1,5-2,3

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе проверки протоколов. Для поведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. На чем основан метод определения белковых фракций крови?
2. Опишите ход определения белковых фракций крови.
3. От чего зависит осаждение различных фракций белка при данной концентрации буферного раствора?
4. Как рассчитать содержание отдельных белковых фракций крови в процентном и абсолютном значении?
5. Как изменяется протеинограмма крови при острых воспалительных процессах?
6. Какие изменения соотношения белковых фракций наблюдаются при хронических воспалительных процессах, при поражении печени?
7. На чем основан принцип пробы Вельтмана?
8. Опишите ход определения коллоидной устойчивости белков сыворотки крови.
9. Охарактеризуйте показатели полученной коагуляционной ленты Вельтмана.

Задание для самостоятельной работы студентов

1. Перечислите основные биохимические функции крови.
2. Опишите химический состав плазмы крови.
3. Перечислите основные биохимические функции печени.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные сведения о белках, принимающих участие в свертывании крови.

Проверь себя:

ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Какие белки входят в состав плазмы крови?
А – альбумины
Б – глобулины
В – гемоглобин
Г – миозин
Д – фибриноген
2. Какие функции выполняет печень?
А – сократительную
Б – экскреторную
В – обезвреживающую
Г – обеспечивающую постоянство плазмы крови
Д – дыхательную
3. Какие функции выполняют кровь?
А – транспортную
Б – дыхательную
В – сократительную
Г – энерготрансформирующую
Д – регуляторную
4. В каком органе или ткани активность фермента глюкокиназы наивысшая?
А – почках
Б – крови
В – мышцах
Г – сердце
Д – печени
5. Укажите, каким ферментом осуществляется распад угольной кислоты в эритроцитах
А – ацетилхолинэстеразой
Б – карбоангидразой

В – декарбоксилазой
Г – оксигеназой
Д – аминоксидазой

Занятие 13. Тема: Фармацевтическая биохимия.

Цель: научиться методам количественного определения активности фармакопейных препаратов.

Задачи:

- определять активность фармакопейного препарата трипсина.

Вопросы для обсуждения

1. Связь фармации и биохимии, использование биохимических методик в фармации.
2. Биохимические методы, применяемые в стандартизации и контроле качества лекарств.
3. Биогенные препараты и препараты- ксенобиотики.
4. Судьба чужеродных соединений - лекарств в организме.
5. Всасывание лекарственных веществ. Виды транспорта лекарственных веществ через мембраны.
6. Распределение лекарственных веществ в тканях и жидкостях организма. Свободная и связанная форма лекарств.
7. Выведение лекарств из организма.

Самостоятельная работа

Работа 1. Количественное определение активности фармакопейного препарата трипсина по методу Ансона.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Характерной особенностью ферментов является их способность сохранять свою активность вне организма, в связи с чем они могут быть использованы как лекарственные препараты. Ферменты - лекарственные препараты- периодически проверяют на активность. Количественное определение активности трипсина может проводится в различных партиях препарата, поступившего в контрольно-аналитическую лабораторию.

Принцип метода: основан на определении количества тирозина, освобождаемого трипсином из гемоглобина (или казеина) при определенных условиях. Протеолитическая активность выражается в тирозиновых единицах по Ансону. Препарат имеет активность в одну тирозиновую единицу, если при воздействии на субстрат в течение одной минуты освобождается такое количество продуктов гидролиза,

неосаждаемых трихлоруксусной кислотой, которое при реакции с фенольным реактивом соответствует 1 миллиэквиваленту (МЭКВ) тирозина

Ход определения

1. Контроль.

- 1) В пробирку вносят 2,5 мл субстрата, добавляют 5,0 мл 0,3 н раствора трихлоруксусной кислоты.
- 2) Затем вносят 0,5 мл препарата трипсина и тщательно перемешивают.
- 3) Пробирку помещают в водяную баню с температурой 36°C на 3 мин.
- 4) Оставляют при комнатной температуре на 30 мин для осаждения белков.
- 5) Фильтруют через складчатый фильтр в пробирку, помеченную словом «контроль».
- 6) В новую пробирку, помеченную также, вносят 2,5 мл фильтрата, 5,0 мл 0,5 н раствора гидроксида натрия и затем, при помешивании, 1,5 мл рабочего раствора фенольного реактива.
- 7) Через 10 минут измеряют оптическую плотность раствора на ФЭЖе с красным светофильтром в кювете на 1 см.

2. Опыт.

- 1) В пробирку вносят 2,5 мл субстрата и помещают в водяную баню с температурой 36°C на 3 минуты.
- 2) Охлаждают. Добавляют 0,5 мл препарата трипсина и тщательно перемешивают.
- 3) Выдерживают в термостате или водяной бане при 36°C в течение 10-ти минут.
- 4) Затем в пробирку вносят 5,0 мл 0,3 н раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают.
- 5) Оставляют при комнатной температуре на 30 мин для осаждения белков.
- 6) Фильтруют через складчатый фильтр в пробирку, помеченную словом «опыт».
- 7) В новую пробирку помеченную также вносят 2,5 мл фильтрата и 5,0 мл 0,5 н раствора гидроксида натрия и затем, при помешивании, 1,5 мл рабочего раствора фенольного реактива.
- 8) Через 10 минут измеряют оптическую плотность на ФЭЖе с красным светофильтром в кювете на 1 см.

3. Стандарт.

- 1) В пробирку, помеченную словом «стандарт», вносят 2,5 мл стандартного раствора (стандартный раствор тирозина готовят растворением 14,495 мг чистого тирозина в 100 мл 0,2н раствора HCl: в 1 мл стандартного раствора содержится 0,0008 мэкв тирозина).

- 2) Добавляют 5,0 мл 0,3 н раствора гидроксида натрия и затем, при помешивании, 1,5 мл рабочего раствора фенольного реактива.
- 3) Через 10 минут измеряют оптическую плотность раствора на ФЭЖе с красным светофильтром в кювете на 1 см.

Пример количественного расчета

Оптическая плотность стандарта, содержащего в 1 мл 0,0008 мэкв тирозина, равна 0,3. Оптическая плотность контроля равна 0,12. Оптическая плотность опыта равна 0,27. Находим разность в оптической плотности между опытом и контролем: (0,27— 0,12 = 0,15) и по пропорции рассчитываем содержание тирозина в мэкв в опытной пробе.

$$\begin{array}{r}
 0,0008 - \quad 0,3 \\
 X \quad - \quad 0,15 \\
 X = \frac{0,0008 * 0,15}{0,3} = 0,0004 \text{ мэкв}
 \end{array}$$

Количество тирозировых единиц в 1 г исследуемого препарата трипсина (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,0004 * 200 * 16 * 1000}{2,5 * 2,5 * 0,5 * 10} = 8$$

где, 0,0004 - количество тирозина в опытной пробе в мэкв,
 200 — объем, в котором растворен препарат (в мл),
 16 — коэффициент пересчета на белок,
 1000 — коэффициент пересчета в граммы,
 2,5 — навеска препарата трипсина (в мг),
 0,5 — объем исследуемого препарата трипсина (в мл),
 10 — время термостатирования (в минутах).

Согласно Государственной Фармакопее 1 г препарата трипсина должен содержать не менее 8 тирозиновых единиц.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы демонстрируют преподавателю, производят расчет и оформляют протокол.

Определение активности фармпрепарата трипсина (по Ансону)

Принцип метода: основан на определении количества тирозина, освобожденного трипсином из гемоглобина (или казеина) при определенных условиях.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробирки		
	Контроль	Опыт	Стандартный раствор (0,0008 мэкв в 1 мл)
Субстрат	2,5 мл	2,5 мл	-
0,3 н раствор ТХУ кислоты	5 мл	-	-
Водяная баня, 36°C	3 мин	3 мин	-
Препарат трипсина	0,5 мл	0,5 мл	-
	Перемешать		
Водяная баня, 36°C	10 мин	10 мин	-
0,3 н раствор ТХУ кислоты	-	5 мл Перемешать	-
Через 30 мин отфильтровать			-
Фильтрат или стандартный раствор тирозина	2,5 мл фильтрата	2,5 мл фильтрата	2,5 мл стандартный раствора тирозина
0,5 н раствор NaOH	5,0 мл	5,0 мл	5,0 мл
Рабочий раствор фенольного реактива Фолина	1,5 мл	1,5 мл	1,5 мл
	Перемешать		
ч/з 10мин. ФЭК, $\lambda=750$ нм, кювета 1 см, против воды	$E_{\text{конт}}=?$	$E_{\text{опыт}}=?$	$E_{\text{станд.}}=?$

Расчет:

1) $E_p = E_{\text{оп}} - E_{\text{конт.}} = ?$

2) содержание тирозина в мэкв в опытной пробе $= \frac{0,0008 * E_p}{E_{\text{ст.}}} = ?$ мэкв

3) количество тирозиновых ед. в 1 г исследуемого препарата трипсина (X)

$$X = \frac{? * 200 * 16 * 1000}{2,5 * 0,5 * 2,5 * 10} = ?$$

В норме 1 г препарата трипсина должен содержать не менее 8 тирозиновых единиц.

Препарат имеет активность в одну тирозиновую ед., если при воздействии на субстрат в течение одной минуты освобождается такое количество продуктов гидролиза, не осаждаемых ТХУ кислотой, которое при реакции с фенольным реактивом соответствует 1 миллиэквиваленту (МЭКВ) тирозина.

Вывод: активность препарата = _____ тирозин ед.

Примечание: _____ – количество тирозина в опытной пробирке в мэкв

200 – объём, в котором растворён препарат,

16- коэффициент пересчёта на белок,

1000 – коэффициент пересчета, в г,

2,5 – навеска препарата трипсина (мг),

0,5 – объём исследуемого препарата (мл),

2,5 – объём взятого фильтрата (мл),

10- время термостатирования (мин).

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала занятия проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. На чем основан метод количественного определения активности трипсина?
2. Каков порядок работы количественного определения активности трипсина?
3. Как проводится расчет количественного определения активности трипсина ?
4. В каких единицах выражается активность препарата трипсина?
5. Каково в норме содержание тирозиновых единиц в 1г препарата трипсин?
6. Опишите ход работы определения контрольной пробы.
7. Опишите ход работы определения стандартной пробы.
8. С какой целью проводится определение активности ферментного препарата трипсина.

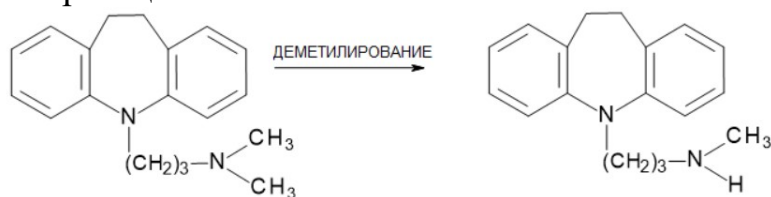
Задание для самостоятельной работы студентов

1. Укажите роль биохимии в фармации и ее связь с основными фармацевтическими дисциплинами.
2. Дайте понятие о лекарствах как о чужеродных соединениях.
3. Опишите всасывание, распределение и выделение лекарств из организма.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: «Использование современных биохимических методов в стандартизации лекарственных средств».

Проверь себя:

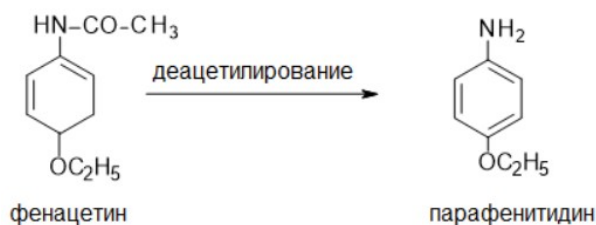
ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Как изменяется фармакологическая активность имипрамина (имизина) в данной реакции метаболизма ксенобиотиков?



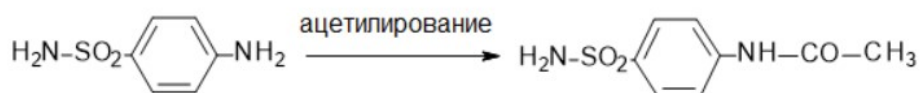
- А – усиление активности данного вещества.
 Б – изменение характера фармакологической активности.
 В – инактивация вещества
 Г – появление токсичности
 Д – остается без изменений

2. Как изменяется фармакологическая активность ксенобиотика фенацетина в результате метаболизма в данной реакции?



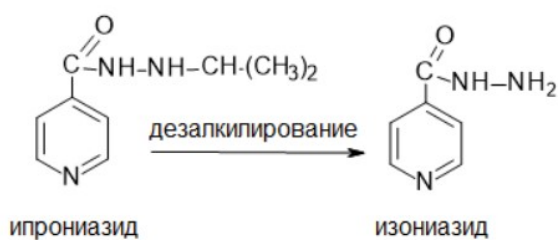
- А – усиление активности
 Б – инактивация вещества
 В – усиление токсичности
 Г – изменение характера активности
 Д – активность не изменяется

3. Как изменяется биологическая активность сульфаниламида в результате данной реакции?

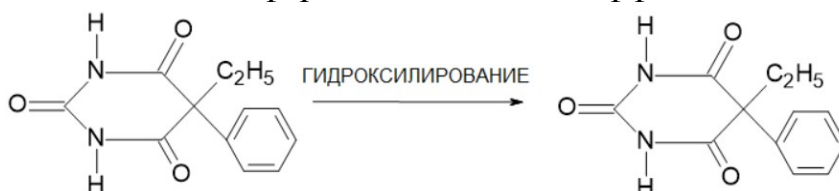


- А – инактивация вещества
 Б – усиление активности
 В – изменение характера активности
 Г – усиление токсичности
 Д – активность не изменяется

4. Как изменяется фармакологическая активность данного ксенобиотика в результате метаболизма?



- А – изменение характера фармакологической активности вещества
Б – инактивация
В – усиление активности вещества
Г – появление токсичности
Д – не меняется активность
5. Как изменяется фармакологический эффект люминала в данной реакции?



- А – усилилось снотворное действие
Б – произошла дезактивация
В – увеличилась токсичность
Г – проявилось бактерицидное действие
Д – не изменился эффект

Занятие 14. Тема: Метаболизм лекарственных соединений.

Цель: научиться методам определения метаболитов лекарственных веществ в моче.

Задача:

- определить в моче содержание свободной и ацетилированной формы сульфаниламида.

Вопросы для обсуждения

1. Общая характеристика метаболизма лекарств, фазы метаболизма.
2. Микросомальные и немикросомальные ферменты в метаболизме лекарств.
3. Схема функционирования микросомальной монооксигеназной системы по Эстабруку, Гильденбранту и Барону.
4. Микросомальные реакции окисления, восстановления и гидролиза лекарств.
5. Процессы конъюгации лекарств, виды конъюгации.
6. Факторы влияющие на метаболизм лекарств.

Самостоятельная работа

Работа 1. Определение в моче свободной и ацетилированной формы сульфаниламидов.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результаты работы по завершении демонстрирует преподавателю, оформляет протокол в рабочей тетради.

Методы выполнения

Определение ацетилирующей способности организма по выделению с мочой свободной и ацетилированной форм сульфаниламида

Принцип метода: основан на способности диазотированного сульфаниламида при взаимодействии с резорцином образовывать комплекс желтого цвета, интенсивность которого пропорциональна концентрации сульфаниламида.

Таблица 1

Последовательность добавления реагентов / проведения операций	№ пробы		
	№1 свободная форма сульфаниламида	№2 общая форма сульфаниламида	№3 контроль
Разведенная моча	1 мл	1 мл	-
Дистиллированная вода	1,5 мл	1,5 мл	2,5 мл
10% раствор HCl	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл
Кипящая водяная баня	-	15 мин охлаждать закрыть пробками пробирки	-
0,5% раствор нитрита натрия	2 кап.	2 кап.	2 кап.
	Перемешать, 10 мин отстоять		
Насыщенный раствор ацетата натрия	1,5 мл	1,5 мл	1,5 мл
	Перемешать		
0,5% раствор резорцина	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл
	Перемешать (закрыть пробкой)		
Через 15 мин ФЭК, $\lambda=490$ нм, против контроля, кювета 0,5 см	$E_1=?$	$E_2=?$	-
Расчет	% ацетилированного сульфаниламида $X = \frac{(E_2 - E_1) * 100}{E_2} = ?\%$		

Вывод: в моче содержится _____% ацетилированного сульфаниламида.

Итоговый контроль

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протокола. Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Каков принцип метода определения ацетилирующей способности организма по выделению с мочой свободной и ацетилированной форм сульфаниламидов?
2. Опишите ход определения свободной формы сульфаниламида.
3. Опишите ход определения общего сульфаниламида.
4. Опишите расчет определения процента ацетилированного сульфаниламида.
5. Какие ферменты катализируют биотрансформацию

сульфаниламидов в организме?

6. На что указывает степень ацелирования сульфаниламидов?

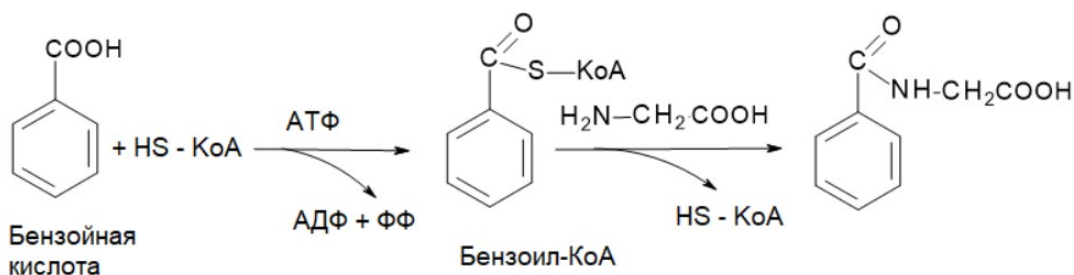
Задание для самостоятельной работы студентов

1. Приведите примеры реакций метаболизма лекарств, приводящие к изменению их активности (в виде уравнений).
2. Приведите иллюстрации реакций окисления, восстановления и гидролиза лекарств, катализируемых микросомальными ферментами.
3. Приведите примеры реакций глюкуронидной, сульфатной, метильной, пептидной, ацетильной и глутатионовой конъюгации.
4. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Современные концепции функционирования микросомальных ферментных систем печени.

Проверь себя:

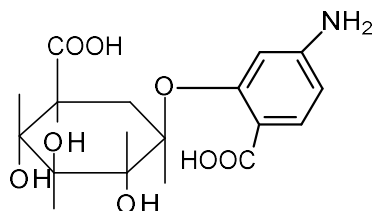
ЗАДАНИЕ: Каждый из приведенных вопросов сопровождается пятью предполагаемыми ответами. Выберите в каждом случае один или более правильных ответов.

1. Как называется конечный продукт данной реакции, какая это конъюгация?



- А – гиппуровая кислота, пептидная конъюгация
- Б – меркаптуровая кислота, глутатионовая конъюгация
- В – салициловая кислота, метильная конъюгация
- Г – гиппуровая кислота, ацетильная конъюгация
- Д – ацетаминофен, пептидная конъюгация

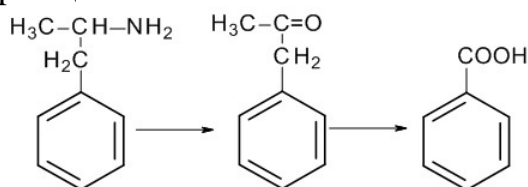
2. Какому виду конъюгации подвергается ПАСК, если образовался следующий конъюгат:



- А – сульфатная конъюгация

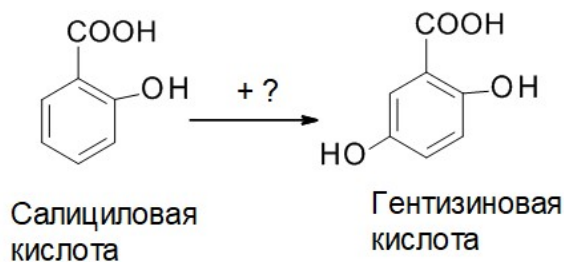
- Б – глюкуронидная конъюгация
- В – ацетильная конъюгация
- Г – метильная конъюгация
- Д – пептидная конъюгация

3. Назовите типы реакций с данным ксенобиотиком в процессе биотрансформации:



- А – дезалкилирование
- Б – деацетилирование
- В – окислительное дезаминирование
- Г – деметилирование
- Д – окисление

4. Какой тип реакции происходит с данным ксенобиотиком?



- А – гидроксирование ароматических веществ
- Б – гидроксирование алифатических веществ
- В – сульфоокисление
- Г – восстановление ароматических веществ
- Д – гидролиз

5. Назовите ксенобиотики, подвергающиеся сульфатной конъюгации

- А – карбоциклические структуры, содержащие свободную NH₂-группу
- Б – гетероциклические структуры, содержащие свободную NH₂-группу
- В – карбоциклические структуры, содержащие свободную OH-группу
- Г – гетероциклические структуры, содержащие свободную OH-группу
- Д – карбоциклические структуры, содержащие свободную SH-группу

Занятие 15. Итоговое занятие и итоговое тестирование по темам: Обмен липидов. Обмен аминокислот и белков. Биосинтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков. Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны. Фармацевтическая биохимия.

Цель: закрепление знаний, усвоение практических умений и навыков по теме: Фармацевтическая биохимия. Метаболизм лекарств.

Задачи:

- определить ацетилирующую способность организма по выделению с мочой метаболитов сульфаниламидов;
- провести расчет процента ацетилированного сульфаниламида.

Вопросы для обсуждения

1. В чем заключается связь фармации и биохимии, как используются биохимические методики в фармации?
2. Охарактеризуйте биогенные препараты и препараты-ксенобиотики.
3. Какие выделяют этапы в судьбе лекарственных веществ, поступивших в организм?
4. Охарактеризуйте механизмы транспорта лекарственных веществ, через биологические мембраны.
5. Охарактеризуйте всасывание лекарств из желудочно-кишечного тракта, укажите факторы, влияющие на всасывание лекарственных веществ.
6. Опишите виды биологических мембран, их строение, виды транспорта через биологические мембраны. Каким путем осуществляется транспорт лекарств-ксенобиотиков?
7. Как происходит распределение лекарственных веществ в жидкостях и тканях организма? Свободная и связанная формы лекарств, депонирование лекарств.
8. Охарактеризуйте взаимодействие лекарств с рецепторами.
9. Как происходит выведение лекарств из организма? Укажите основные пути выведения и его механизм.
10. Дайте общую характеристику метаболизма лекарств, опишите две фазы метаболизма лекарств.
11. Как меняется активность лекарств при метаболизме? Приведите примеры.
12. Охарактеризуйте ферментные механизмы метаболизации лекарственных веществ.
13. Охарактеризуйте эндоплазматический ретикулум и его ферменты.
14. Охарактеризуйте микросомальные ферменты и их роль в метаболизме лекарственных веществ.
15. Как происходит метаболизация лекарств немикросомальными

- ферментами?
16. Охарактеризуйте микросомальное окисление лекарств, приведите примеры-схему функционирования микросомальной монооксигеназной системы с участием цитохрома P₄₅₀.
 17. Укажите различия между митохондриальной окислительной системой и микросомальной монооксигеназной системой.
 18. Охарактеризуйте цитохром P₄₅₀ и его роль в гидроксировании лекарственных веществ.
 19. Приведите примеры (с написанием уравнений) гидроксирования ароматических веществ, алифатических веществ, окислительного дезаминирования, S-дезалкилирования, O-дезалкилирования, N-дезалкилирования, сульфокисления, N-окисления.
 20. Охарактеризуйте микросомальные окислительные ферменты. Превращение каких лекарственных веществ они катализируют?
 21. Напишите уравнение восстановления протозила в сульфаниламид.
 22. Охарактеризуйте микросомальные гидролитические ферменты. Превращение каких лекарственных веществ они катализируют?
 23. Напишите уравнение гидролиза ипрониазида.
 24. Охарактеризуйте метаболизм лекарственных веществ немикросомальными ферментами. Перечислите эти ферменты и приведите примеры. Какие лекарственные вещества метаболизируются немикросомальными ферментами?
 25. Охарактеризуйте процессы конъюгации лекарственных веществ. Какие ферменты участвуют в этих процессах?
 26. Охарактеризуйте глюкуронидную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.
 27. Охарактеризуйте сульфатную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.
 28. Охарактеризуйте метильную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.
 29. Охарактеризуйте ацетильную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.
 30. Охарактеризуйте пептидную конъюгацию. Приведите пример, уравнение.
 31. Охарактеризуйте глутатионовую конъюгацию. Приведите пример, уравнение.
 32. Напишите схему одновременного метаболизирования фенаcetина по различным путям.
 33. Охарактеризуйте генетические факторы, влияющие на метаболизм лекарств.
 34. Охарактеризуйте физиологические факторы, влияющие на метаболизм лекарств.
 35. Охарактеризуйте факторы, внешней среды, влияющие на метаболизм лекарств.

Самостоятельная работа

Идентификация содержимого полученной контрольной пробы.

В полученной контрольной пробе провести количественное определение свободной и связанной формы сульфаниламида.

Каждый студент выполняет работу индивидуально. Результат работы по завершении продемонстрировать преподавателю и оформить протокол в рабочей тетради.

Итоговый контроль

Работа студента на занятии оценивается по результатам тестового контроля, устного ответа на занятии, правильности выполнения индивидуальных практических задач и сделанных выводов.

Задание для самостоятельной работы студентов

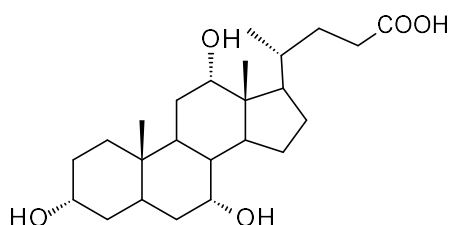
1. Опишите этапы превращения ксенобиотиков в организме.
2. Охарактеризуйте роль микросомальных ферментов печени в метаболизме лекарств.
3. Приведите уравнения реакций конъюгаций лекарственных веществ.
4. Укажите факторы, влияющие на метаболизм лекарств.
5. Подготовьте доклад с презентацией по теме: Исследования по изучению влияния различных факторов на метаболизм ксенобиотиков.

Проверь себя:

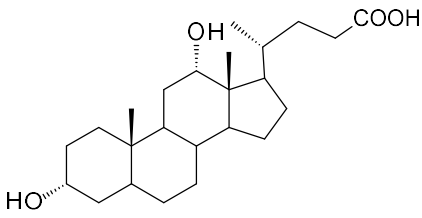
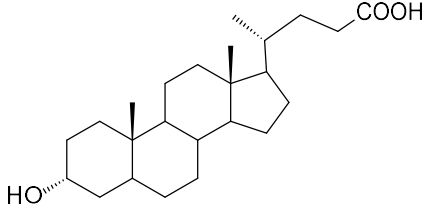
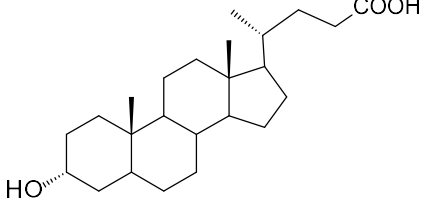
ЗАДАНИЕ: Ниже приведены две колонки слов и фраз или уравнений и названий фермента. Найдите правильное соответствие и цифровых положений.

1. Укажите формулы и название следующих желчных кислот:

1.



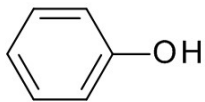
А. Холевая

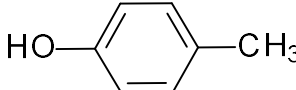
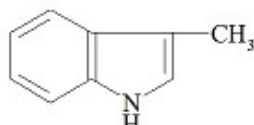
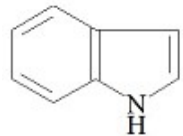
<p>2.</p> 	<p>Б. Литохолевая</p>
<p>3.</p> 	<p>В. Дезоксихолевая</p>
<p>4.</p> 	<p>Г. Хенодезоксихолевая</p>

2. Укажите, какую роль в пищеварении липидов выполняют следующие вещества:

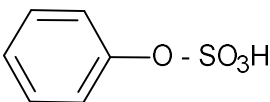
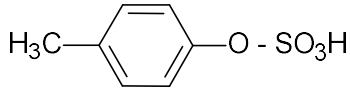
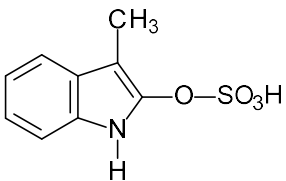
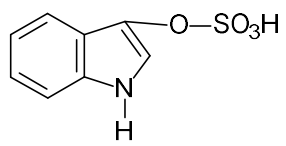
1. Желудочная липаза	А. Первичное эмульгирование жиров в кишечнике
2. Кишечная липаза	Б. Гидролиз триглицеридов в кишечнике после эмульгирования желчными кислотами
3. Желчные кислоты	В. Эмульгирование нейтральных жиров в кишечнике
4. Углекислый газ, выделяющийся при нейтрализации соляной кислоты бикарбонатами поджелудочного сока	Г. Гидролиз природноэмульгированных жиров молока

3. Укажите формулы конечных продуктов гниения белков в кишечнике:

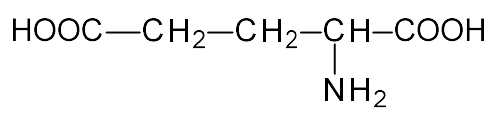
1. Индол	<p>А</p> 
2. п-крезол	<p>Б</p>

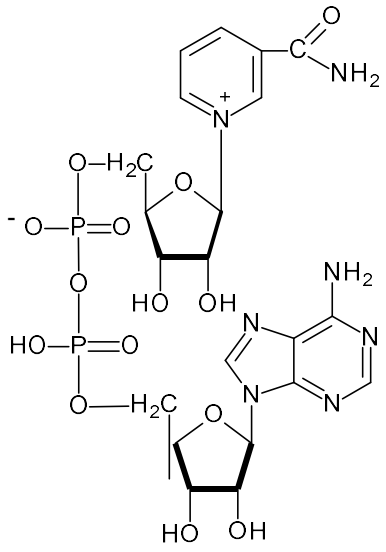
	
3. Скато́л	В 
4. Фено́л	Г 

4. Укажите формулы продуктов, образующиеся в результате обезвреживания фенола, крезола скатола, индола:

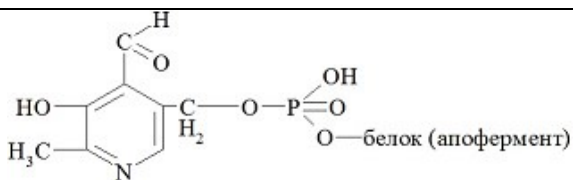
1. Скато́л	
	А.
2. п-крезо́л	
	Б.
3. Фено́л	
	В.
4. Индо́л	
	Г.

5. Укажите формулы веществ участвующих в окислительном дезаминировании глутаминовой кислоты:

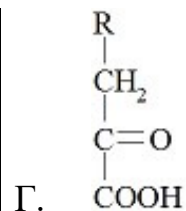
1. Глутамино́вая кислота	
	А.
2. НАД	Б.

	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$
3. Альфа-кетоглутаровая кислота	В. $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$
4. Имминоглутаровая кислота	Г. 

6. Укажите формулы веществ, принимающих участие в переаминировании аминокислот с участием пиридоксальминофермента:

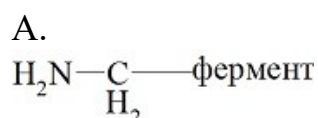
1. α -аминокислота	А. $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{HC}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
2. Пиридоксальфермент	Б. 
3. α -кетокислота	В. $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{HC}-\text{N}=\underset{\text{H}}{\text{C}}-\text{фермент} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$

4. Фермент-субстратный комплекс

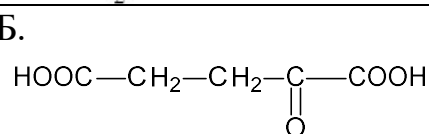


7. Укажите формулы следующих соединений, принимающих участие в переаминировании аминокислот:

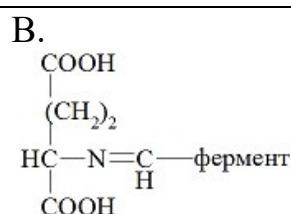
1. Пиридоксальаминофермент
Шиффовы основания



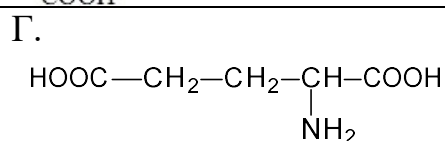
2. α -кетоглутаровая кислота



3. Пиридоксальаминофермент

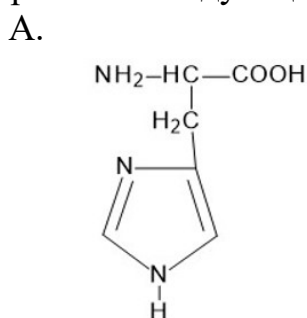


4. Глутаминовая кислота

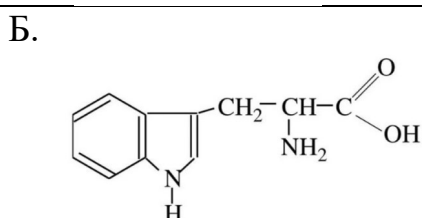


8. Укажите реакции декарбоксилирования следующих аминокислот:

1. Гистидин



2. Тирозин



3. Триптофан

В.

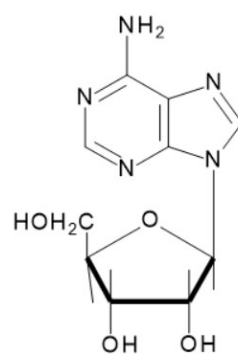
	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$
4. 5-гидрокситриптофан	<p>Г.</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_5\text{H}_3\text{N} \\ \\ \text{HO} \end{array}$

9. Укажите формулы продуктов реакций орнитинового цикла, катализируемых следующими ферментами:

1. Карбамилфосфатсинтетаза	<p>А</p> $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{O}-\text{P}(\text{OH})_2 + 2 \text{ АДФ} + \text{Ф}$
2. Орнитинкарбамилтрансфераза	<p>Б</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{HC}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{HN} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array} + \text{H}_3\text{PO}_4$
3. Аргининосукциназа	<p>В</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{HC}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{HN} \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
4. Аргиназа	<p>Г</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{HC}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array} + \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$

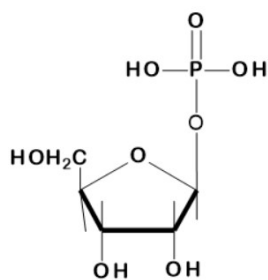
10. Укажите формулы следующих продуктов распада мононуклеотидов в тканях:

1. Рибозо-1-фосфат



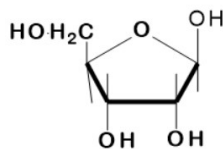
А

2. Рибоза



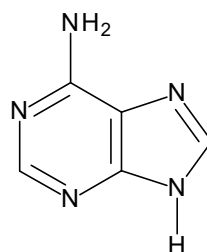
Б

3. Аденозин



В

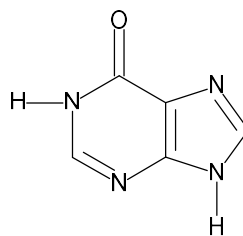
4. Аденин



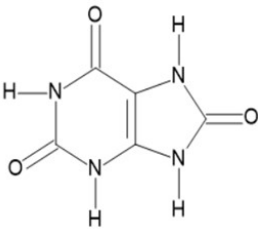
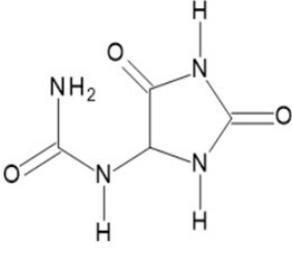
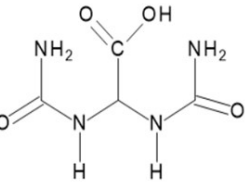
Г

11. Укажите формулы продуктов распада пуриновых оснований:

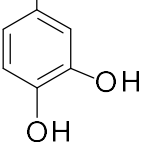
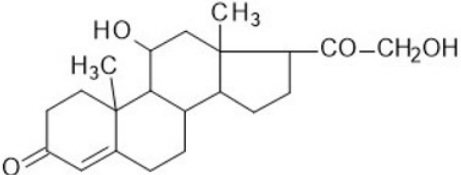
1. Аллантииновая кислота



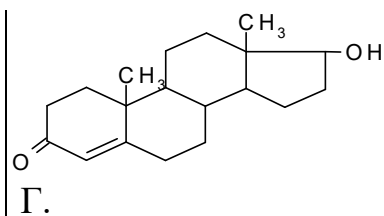
А

2. Мочевая кислота	
3. Аллантиин	
4. Гипоксантин	

12. Найдите соответствие названия и формулы гормона:

1. Адреналин	$\begin{array}{c} \text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ 
2. Кортизон	<p>A.</p> 
3. Тироксин	<p>Б.</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_3(\text{J})_2 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_3(\text{J})_2 \\ \\ \text{OH} \end{array}$ <p>В.</p>

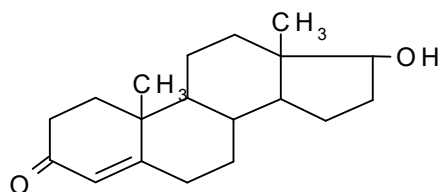
4.Тестостерон



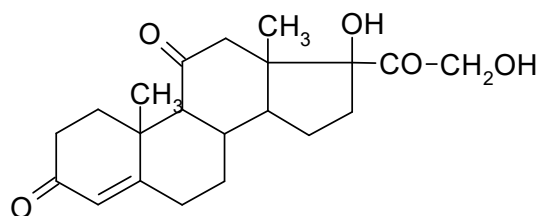
13.Найдите соответствие названия и формулы гормона:

1.Тестостерон

А.

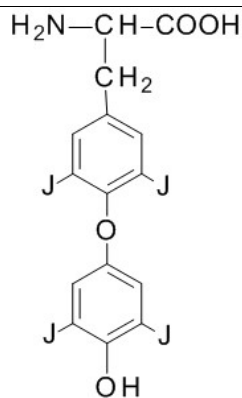


2.Кортизон



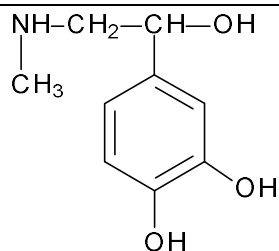
Б.

3. Тироксин



В.

4. Адреналин



Г.

14. Назовите продукты конъюгации следующих лекарственных веществ:

1. Стрептоцид

А.Фенилмеркаптуровая кислота

2.Бензойная кислота

Б. Гипсуровая кислота

3. Бензол	В. Ацетилированный сульфаниламид
4. Фенацетин	Г. Эфирсульфат пара-ацетаминофенола

15. Укажите, к каким группам по типу ингибирования микросомальных ферментов относятся следующие соединения:

1. Антибиотики, ингибирующие биосинтез белка	А. Обратимые ингибиторы прямого действия
2. Ароматические амины	Б. Обратимые ингибиторы непрямого действия, воздействующие через продукты своего метаболизма
3. Четыреххлористый углерод	В. Необратимые ингибиторы, разрушающие цитохром P450
4. Спирты	Г. Ингибиторы, тормозящие синтез и \ или ускоряющие распад цитохрома P450

Рекомендуемая литература

Основная:

1. Северин Е.С. Биохимия: учебник М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru
2. Василенко Ю.К. Биологическая химия: учеб. пособие. М.: МЕДпресс, 2011, 432 с.
3. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учеб. Под ред. Е.С. Северина М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013, 624с.
4. Василенко Ю.К. Биологическая химия: учеб. пособие- М.: МЕДпресс, 2014, CD- диск [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.pmedpharm.ru
5. Зезеров Е.Г. Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая): Курс лекций. М.:МИА, 2014, 456 с.

Дополнительная:

1. Биохимия учебник / под ред. Е. С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015,768 с.
2. Северин Е.С. Биохимия: учебник/ под ред. Е. С. Северина. - 3-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007, 704 с.
3. Биохимия: краткий курс с упражнениями и задачами: учеб. пособие. Под ред. Северина Е.С., Николаевой А.Я. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005, 784 с.
4. Василенко Ю.К. Краткий курс биологической химии для студентов заочного отделения фармвузов :учеб. пособие.- Пятигорск: ПГФА, 2010, 176 с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб.- М.: Дрофа, 2004, 640 с.
6. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: учеб. - 3-е изд., испр. и доп.- М.: Медицина, 2004, 704 с.
7. Уилсон К., Уолкер Дж. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии.- Бином, 2015, 848 с.
8. Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович О.Л. Патологическая биохимия.- Бином, 2015, 448 с.
9. Коваленко Л.В. Биохимические основы химии биологически активных веществ.- Бином, 2013, 229 с.
10. Рослый И.М. Биохимические показатели в медицине и биологии.- М.: МИА, 2015, 612 с.
11. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. Бином. Лаборатория знаний, 2015, 408 с.

Методические разработки:

1. Василенко Ю.К., Скульте И.В, Парфентьева Е.П. Тестовые задания с ответами и комментариями по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета). - Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019 .

- [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru
2. Методические рекомендации студентов к лабораторным занятиям по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр / Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В., Парфентьева Е.П./ - Пятигорск: Пятигорск филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019. [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru
 3. Сборник заданий по биологической химии для самостоятельной (внеаудиторной) работы студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр // Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В. и др. - Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019. [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru
 4. Методические рекомендации для самоконтроля знаний студентов по биологической химии специальность 33.05.01 «Фармация» (уровень специалитета) III курс VI семестр // Лужнова С.А., Василенко Ю.К., Скульте И.В. и др. - Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2019. [Электронный ресурс] – Режим доступа: www.pmedpharm.ru
 5. Основные понятия и термины биохимии в фармации : учебное пособие / Василенко Ю.К., Доркина Е.Г., Скульте И.В. и др. Пятигорск: ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2020. - [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.pmedpharm.ru

Электронные образовательные ресурсы:

1. Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 768 с. ил. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru
2. Биохимия. Практикум.: учебное пособие. Чернов Н.Н., Смирнова И.П., Березов Т.Т./ Под ред. Н.Н. Чернова. - Феникс, 2017.: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru
3. Биологическая химия с упражнениями и задачами. учеб. / Под ред. Е.С. Северина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. -624 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.studmedlib.ru

Учебное издание

Скульте Ирина Валерьевна
Лужнова Светлана Алексеевна
Василенко Юрий Киприанович
Жилина Оксана Михайловна
Парфентьева Елена Пантелеевна

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ
к лабораторным занятиям по биологической химии
для студентов 3 курса VI семестр
33.05.01 Фармация (уровень специалитета)

Подписано в печать «__» _____ 2021г.

Формат _____. Бумага кн. - журнальная.

Печать ротاپринтная. Усл. печ. _____.

Уч.- изд.л. _____.

Тираж _____ заказ _____

ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ- филиал
ФГБОУ ВО ВолгГМУ

357532, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11.