

СОДЕРЖАНИЕ

Коллектив авторов	9
Предисловие	10
Список сокращений и условных обозначений	12
Введение	14
Тема 1. Обмен веществ и энергии, гормональная регуляция метаболизма в организме человека	24
1.1. Изучение метаболизма как основного признака жизнедеятельности организма, особенностей процессов анаболизма и катаболизма, питания как главного источника пластического материала и энергии для обеспечения жизнедеятельности организма	24
1.2. Общая характеристика гормонов, физиологическая роль в организме, влияние на обмен веществ, классификация гормонов	28
1.3. Общая характеристика витаминов, связи витаминов с ферментами, потребности в витаминах, классификации	32
1.4. Практические занятия	46
1.4.1. Приготовление дезинфицирующего раствора заданной концентрации и объема согласно технологической карте раствора	46
1.4.2. Прием, регистрация, маркировка, бракераж биоматериала	47
1.4.3. Оборудование рабочего места для определения биохимических анализов в сыворотке крови согласно требованиям санитарно-противоэпидемического режима ..	48
1.4.4. Алгоритм получения сыворотки крови	49
1.4.5. Методы определения уровня гормонов. Клиническое значение определения уровня гормонов и их метаболитов в биологических жидкостях	54
1.4.6. Определение содержания витаминов, клиничко- диагностическое значение	58
1.4.7. Утилизация отработанного материала, дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры	60
Контрольные вопросы и задания	61

4 Содержание

Тема 2. Исследование биохимических изменений при нарушении обмена углеводов	62
2.1. Общая характеристика углеводов, их биологическое значение, классификация, структура, свойства основных классов углеводов	62
2.2. Переваривание и всасывание углеводов в желудочно-кишечном тракте	69
2.3. Промежуточный обмен углеводов: основные этапы анаэробного и аэробного путей расщепления углеводов, пентозного пути окисления глюкозы	71
2.4. Регуляция углеводного обмена: роль центральной нервной системы, эндокринной системы, печени	76
2.5. Основные биохимические симптомы нарушений углеводного обмена	77
2.6. Практические занятия	80
2.6.1. Приготовление дезинфицирующего раствора заданной концентрации и объема согласно технологической карте раствора	80
2.6.2. Прием, регистрация, маркировка, бракераж биоматериала	80
2.6.3. Оборудование рабочего места для определения уровня биохимических анализов в сыворотке крови согласно требованиям санитарно-противоэпидемического режима	80
2.6.4. Унифицированные методы определения уровня глюкозы	81
2.6.5. Особенности аналитического этапа, расчета содержания глюкозы в пробе, нормальные показатели, клинико-диагностическое значение определения концентрации глюкозы	83
2.6.6. Утилизация отработанного материала, дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры	87
Контрольные вопросы и задания	87
Тема 3. Особенности контроля качества лабораторных биохимических исследований	88
3.1. Система мер по управлению качеством клинических количественных лабораторных исследований	88
3.2. Назначение контрольных материалов для проведения контроля качества биохимических исследований	89
3.3. Возможные ошибки на различных этапах биохимических исследований	90

3.4. Аспекты организации внутрилабораторного контроля качества; термины, понятия, статистические показатели	93
3.5. Методы внутрилабораторного контроля качества с использованием контрольного материала и проб пациентов	94
3.6. Последовательность проведения внутрилабораторного контроля качества методом контрольных карт	96
3.7. Практические занятия	98
3.7.1. Применение контрольных правил Вестгарда при оценке качества исследований	98
3.7.2. Внутрилабораторный контроль качества лабораторных исследований с использованием контрольных материалов. Построение контрольной карты	99
3.7.3. Методы контроля качества, не требующие контрольных материалов	100
3.7.4. Оценка достоверности разницы в результатах повторных измерений лабораторного анализа	102
3.7.5. Принципы оценки качества измерительных приборов	103
Контрольные вопросы и задания	104
Тема 4. Исследование показателей обмена белков	105
4.1. Общая характеристика белков, их биологическое значение, элементарный состав	105
4.2. Аминокислоты как структурные компоненты белков: классификация и свойства	106
4.3. Структурная организация белковой молекулы, типы связей, стабилизирующие структуры; классификация белков, физико-химические свойства	109
4.4. Основные этапы обмена белков в организме: переваривание и всасывание белков в желудочно-кишечном тракте, гниение белков в кишечнике, пути обезвреживания продуктов распада белков	118
4.5. Общие пути превращения аминокислот; биологическое значение процессов дезаминирования, переаминирования и декарбоксилирования. Особенности обмена отдельных аминокислот	122
4.6. Практические занятия	128
4.6.1. Приготовление дезинфицирующего раствора заданной концентрации и объема согласно технологической карте раствора	128
4.6.2. Прием, регистрация, маркировка, бракераж биоматериала	128

4.6.3. Оборудование рабочего места для определения уровня биохимических анализов в сыворотке крови согласно требованиям санитарно-противоэпидемического режима	129
4.6.4. Возможные причины возникновения гемолиза, липолиза в пробе крови	129
4.6.5. Определение уровня общего белка сыворотки крови, альбумина, клинико-диагностическое значение	129
4.6.6. Проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры	132
Контрольные вопросы и задания	132
Тема 5. Проведение лабораторных биохимических исследований по определению показателей липидного обмена	133
5.1. Общая характеристика липидов, их биологическое значение, классификация липидов, структура, свойства основных классов липидов	133
5.2. Изучение переваривания и всасывания липидов в желудочно-кишечном тракте	138
5.3. Промежуточный обмен основных представителей класса липидов: триглицеридов, фосфолипидов, холестерина, липопротеинов	142
5.4. Практические занятия	153
5.4.1. Прием, регистрация, маркировка, бракераж биоматериала	153
5.4.2. Оборудование рабочего места для определения уровня биохимических анализов в сыворотке крови согласно требованиям санитарно-противоэпидемического режима	153
5.4.3. Унифицированные методы определения показателей липидного обмена: принципы методов, особенности аналитического этапа, расчета содержания аналита по концентрации стандартного раствора, нормальные показатели, клинико-диагностическое значение	153
5.4.4. Определение уровня триглицеридов, общего холестерина, расчет содержания аналита по концентрации стандартного раствора, нормальные показатели, клинико-диагностическое значение	155
5.4.5. Утилизация отработанного материала, дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры	159
Контрольные вопросы и задания	160

Тема 6. Проведение лабораторных биохимических исследований по определению показателей водно-минерального обмена, кислотно-основного состояния	161
6.1. Регуляция водного баланса, потребность в воде и пути выведения воды из организма	161
6.2. Водные пространства организма и их состав	162
6.3. Понятия «осмотическое давление», «осмолярность плазмы». Значение определения осмолярности	162
6.4. Изучение регуляции водно-минерального обмена: роль почек, эндокринная регуляция, роль нервной системы	163
6.5. Роль макро- и микроэлементов в процессах жизнедеятельности организма: суточная потребность, биологическое значение, обмен элемента и его регуляция, патология обмена	164
6.6. Практические занятия	175
6.6.1. Прием, регистрация, маркировка, бракераж биоматериала	175
6.6.2. Оборудование рабочего места для определения уровня биохимических анализов в сыворотке крови согласно требованиям санитарно-противоэпидемического режима	175
6.6.3. Унифицированные методы определения показателей водно-минерального обмена: особенности аналитического этапа, расчета содержания анализа по концентрации стандартного раствора, нормальные показатели, клинико-диагностическое значение определения	176
6.6.4. Утилизация отработанного материала, дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры	177
6.6.5. Определение содержания показателей водно-минерального обмена в биологических жидкостях	177
6.6.6. Использование нормативных документов при определении показателей водно-минерального обмена	187
Контрольные вопросы и задания	187
Тема 7. Биохимические лабораторные исследования по определению активности ферментов, коагулологические исследования	189
7.1. Биологическое значение, химическая природа ферментов, строение простых и сложных ферментов	189

7.2. Механизм действия ферментов, особенности ферментативного катализа	198
7.3. Особенности строения и клинического значения изоформ ферментов	206
7.4. Основные понятия свертывающей системы крови	208
7.5. Характеристика плазменных факторов	214
7.6. Практические занятия	216
7.6.1. Прием, регистрация, маркировка, бракераж биоматериала	216
7.6.2. Особенности подготовки пациента к определению активности ферментов	216
7.6.3. Подготовка лабораторного оборудования и посуды для определения активности ферментов	217
7.6.4. Подготовка рабочего места для проведения лабораторных биохимических исследований	217
7.6.5. Критерии забора крови, доставки, подготовки, хранения биологического материала	217
7.6.6. Определение активности ферментов	217
7.6.7. Особенности забора крови, подготовки, хранения биологического материала, получение плазмы, богатой и бедной тромбоцитами	235
7.6.8. Лабораторные тесты для оценки свертывающей системы крови	235
7.6.9. Разъяснение результатов коагулограммы, работа с бланком исследования	248
Контрольные вопросы и задания	249
Список рекомендуемой литературы	250
Предметный указатель	251

ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ, ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

1.1. Изучение метаболизма как основного признака жизнедеятельности организма, особенностей процессов анаболизма и катаболизма, питания как главного источника пластического материала и энергии для обеспечения жизнедеятельности организма

Метаболизм (или обмен веществ) — совокупность ферментативных реакций, происходящих в клетке. Это сложный процесс, в котором участвует целый ряд мультиферментных систем, обеспечивающих обмен веществ и энергии между клеткой и окружающей ее средой.

Метаболизм включает два процесса — катаболизм и анаболизм.

Катаболизм — ферментативное расщепление сравнительно крупных молекул (углеводов, жиров и белков) преимущественно за счет реакций окисления. У животных и человека выделяют три основных этапа катаболизма:

- вне клетки — расщепление крупных органических молекул (углеводов, липидов и белков) до более мелких компонентов;
- внутри клетки — превращение небольших молекул (например, глюкозы) в более мелкие молекулы, такие как ацетилкофермент А (ацетил-КоА);
- внутри клетки — окисление образовавшихся на предыдущем этапе молекул до конечных продуктов — воды и углекислого газа с высвобождением энергии, которая запасается в форме аденозинтрифосфата (АТФ).

Катаболизм еще называют «энергетический обмен», так как это совокупность реакций расщепления органических веществ, которые сопровождаются выделением энергии. Высвобождаемая энергия не сразу используется клеткой, а запасается в форме АТФ и других высокоэнергетических соединений.

Основной субстрат энергетического обмена — углеводы, сначала в процесс вовлекаются моносахариды (в первую очередь глюкоза), а затем полисахариды с предварительным гидролизом до моносахаридов. Липиды составляют энергетический резерв, организм их использует, когда запас углеводов заканчивается. Белки также могут быть вовлечены в производство энергии, но только после того, как будут израсходованы запасы углеводов и липидов.

У аэробных организмов выделяют три этапа катаболизма: подготовительный, бескислородное окисление и кислородное окисление, в то время как у анаэробных и аэробных организмов при недостатке кислорода — только два этапа: подготовительный и бескислородное окисление.

Ферментативное расщепление основных питательных веществ, а именно углеводов, жиров и белков, происходит в клетке в результате ряда последовательных ферментативных реакций.

Катаболизм основных питательных веществ включает три главных этапа.

На **первом этапе** крупные пищевые молекулы расщепляются на составляющие их основные строительные блоки. Полисахариды, например, распадаются до гексоз или пентоз, липиды — до жирных кислот, глицерина и других компонентов, белки — до аминокислот (до 20 видов).

На **втором этапе** большое число продуктов, образовавшихся на первой стадии, превращается в более простые молекулы, число типов которых сравнительно невелико. Так, гексозы, пентозы и глицерин, разрушаясь, превращаются сначала в трехуглеродный фосфорилированный сахар — глицеральдегид-3-фосфат, а затем до единственной двухуглеродной формы — ацетильной группы, входящей в состав ацетил-КоА. Двадцать различных аминокислот также дают при расщеплении лишь несколько конечных продуктов, а именно ацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукцинат, фумарат и оксалоацетат. Энергетический обмен на втором этапе происходит в анаэробных условиях, при этом высвобождается около 20% энергии, заключенной в исходных субстратах.

На **третьем этапе** вещества вступают в аэробную стадию, в ходе которой они в итоге окисляются до CO_2 и воды. По своей природе третий этап представляет собой биологическое окисление, в ходе которого

высвобождается примерно 80% всей энергии химических связей исходных веществ.

Анаболизм — ферментативный синтез сравнительно крупных клеточных компонентов (например, полисахаридов, нуклеиновых кислот, белков или жиров) из простых предшественников. Поскольку процессы синтеза ведут к увеличению размеров молекул и усложнению их структуры, они связаны с потреблением свободной энергии, которая поставляется в форме энергии фосфатных связей АТФ. Катаболизм и анаболизм протекают в клетках одновременно.

Процесс анаболизма включает три стадии.

Исходными веществами, или строительными блоками, для анаболизма служат соединения, вырабатываемые на третьей стадии катаболизма. Таким образом, третья стадия катаболизма представляет собой **первую**, исходную, **стадию** анаболизма. Синтез белка, например, начинается на этой стадии с α -кетокислот — предшественников α -аминокислот.

На **второй стадии** происходит аминирование α -кетокислот аминокислотной группой доноров с образованием α -аминокислот.

На **третьей**, заключительной, **стадии** аминокислоты объединяются в пептидные цепи.

Почти все метаболические реакции связаны между собой, так как продукт одной ферментативной реакции служит субстратом другой реакции, которая составляет следующий этап данного процесса. Существование такой преемственности обусловлено специфическими особенностями ферментов.

В ферментативных реакциях определенные функциональные группы отщепляются от молекул метаболитов и переносятся на акцепторные молекулы. Большинство реакций метаболизма связано со ступенчатым переносом аминных, ацетильных, фосфатных, металльных, формильных или карбоксильных групп или же атомов водорода.

И катаболизм, и анаболизм состоит из двух одновременно протекающих и взаимосвязанных процессов, каждый из которых можно рассматривать отдельно.

Первый процесс — последовательность ферментативных реакций, в результате которых разрушается или формируется ковалентная структура биомолекулы. Образующиеся при этом промежуточные продукты носят название метаболитов, всю же цепь превращений объединяют под названием «промежуточный метаболизм».

Второй процесс — превращение энергии, сопутствующее каждой из ферментативных реакций промежуточного метаболизма. На некоторых этапах катаболизма химическая энергия метаболитов запасается (обычно в форме энергии фосфатных связей), а на определенных этапах анаболизма — расходуется.

Промежуточный метаболизм и сопряжение энергии — взаимосвязанные и взаимозависимые понятия. Таким образом, изучая метаболизм, анализируют:

- реакции, в результате которых изменяется структура участвующих в ней органических соединений;
- энергетические изменения, сопровождающие эти превращения.

Большое число химических реакций, образующих в своей совокупности метаболизм, строго согласованы между собой, у них одна общая цель — обеспечить существование организма в соответствии с условиями окружающей среды. Процессы согласовывают различные регулирующие механизмы.

До некоторой степени клетка может регулировать происходящие в ней процессы метаболизма посредством внутриклеточных саморегулирующих механизмов. Большая часть этих внутриклеточных регулирующих механизмов протекает по известному принципу обратной связи. Так, увеличение концентрации какого-либо из полученных продуктов обмена выше определенного показателя может блокировать предыдущий этап пути обмена и тем самым привести к уменьшению концентрации этого метаболита ниже соответствующего уровня. Последовательное блокирование и разблокирование пути обмена в зависимости от концентрации одного из его метаболитов регулирует постоянство внутренней среды. Способы, которыми продукт обмена блокирует предыдущий этап, различны по механизму обратной связи.

В одних случаях увеличение концентрации продукта обмена выше определенного уровня ингибирует активность фермента, катализирующего этот этап. В других случаях концентрация играет роль супрессора, подавляя биосинтез фермента. Сверхпороговая концентрация может также прекращать действие индуктора, специфического для синтеза фермента. При механизмах обратной связи блокирование путей метаболизма может происходить под действием не только полученных продуктов обмена, но и их антиметаболитов. При значительном числе обменных реакций наряду с классическим конечным продуктом реакции образуются небольшие количества антиметаболитов, сходных по структуре и оказывающих конкурентное действие. Образование большого количества антиметаболитов приводит к ингибированию реакций.

Вторая группа внутриклеточных саморегулирующих механизмов представляют биосинтез ферментов. В некоторых отношениях они связаны с механизмами обратной связи.

Важный фактор саморегуляции клеточных процессов обмена — концентрация субстратов и коферментов. Изменения концентрации субстрата или активности кофермента могут изменить мощность пути обмена и его направление.

Некоторые внутриклеточные саморегулируемые механизмы основаны на конкуренции между биохимическими процессами определенного кофермента или метаболита.

Наряду с внутриклеточными саморегулируемыми механизмами, организмы человека и животных располагают и значительно более усовершенствованными и сложными нервно-гормональными регулируемым механизмами, которые, с одной стороны, участвуют в контроле процессов обмена в клетке, а с другой — регулируют согласованность процессов обмена между отдельными клетками и органами. Важнейшую роль в этой нервно-гормональной регуляции играют центральная нервная система (ЦНС) и ее высший отдел — кора головного мозга. Сигналы из коры головного мозга поступают в структуры мозга, в частности, в гипоталамус, где синтезируются важнейшие регуляторные гормоны, влияющие на работу эндокринных желез, которые продуцируют гормоны, специфически регулирующие отдельные процессы обмена веществ. Современные данные указывают на то, что в большинстве случаев гормоны контролируют процессы обмена путем влияния на ферментативные реакции.

1.2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОРМОНОВ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ В ОРГАНИЗМЕ, ВЛИЯНИЕ НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ, КЛАССИФИКАЦИЯ ГОРМОНОВ

Гормоны — биологически активные вещества, которые выделяются железами внутренней секреции непосредственно в кровь или в тканевую жидкость и с током крови разносятся по всему организму. Гормоны оказывают физиологическое действие на клетки органов и тканей (органы-мишени), нередко находящихся на значительном отдалении от места синтеза гормонов. Главные функции гормонов — регуляция обмена веществ и других процессов жизнедеятельности путем их воздействия на активность ферментов, обмен витаминов, рост тканей и всего организма, активность генов, формирование пола и размножение, приспособленность к среде обитания, поддержание постоянства внутренней среды организма.

Гормоны различают по химической структуре и физико-химическим свойствам. В организме человека функционирует более 100 гормонов и гормоноподобных биологически активных веществ. Их общее свойство заключается в том, что после выделения из клеток, в которых они образуются, гормоны достигают других органов, вызывая в их клетках специфические изменения метаболизма. После инактивации гормоны выводятся из организма. Скорость образования гормонов, их действия и разрушения определяют потребности организма.

Эндокринная система состоит из центральных и периферических органов. Центральные органы эндокринной системы — гипоталамус и гипофиз. Синтез и секрецию гормонов регулирует гипоталамус. Гипоталамус — типичная эндокринная железа, синтезирующая и выделяющая специальные гормоны. В ней образуются гормоны пептидной природы, называемые **либери́нами** (рилизинг-гормонами), или пусковыми факторами, которые в небольшом количестве через систему портального кровообращения гипофиза поступают к клеткам гипофиза.

Гипоталамус реагирует на изменение уровня гормонов в крови с последующей передачей сигнала гипофизу, который управляет работой периферических органов эндокринной системы, — половыми железами, щитовидной железой, надпочечниками.

Клетки передней доли гипофиза синтезируют различные гормоны. Попадая в кровоток, эти гормоны транспортируются к клеткам периферических желез внутренней секреции, в которых вызывают синтез и высвобождение гормонов, оказывающих прямое биологическое действие. Под контролем гипоталамуса и гипофиза находятся периферические железы внутренней секреции: щитовидная железа, половые железы (у мужчин — яички, у женщин — яичники), надпочечники. Так, например, гипоталамус, секретирова тиреотропин-рилизинг-гормон, стимулирует образование и выделение тиреотропного гормона (ТТГ) гипофизом, который, в свою очередь, активирует секрецию щитовидной железой тиреоидных гормонов.

Секреция гормонов гипоталамусом регулируется по системе обратной отрицательной связи. При высоком уровне того или иного гормона в крови, вырабатываемого железой внутренней секреции (например, щитовидной), гипоталамус посылает меньше стимулов гипофизу и тот вырабатывает меньше регулирующих периферические железы гормонов. Соответственно концентрация гормонов в крови уменьшается, а в ответ на это гипоталамус начинает посылать больше стимулов и побуждает гипофиз к усилению секреции гормонов и стимуляции периферических эндокринных желез.

Классификация гормонов

Существуют различные подходы к систематизации биологически активных соединений, оказывающих гормональные эффекты. Каждая из этих классификаций весьма условна и не всегда точна, так как одни гормоны могут участвовать в различных процессах и синтезироваться в различных органах и, наоборот, разные гормоны могут действовать одинаково.

Наиболее распространена классификация гормонов по продуцирующему органу (**табл. 1.1**).