

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений и условных обозначений	12
Предисловие	14
РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ В ПРЕДМЕТ	17
Тема 1. Введение в биохимию	19
1.1. Предмет и задачи медицинской биохимии	19
1.2. Этапы развития биохимии. Связь биохимии с другими науками	19
1.3. Роль отечественных и зарубежных ученых в развитии биохимии	21
1.4. Современные методы исследования в биохимии, их значение для медицинской практики	27
1.5. Принципы и основы тактики биохимических исследований.	29
1.6. Техника безопасности при работе в биохимических лабораториях	30
1.7. Лабораторная практика	39
Практическое занятие 1. Организация работы в биохимической лаборатории	39
Практическое занятие 2. Основные правила проведения биохимических исследований	43
Контрольные вопросы	52
РАЗДЕЛ 2. ХИМИЯ БИООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ	55
Тема 2. Химия углеводов.	57
2.1. Общая характеристика углеводов.	57
2.2. Функции углеводов и их суточная потребность	58
2.3. Классификация и свойства углеводов	58
2.4. Характеристика отдельных представителей моносахаридов, дисахаридов и полисахаридов.	60
2.5. Лабораторная практика	65
Практическое занятие 1. Обнаружение углеводов	65
Практическое занятие 2. Свойства углеводов	67
Контрольные вопросы	69
Тема 3. Химия липидов	70
3.1. Общая характеристика липидов	70
3.2. Функции липидов и их суточная потребность.	70
3.3. Жирные кислоты. Омыление липидов	71

3.4. Биологическая роль простагландинов	72
3.5. Классификация и свойства липидов	74
3.6. Лабораторная практика	76
Практическое занятие 1. Эмульгирование липидов	76
Практическое занятие 2. Свойства липидов	77
Контрольные вопросы	78
Тема 4. Химия аминокислот, пептидов и белков	79
4.1. Биохимическая индивидуальность организмов	79
4.2. Функции белков и их суточная потребность	79
4.3. Классификация аминокислот	80
4.4. Физико-химические свойства и биологические функции аминокислот	83
4.5. Биологические функции пептидов	84
4.6. Уровни структурной организации белков	84
4.7. Физико-химические свойства белков	87
4.8. Классификация белков. Отдельные представители белков	87
4.9. Лабораторная практика	90
Практическое занятие 1. Цветные реакции на белки и аминокислоты	90
Практическое занятие 2. Реакции осаждения белков	94
Практическое занятие 3. Изоэлектрическая точка казеина	95
Контрольные вопросы	97
Тема 5. Химия нуклеиновых кислот	98
5.1. Биологическое значение нуклеиновых кислот	98
5.2. Нуклеотидный состав дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот, их общность и отличия	98
5.3. Строение, функции и структура нуклеиновых кислот	99
5.4. Типы рибонуклеиновой кислоты и их биологическое значение	103
5.5. Свободные нуклеотиды и их метаболическое значение	105
5.6. Лабораторная практика	107
Практическое занятие 1. Реакции на обнаружение составных частей нуклеиновых кислот	107
Контрольные вопросы	109
Тема 6. Ферменты	110
6.1. Ферменты как биокатализаторы	110
6.2. Классификация и номенклатура ферментов	110

6.3. Химическая природа и свойства ферментов	115
6.4. Кинетика ферментативных реакций	117
6.5. Единицы активности ферментов	120
6.6. Механизм действия ферментов	121
6.7. Понятие о коферментах, кофакторах	122
6.8. Понятие об ингибиторах ферментативных реакций.	124
6.9. Понятие об изоферментах	125
6.10. Распределение ферментов внутри клетки.	126
6.11. Значение ферментов в медицине	127
6.12. Лабораторная практика	130
Практическое занятие 1. Специфичность действия ферментов	130
Практическое занятие 2. Влияние температуры на активность фермента	130
Практическое занятие 3. Влияние рН среды на активность фермента	131
Практическое занятие 4. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов.	132
Контрольные вопросы	132

РАЗДЕЛ 3. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ В ОРГАНИЗМЕ

Тема 7. Витамины	137
7.1. Общая характеристика витаминов.	137
7.2. Классификация витаминов.	138
7.3. Витамины как кофакторы ферментов.	150
Контрольные вопросы и задания.	151
Тема 8. Обмен веществ и энергии в организме, пути их регуляции	153
8.1. Общая характеристика обмена веществ	153
8.2. Этапы энергетического обмена	155
8.3. Основные макроэнергетические соединения	156
8.4. Основные пути синтеза аденозинтрифосфата	159
8.5. Цикл Кребса.	160
8.6. Цепь переноса электронов	163
8.7. Регуляция обмена веществ	164
8.8. Характеристика эндокринной системы. Представление о гормонах. Биологическая роль гормонов	166
8.9. Классификация гормонов. Свойства и механизмы действия гормонов	167
8.10. Лабораторная практика	170

Практическое занятие 1. Диагностика заболеваний половой системы.	170
Контрольные вопросы	172
Тема 9. Обмен углеводов.	173
9.1. Биологическая ценность углеводов	173
9.2. Переваривание и всасывание углеводов в желудочно-кишечном тракте	173
9.3. Распад и синтез гликогена.	175
9.4. Гликолиз и спиртовое брожение	177
9.5. Глюконеогенез.	181
9.6. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы.	183
9.7. Глюкуроновый путь обмена глюкозы	184
9.8. Обмен фруктозы и галактозы	184
9.9. Регуляция метаболизма углеводов	186
9.10. Гликированные белки	187
9.11. Патология углеводного обмена.	188
9.12. Сахарный диабет	189
9.13. Кетоновые тела	192
9.14. Схема лабораторной диагностики сахарного диабета	193
9.15. Лабораторная практика	194
Практическое занятие 1. Определение глюкозы в сыворотке крови.	194
Практическое занятие 2. Определение глюкозы в крови на портативных анализаторах	199
Практическое занятие 3. Тест толерантности к глюкозе.	201
Практическое занятие 4. Определение гликозилированного гемоглобина.	201
Контрольные вопросы	204
Тема 10. Обмен белков	205
10.1. Азотистый баланс	205
10.2. Переваривание и всасывание белков в желудочно-кишечном тракте	205
10.3. Обезвреживание продуктов гниения белков	206
10.4. Понятие о дезаминировании, переаминировании, декарбоксилировании аминокислот.	207
10.5. Пути обезвреживания аммиака.	211
10.6. Понятие об остаточном азоте. Фракции остаточного азота	212
10.7. Обмен отдельных аминокислот	213
10.8. Регуляция обмена простых белков.	214

10.9. Обмен нуклеопротеинов	215
10.10. Биосинтез белка	216
10.11. Обмен хромопротеинов	217
10.12. Метаболизм гемоглобина в организме	218
10.13. Белковые фракции. Индивидуальные белки	219
10.14. Патология белкового обмена	221
10.15. Лабораторная практика	222
Практическое занятие 1. Определение общего белка	222
Практическое занятие 2. Определение альбумина	223
Практическое занятие 3. Определение мочевины	225
Практическое занятие 4. Определение креатинина	226
Практическое занятие 5. Определение общего и прямого билирубина	228
Практическое занятие 6. Определение мочевой кислоты	231
Практическое занятие 7. Определение С-реактивного белка, ревматоидного фактора, антистрептолизина О, иммуноглобулинов	234
Контрольные вопросы	236
Тема 11. Обмен липидов	237
11.1. Переваривание и всасывание липидов в желудочно-кишечном тракте	237
11.2. Транспорт и метаболические превращения липидов в крови	241
11.3. Окисление и биосинтез жирных кислот. Образование кетонных тел	244
11.4. Синтез триацилглицеринов	250
11.5. Синтез фосфолипидов	251
11.6. Биосинтез холестерина	253
11.7. Роль липопротеинов плазмы в развитии атеросклероза	254
11.8. Регуляция липидного обмена	255
11.9. Лабораторная практика	256
Практическое занятие 1. Определение общего холестерина	256
Практическое занятие 2. Определение триглицеридов	258
Практическое занятие 3. Определение холестерина липопротеинов высокой плотности	259
Практическое занятие 4. Определение холестерина липопротеинов низкой плотности	260

Практическое занятие 5. Расчет индекса атерогенности. . .	261
Контрольные вопросы	262
Тема 12. Водно-минеральный обмен	263
12.1. Роль воды в организме человека.	263
12.2. Роль минеральных веществ в организме человека	264
12.3. Гормональная регуляция водно-электролитного обмена	265
12.4. Методы определения показателей водно-минерального обмена	266
12.5. Значение электролитов в процессах жизнедеятельности организма.	266
12.6. Буферные системы. Показатели кислотно-основного состояния.	267
12.7. Роль буферных систем, легких и почек в поддержании кислотно-основного состояния.	272
12.8. Формы нарушений кислотно-основного состояния	273
12.9. Методы исследования нарушения кислотно-основного состояния.	277
12.10. Патология водно-минерального обмена.	278
12.11. Лабораторная практика	279
Практическое занятие 1. Определение калия. Клинико-диагностическое значение.	279
Практическое занятие 2. Определение кальция. Клинико-диагностическое значение.	281
Практическое занятие 3. Определение фосфора. Клинико-диагностическое значение.	282
Практическое занятие 4. Определение хлоридов. Клинико-диагностическое значение.	283
Практическое занятие 5. Определение магния. Клинико-диагностическое значение.	285
Практическое занятие 6. Определение меди. Клинико-диагностическое значение.	286
Практическое занятие 7. Определение железа и общей железосвязывающей способности сыворотки крови. Клинико-диагностическое значение . . .	287
Контрольные вопросы	290
Тема 13. Энзимодиагностика	291
13.1. Распределение ферментов в клетке, понятие об изоферментах	291
13.2. Диагностически значимые ферменты	292

13.3. Методы исследования ферментов	293
13.4. Лабораторная практика	294
Практическое занятие 1. Определение активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Клинико-диагностическое значение.	294
Практическое занятие 2. Определение активности креатинфосфокиназы. Клинико-диагностическое значение	299
Практическое занятие 3. Определение активности лактатдегидрогеназы. Клинико-диагностическое значение	302
Практическое занятие 4. Определение активности гамма-глутамилтранспептидазы. Клинико-диагностическое значение.	304
Практическое занятие 5. Определение активности щелочной фосфатазы. Клинико-диагностическое значение	306
Практическое занятие 6. Определение активности альфа-амилазы. Клинико-диагностическое значение.	309
Контрольные вопросы	311
Тема 14. Лабораторные исследования при различных заболеваниях.	312
14.1. Диагностика повреждения миокарда.	312
14.2. Диагностика повреждений печени.	315
14.3. Диагностика заболеваний почек	320
14.4. Диагностика повреждения поджелудочной железы	324
Контрольные вопросы	327
Тема 15. Электрофорез и хроматография	328
15.1. Основы хроматографии	328
15.2. Электрофорез: понятие, виды. Электрофорез белков сыворотки крови	330
15.3. Белки острой фазы воспаления	334
15.4. Лабораторная практика	335
Практическое занятие 1. Хроматографическое разделение смеси аминокислот	335
Практическое занятие 2. Гель-фильтрация	338
Практическое занятие 3. Электрофорез белков сыворотки крови.	339
Контрольные вопросы	341

Тема 16. Система гемостаза	342
16.1. Общая характеристика гемостаза.	342
16.2. Характеристика факторов свертывания	343
16.3. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз.	345
16.4. Плазменный гемостаз.	347
16.5. Внутренний и внешний механизмы свертывания.	347
16.6. Противосвертывающие системы крови	349
16.7. Антикоагулянты: виды, характеристика, применение	350
16.8. Система фибринолиза: общая характеристика, факторы. Взаимосвязь свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем	352
16.9. Методы исследования гемостаза. Патология гемостаза	354
16.10. Лабораторная практика	361
Практическое занятие 1. Определение активированного частичного тромбопластинового времени. Клинико-диагностическое значение.	361
Практическое занятие 2. Определение протромбинового времени. Клинико-диагностическое значение протромбина.	362
Практическое занятие 3. Определение плазминогена. Клинико-диагностическое значение плазминогена.	364
Практическое занятие 4. Определение фибриногена. Клинико-диагностическое значение фибриногена	365
Практическое занятие 5. Определение антитромбина III. Клинико-диагностическое значение антитромбина III	366
Практическое занятие 6. Определение протеина С. Клинико-диагностическое значение протеина С.	369
Практическое занятие 7. Портативные анализаторы (коагулометры)	371
Контрольные вопросы	372
РАЗДЕЛ 4. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	375
Тема 17. Контроль качества исследований	377
17.1. Понятие о контроле качества лабораторных исследований.	377
17.2. Этапы внутрилабораторного контроля качества исследований.	378

17.3. Терминология и основные понятия квалиметрии	378
17.4. Контрольные материалы. Виды контрольных материалов.	380
17.5. Порядок проведения внутрिलाбораторного контроля качества	382
17.6. Контроль качества. Преаналитический этап	383
17.7. Контроль качества. Аналитический этап	384
17.8. Оценка результатов внутрिलाбораторного контроля качества (контрольные карты, оценочные правила).	385
17.9. Контроль качества посуды.	388
17.10. Контроль качества реактивов	389
17.11. Методы контроля качества, не требующие контрольных материалов	390
17.12. Контроль работы приборов и оборудования	391
17.13. Лабораторная практика	393
Практическое занятие 1. Правила разведения и приготовления рабочих растворов	393
Практическое занятие 2. Правила разведения и приготовления лиофилизированного контрольного материала	395
Практическое занятие 3. Моделирование контроля качества. Построение и оценка контрольных карт.	396
Контрольные вопросы	398
Список рекомендуемой литературы	399
Предметный указатель	400

ТЕМА 2

ХИМИЯ УГЛЕВОДОВ

2.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДОВ

Углеводы — вещества, состоящие из углерода, водорода и кислорода, которые в большинстве случаев описывают формулой $C_x(H_2O)_y$, где x и y могут иметь различные значения. По своей химической природе углеводы представляют собой альдегиды либо кетоны, при этом в молекуле всегда присутствует несколько гидроксильных групп. Именно эти гидроксильные группы и обуславливают химические свойства углеводов.

История изучения углеводов насчитывает не одно столетие. Еще в Древней Индии для получения сахарозы (тростниковый сахар) из сахарного тростника проводили реакции сгущения и осветления с помощью молока, после чего промывали известковой водой или раствором золы. После этого смесь очищали и добивались кристаллизации, получая так называемые *сахарные головы* — крупные куски сахара. Впоследствии сахарный тростник распространился по миру — от Египта и Персии до европейских стран. Высокая цена подобного сахара привела к разработкам других, более доступных методик получения сахара, и в 1747 г. химик Андреас Маргграф описал способ получения сахара из свеклы. Другой углевод — фруктозу — в 1792 г. научились выделять из раствора меда, а вскоре в 1802 г. был открыт один из важнейших метаболитов любого организма — глюкоза. История сложных углеводов началась в 1811 г. после проведения русским ученым Константином Кирхгофом гидролиза растительного углевода — крахмала, а в 1857 г. был открыт основной полисахарид животных — гликоген. Последующие открытия в области химии углеводов пролили свет на их биологическое значение, показали их ключевую роль в жизнедеятельности организма.

2.2. ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ И ИХ СУТОЧНАЯ ПОТРЕБНОСТЬ

Углеводы играют важную роль в жизнедеятельности организма и выполняют различные биологические функции.

- Энергетическая — доля участия углеводов в общем энергетическом балансе превышает долю белков и углеводов, вместе взятых. Наиболее важные с энергетической точки зрения углеводы — глюкоза и гликоген.
- Структурная — компоненты мембран клеток.
- Гомеостатическая — поддержание водно-электролитного баланса.
- Осморегуляторная — поддержание осмотического давления (глюкоза).
- Защитная — участие в синтезе антител.
- Опорная — входят в состав хрящей, костей (хондроитинсульфаты).
- Механическая — входят в состав соединительной ткани.
- Антисвертывающая (гепарин).
- Гемостатическая — участие в процессах свертывания крови.
- Обезвреживающая (парные глюкуроновые кислоты в моче).
- Группспецифическая (гликопротеины эритроцитов крови).
- Антилипидемическая (гепарин).

Суточная потребность в углеводах для взрослого человека составляет от 250–600 г/сут, в зависимости от физической активности, что составляет 50–60% суточной энергетической потребности.

2.3. КЛАССИФИКАЦИЯ И СВОЙСТВА УГЛЕВОДОВ

Углеводы по составу разделяют на моносахариды, олигосахариды и полисахариды (рис. 2.1).

Моносахариды — простые молекулы, которые не могут быть гидролизваны до более простых форм. В зависимости от числа атомов углерода моносахариды разделяют на триозы (3 атома углерода — 3C), тетрозы (4C), пентозы (5C), гексозы (6C) и гептозы (7C).

По химическим названиям моносахариды разделяют на альдозы и кетозы:

- альдозы — моносахариды, содержащие альдегидную группу в открытой форме;
- кетозы — моносахариды, содержащие кетонную группу в открытой форме.

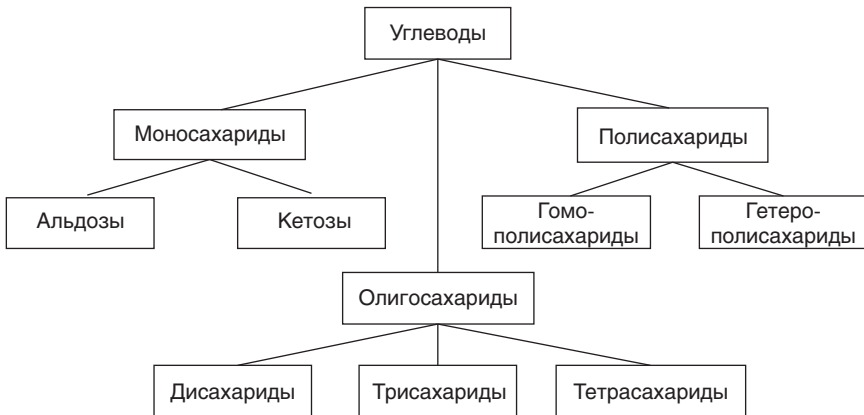


Рис. 2.1. Классификация углеводов

Моносахариды способны окисляться до моно-, дикарбоновых и гликуроновых кислот; восстанавливаться до спиртов и образовывать сложные эфиры и гликозиды. Специфическая реакция для моносахаридов — брожение (спиртовое, молочнокислое, лимоннокислое и маслянокислое).

Моносахариды обладают структурными отличиями, которые можно оценить по способности преломлять свет в том или ином направлении (D — вправо, L — влево). В организме человека присутствуют D-формы моносахаридов.

Олигосахариды — молекулы углеводов, состоящие из нескольких мономеров. Выделяют дисахариды (2 мономера), трисахариды (3 мономера), тетрасахариды (4 мономера).

Дисахариды — димерные молекулы, образующиеся в результате реакции конденсации между двумя моносахаридами, чаще всего гексозами. Связь между моносахаридами, возникающая в процессе данной реакции, носит название «гликозидная связь». После того как моносахариды соединяются друг с другом, их называют *остатками*. Например, сахароза состоит из остатка глюкозы и фруктозы.

Полисахариды (гликаны) — полимеры, построенные из моносахаридов. Полисахариды отличаются друг от друга природой повторяющихся моносахаридных единиц, длиной цепи и степенью ее ветвления. Полисахариды подразделяют на гомополисахариды, состоящие из мономеров только углеводной природы, и гетерополисахариды, в которых имеются неуглеводные компоненты. Большинство углеводов, встречаемых в природе, существуют в форме высокомолекулярных полисахаридов.

2.4. ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МОНОСАХАРИДОВ, ДИСАХАРИДОВ И ПОЛИСАХАРИДОВ

Триозы — моносахариды, в состав которых входят 3 атома углерода. Триозы играют роль промежуточных продуктов обмена в процессе дыхания и других процессах углеводного обмена. Ниже представлены структурные формулы наиболее значимых триоз (рис. 2.2).

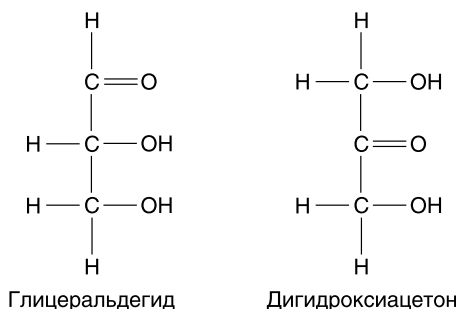


Рис. 2.2. Триозы

Пентозы — моносахариды, содержащие 5 атомов углерода. Такие пентозы, как рибоза и дезоксирибоза, участвуют в синтезе нуклеиновых кислот (РНК и ДНК соответственно), коферментов (никотинамидадениндинуклеотид — НАД и никотинамидадениндинуклеотид-фосфат — НАДФ), аденозинтрифосфата (АТФ). Пентозы способны образовывать циклические формулы. Структурные формулы основных триоз представлены на рис. 2.3.

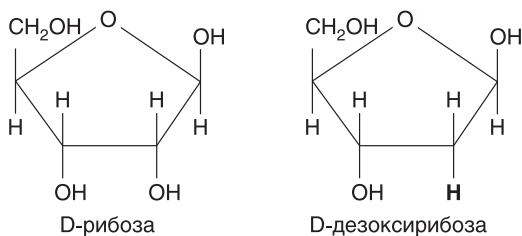


Рис. 2.3. Пентозы

Гексозы — моносахариды, содержащие 6 атомов углерода. Гексозы служат источником энергии, высвобождаемой при окислении в процессе дыхания. Гексозы способны участвовать в синтезе дисахаридов,

а также полисахаридов. Гексозы могут образовывать циклические формы. Наиболее значимые гексозы приведены на рис. 2.4.

Глюкоза — наиболее распространенный моносахарид, выполняющий функцию основного дыхательного субстрата. В природе глюкоза существует в форме D-глюкозы. После растворения в воде глюкоза может существовать как в циклической, так и в линейной форме. Циклические формы в растворе могут принимать форму α -D-глюкозы или β -D-глюкозы, которые различаются положением OH-группы относительного атома углерода C1.

Фруктоза, как и глюкоза, существует в α - и β -формах, может принимать форму как шестичленного цикла (пиранозная), так и пятичленного цикла (фуранозная).

Галактоза — моносахарид из группы гексоз, который отличается от глюкозы пространственным расположением водородной и гидроксильной групп у атома углерода C4.

Среди дисахаридов наибольший интерес представляют сахароза, лактоза, мальтоза и изомальтоза.

Сахароза — дисахарид, состоящий из остатков α -глюкозы и β -фруктозы, соединенных α, β -1,2-O-гликозидной связью. Сахароза содержится в растениях, например в сахарном тростнике и фруктах.

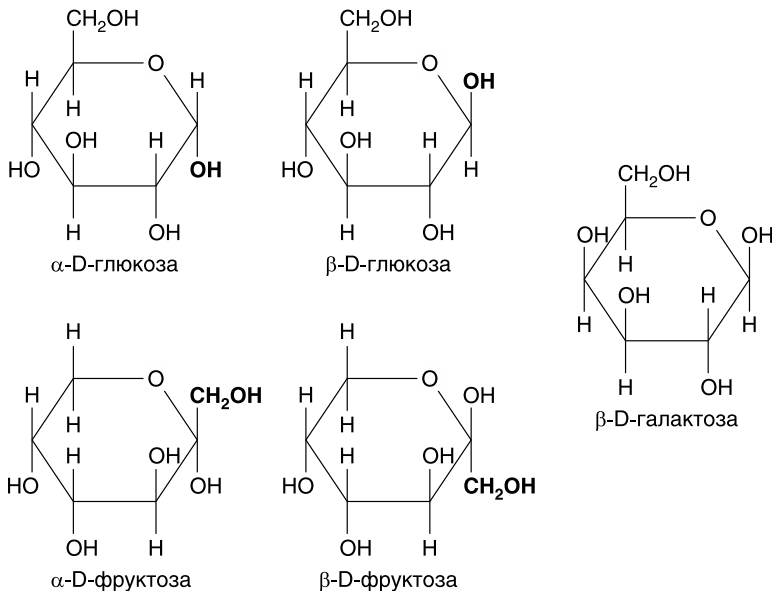


Рис. 2.4. Гексозы

α -Лактоза — дисахарид, который состоит из остатков α -глюкозы и β -галактозы, соединенных α,β -1,4-О-гликозидной связью. Лактоза содержится в молоке, поэтому ее также называют «молочным сахаром». Структурные формулы сахарозы и лактозы представлены на рис. 2.5.

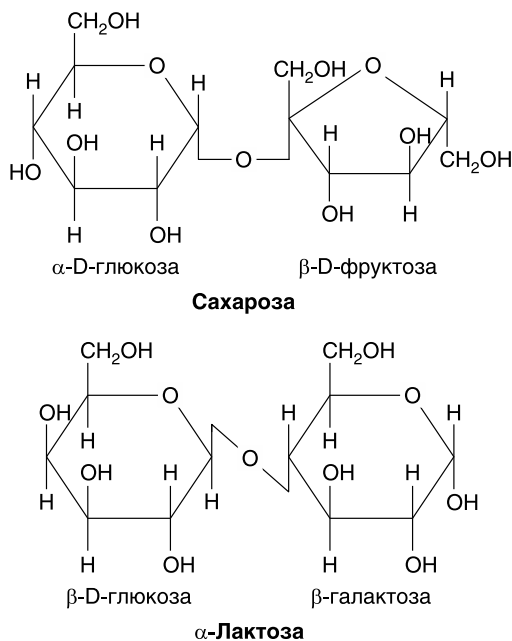


Рис. 2.5. Дисахариды: сахароза и лактоза

Мальтоза и изомальтоза — дисахариды, состоящие из двух остатков α -глюкозы, при этом в мальтозе они соединены α,α -1,4-О-гликозидной связью, а в изомальтозе — α,α -1,6-О-гликозидной связью. Структурные формулы мальтозы и изомальтозы представлены на рис. 2.6.

По составу полисахариды разделяют на гомополисахариды и гетерополисахариды. Среди гомополисахаридов наиболее значимы крахмал, гликоген и целлюлоза.

Крахмал — полимер α -глюкозы, состоящий из неразветвленной спиральной структуры — амилозы (15–20%), а также из разветвленных цепей амилопиктина (80–85%). Каждая ветвь крахмала состоит из 25–30 остатков глюкозы, которые соединены 1-4-гликозидными связями, в то время как в точках ветвления мономеры соединены 1-6-гликозидными связями. Крахмал служит главным энергетическим ресурсом растений. При необходимости крахмал может быть легко расщеплен

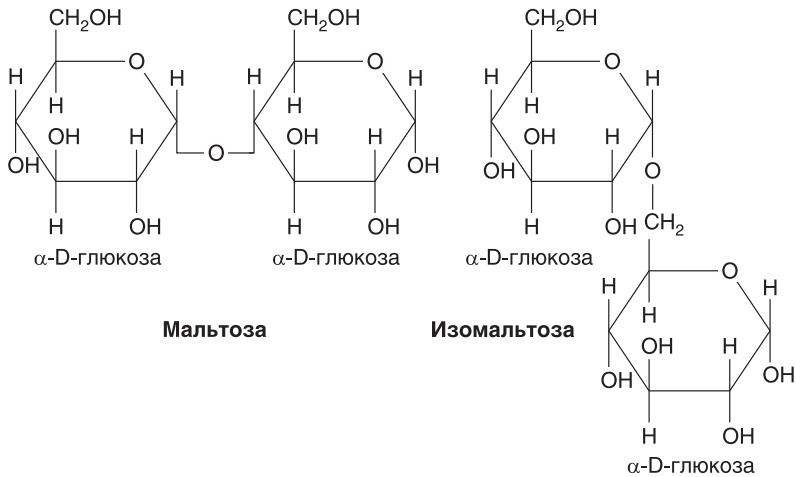


Рис. 2.6. Дисахариды: мальтоза и изомальтоза

до глюкозы, которая может быть использована в качестве источника энергии в процессе дыхания. У животных крахмала нет, его функцию выполняет гликоген.

Гликоген — полимер α -глюкозы, в виде которого углеводы запасаются в организмах животных. Структура гликогена более разветвленная, чем структура амилопектина крахмала, при этом линейные отрезки глюкозы короче и состоят из 11–18 остатков глюкозы, которые соединены 1-4-гликозидными связями, а в точках разветвлений 1-6-гликозидными связями (рис. 2.7).

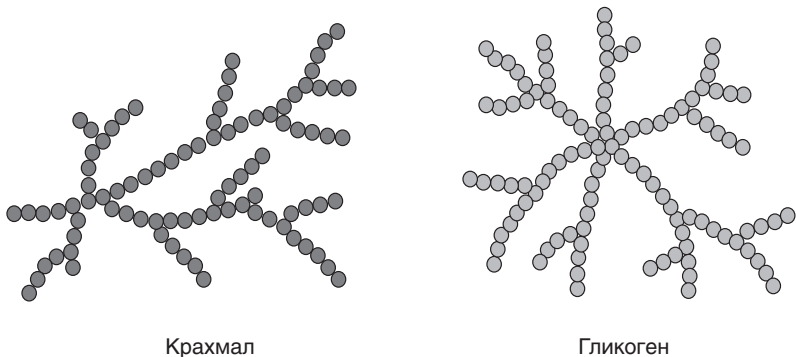


Рис. 2.7. Структура крахмала и гликогена

Целлюлоза (клетчатка) — линейный полимер β -глюкозы, образованный 1-4-гликозидной связью. Целлюлоза — главный структурный компонент клеточной стенки растений. В целлюлозе заключено около 50% углерода, находящегося в растениях. Целлюлоза — основа пищи некоторых животных, бактерий и грибов. Следует отметить, что большинство животных, в том числе и человек, не обладают ферментом, расщепляющим целлюлозу. Однако в кишечнике у многих животных присутствуют бактерии, которые способны осуществлять расщепление целлюлозы. Целлюлоза имеет большое промышленное значение: из нее изготавливают бумагу, хлопчатобумажные ткани и другие изделия.

Среди гетеросахаридов наибольшее значение имеют гепарин, хондроитинсульфаты, гиалуроновая кислота.

Гепарин — полимер, образованный остатками D-глюкурона-2-сульфата и N-ацетилглюкозамина-6-сульфата (рис. 2.8). Гепарин — важнейший компонент антисвертывающей системы крови.

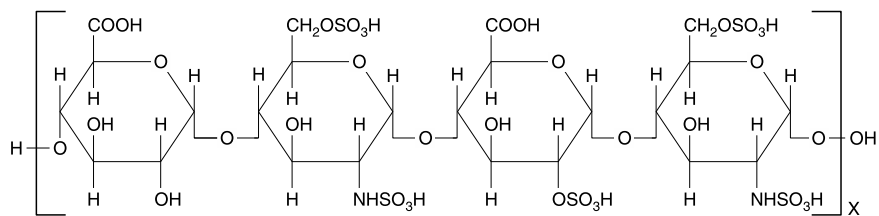


Рис. 2.8. Структура гепарина

Хондроитинсульфаты — хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат — полимеры, образованные остатками D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилгалактозамина (рис. 2.9). Хондроитинсульфаты входят в состав агрегатов в основном веществе хряща.

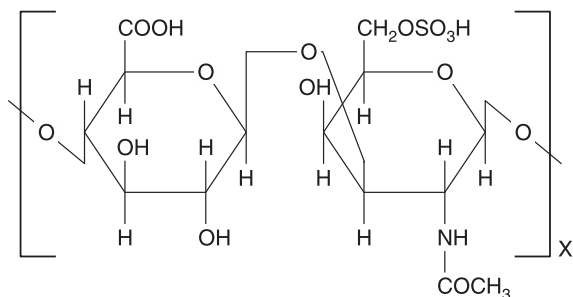


Рис. 2.9. Структура хондроитинсульфатов

Гиалуроновая кислота — полимер, образованный остатками D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина (рис. 2.10). Основная функция гиалуроновой кислоты — связывание воды, которая заполняет промежутки между ее молекулами, образуя гелеобразную структуру, окружающую клеточные и волокнистые структуры, кровеносные сосуды и нервные элементы. Гиалуроновая кислота существенно влияет на проницаемость костной ткани.

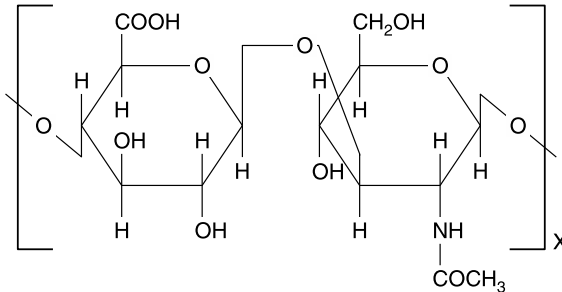


Рис. 2.10. Структура гиалуроновой кислоты

2.5. ЛАБОРАТОРНАЯ ПРАКТИКА

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ 1. ОБНАРУЖЕНИЕ УГЛЕВОДОВ

В клинической лабораторной практике качественные реакции на углеводы используют для определения их в различных биологических жидкостях. В данном разделе рассмотрены методы обнаружения в моче лактозы, мальтозы и пентозы, имеющих диагностическое значение.

ПРОБА БИАЛЯ (ОБНАРУЖЕНИЕ ПЕНТОЗЫ)

Метод основан на том, что пентозы с орцином и треххлористым железом в кислой среде образуют при нагревании соединение желто-зеленого цвета.

Для проведения пробы необходимы следующие реагенты и биологические материалы:

- орцин (5-метилорцин);
- концентрированная хлористоводородная кислота;
- 10% раствор треххлористого железа ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$);
- 1% раствор ксилозы;
- моча здорового человека.

Перед проведением реакции готовят реактив Биала: 1 г орцина растворяют в 500 мл хлористоводородной кислоты и добавляют 1 мл 10% раствора треххлористого железа.

В ходе работы в две пробирки наливают по 5 мл реактива Биала, в первую пробирку добавляют 1 мл мочи, во вторую пробирку — раствор ксилозы и нагревают до кипения. При положительной реакции появляется желто-зеленое окрашивание. В моче здорового человека пентозы отсутствуют, в то время как вторая пробирка будет окрашена в желто-зеленый цвет.

ПРОБА ВЕЛЬКА (ОБНАРУЖЕНИЕ ЛАКТОЗЫ И МАЛЬТОЗЫ)

Принцип метода: лактоза и мальтоза при взаимодействии с аммиаком в щелочной среде при нагревании образуют соединения, имеющие окраску.

Для лабораторной работы необходимы следующие реагенты и материалы:

- аммиак водный, концентрированный;
- 20% раствор гидроокиси калия;
- 1% раствор лактозы;
- 1% раствор мальтозы;
- моча здорового человека.

В ходе работы берут три пробирки:

- в первую пробирку добавляют 5 мл мочи;
- во вторую — 5 мл лактозы;
- в третью — 5 мл мальтозы.

В каждую из пробирок прибавляют 2,5 мл раствора аммиака, 0,2 мл гидроокиси калия и нагревают на водяной бане 30 мин при 60 °С. При наличии лактозы появляется коричневая окраска, при наличии мальтозы — красное окрашивание. В моче здорового человека мальтоза и лактоза отсутствуют.

ПРОБА СЕЛИВАНОВА (ОБНАРУЖЕНИЕ ФРУКТОЗЫ)

При нагревании фруктозы с резорцином в кислой среде образуются соединения, окрашенные в красный цвет.

Необходимые реактивы и материалы:

- соляная кислота (HCl), 1 моль/л;
- резорцин (5 г в 1 моль/л раствора HCl);
- моча;
- 1% раствор фруктозы.

Для проведения пробы берут две пробирки:

- в первую пробирку вносят 2 мл мочи;
- во вторую — 2 мл раствора фруктозы.

Далее в каждую пробирку добавляют по 1 мл раствора резорцина, после чего пробы нагревают до закипания. При положительной пробе во второй пробирке (с фруктозой) развивается интенсивное красное окрашивание. В норме фруктоза не содержится в моче, поэтому в первой пробирке окраска не появляется. Важно проводить оценку в момент закипания, так как при длительном кипячении окраска может появиться при наличии глюкозы в пробе.

ОБНАРУЖЕНИЕ КРАХМАЛА

Метод обнаружения крахмала, основанный на его взаимодействии с йодом, достаточно прост и знаком еще по школьному курсу биологии. Для проведения реакции необходимы следующие реагенты:

- 1% раствор крахмала;
- 1% раствор йода в 2% растворе йодида калия.

Для проведения качественной реакции к 10 каплям крахмала добавляют 1–2 капли йода. При положительной реакции на крахмал появляется ярко-синее окрашивание. На практике данную реакцию используют для выявления активности ферментов, гидролизующих крахмал.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ 2. СВОЙСТВА УГЛЕВОДОВ

Важное свойство моносахаридов и некоторых дисахаридов, имеющих свободную карбонильную группу, — способность восстанавливать в щелочной среде металлы из окислов в закисные формы или свободное состояние. Это свойство используют на практике для обнаружения глюкозы в крови и моче.

РЕАКЦИЯ ТРОММЕРА

Данная реакция основана на способности глюкозы в щелочной среде восстанавливать окись меди в закись, при этом сама глюкоза окисляется до глюконовой кислоты. Для проведения реакции Троммера необходимы:

- 1% раствор глюкозы;
- 1% раствор мальтозы;
- 1% раствор сахарозы;
- 1% раствор крахмала;

- 10% раствор гидроокиси натрия;
- 5% раствор сульфата меди.

В ходе лабораторной работы в каждую из четырех пронумерованных пробирок вносят по 10 капель определенного раствора углевода:

- пробирка № 1 — глюкоза;
- пробирка № 2 — мальтоза;
- пробирка № 3 — сахароза;
- пробирка № 4 — крахмал.

Далее в каждую пробирку добавляют по 10 капель гидроокиси натрия и по 2 капли сульфата меди, после чего пробирки осторожно нагревают до кипения.

В пробирках с глюкозой и мальтозой, где проба положительная, выпадает осадок кирпично-красного цвета (закись меди). В пробирках с сахарозой и крахмалом, где реакция отрицательная, изменения цвета не происходит. Реакция Троммера лежит в основе пробы Гайнеса — унифицированного метода обнаружения глюкозы в моче.

РЕАКЦИЯ НИЛАНДЕРА

Принцип реакции Ниландера заключается в том, что глюкоза, окисляясь, восстанавливает висмут до гидрата закиси или свободного состояния. Для проведения данной реакции необходимы:

- 1% раствор глюкозы;
- 1% раствор мальтозы;
- 1% раствор сахарозы;
- 1% раствор крахмала.

Для приготовления реактива Ниландера в фарфоровой ступке смешивают:

- 2 г нитрата висмута;
- 4 г сигнетовой соли.

Далее при тщательном растирании добавляют небольшими порциями 10 мл 10% раствора гидроокиси натрия. Приготовленный реактив фильтруют и хранят в склянке темного стекла на холоде.

При проведении лабораторной работы берут четыре пробирки, нумеруют их и вносят по 10 капель определенного раствора углевода:

- пробирка № 1 — глюкоза;
- пробирка № 2 — мальтоза;
- пробирка № 3 — сахароза;
- пробирка № 4 — крахмал.

Далее в каждую пробирку добавляют по 10 капель реактива Ниландера и осторожно кипятят около 2 мин. В пробирках № 1 и № 2, содер-

жащих глюкозу и мальтозу, появляется темно-коричневое окрашивание. В пробирках № 3 и 4 с сахарозой и крахмалом изменения окраски не происходит.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какой ученый впервые изучил состав крахмала?
2. Какие функции выполняют углеводы в организме человека?
3. Какая химическая связь лежит в основе формирования дисахаридов?
4. Чем отличается крахмал от гликогена? Какова биологическая функция данных соединений?
5. Какие формы существования молекулы фруктозы вам известны?
6. Каковы основные биологические функции пентоз?
7. Что такое целлюлоза? Какое промышленное значение она имеет?
8. В какой форме в природе существует молекула глюкозы?
9. Какие способы обнаружения углеводов существуют? Какие реактивы необходимы для проведения данных реакций?
10. Какой принцип лежит в основе реакции Ниландера?