**Тема 7.1 Биохимия крови (УИРС)**

***Цель занятия***

-изучить химический состав (белковый, углеводный, липидный, электролитный) крови.

-знать величины основных биохимических показателей крови.

-уметь анализировать причины изменения биохимических показателей крови, их практическую значимость.

-научиться определять содержание общего белка крови и остаточного азота в сыворотке крови.

***Необходимый исходный уровень***

Из курса биоорганической химии студент должен знать:

-функции белков в организме;

-физико-химические свойства белков;

-методы разделения белковых фракций (электрофорез, высаливание).

**Вопросы для самоподготовки**

1. Основные биохимические функции и физико-химические свойства крови
2. Белки плазмы крови: общий белок, белковые фракции, белковый коэффициент. Разделение белков плазмы крови на фракции (высаливание, электрофорез)
3. Гипо- и гиперпротеинемия, парапротеинемия, диспротеинемия
4. Диагностическое значение определения белкового спектра крови. Белки «острой фазы»
5. Строение и функции гемоглобина. Производные гемоглобина: оксигемоглобин, карбоксигемоглобин, метгемоглобин, карбгемоглобин, цианметгемоглобин
6. Физиологические и аномальные типы гемоглобина
7. Ферменты крови, их происхождение, диагностическое значение.
8. Небелковые, азотсодержащие вещества крови, остаточный азот крови
9. Безазотистые органические вещества крови: липиды, глюкоза, лактат, пируват, кетоновые тела
10. Минеральные вещества крови

**Практическая часть занятия**

**Лабораторная работа 1**

***Определение общего белка сыворотки крови биуретовым методом***

*Принцип метода:* белки реагируют в щелочной среде с сернокислой медью с образованием комплекса пептидных связей белка с ионами двухвалентной меди, окрашенного в фиолетовый цвет. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка в сыворотке крови и определяется фотометрически.

*Ход работы*: в 1 пробирку наливают 0,1 мл исследуемой сыворотки, во 2 пробирку (контроль) – 0,1 мл 0,9% раствора NaCl. В обе пробирки добавляют по 5 мл биуретового реактива. Содержимое пробирок осторожно перемешивают, избегая образования пены, и через 30 минут фотометрируют в кюветах на 10 мм при зеленом светофильтре (540 нм) против контрольной пробы. Определив экстинцию исследуемого раствора, находят по калибровочному графику концентрацию белка (г/л). В норме содержание белка в сыворотке крови у взрослых 65-85 г/л, у детей до 6 лет 56-85 г/л.

*Результат:*

*Вывод:*

Практическая значимость работы. Повышение содержания белка в сыворотке крови (гиперпротеинемия) встречается редко. Это наблюдается при ревматизме и миеломной болезни. Кратковременная относительная гиперпротеинемия отмечается при сгущении крови из-за значительных потерь жидкости (рвота, понос, несахарный диабет, усиленное потоотделение, холера). Понижение уровня белка в крови (гипопротеинемия) имеет место при нефритах, злокачественных опухолях, дистрофии.

**Лабораторная работа 2**

***Количественное определение остаточного азота в сыворотке крови колориметрическим методом по Ацелю***

Принцип метода: остаточный азот крови определяют в безбелковом фильтрате после осаждения белков крови различными осадителями (ТХУ и др) с последующей минерализацией фильтрата концентрированной серной кислотой. Азот всех исследуемых фракций в виде аммиака связывается с серной кислотой, образуя сульфат аммония, который с реактивом Несслера (щелочной раствор комплексной соли ртути) дает соединение желто-оранжевого цвета. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации аммиака, а, следовательно, и азота, рассчитанной по калибровочной кривой.

*Ход работы:* в пробирку с подготовленным минерализатом добавляют 10 мл воды и 0,5 мл реактива Несслера. Одновременно готовят контроль: для этого к 10 мл воды добавляют 0,5 мл реактива Несслера. Фотометрируют против контроля на ФЭК при синем светофильтре в кювете 5 мм. По калибровочной кривой находят соответствующее количество азота.

Расчет ведут по формуле:

Остаточный азот мг/100 мл = а∙v∙100 / 1∙ 0,2. где

а- количество азота, найденное по калибровочной кривой (мг/мл)

v- общий объем крови, полученный после осаждения белков крови (2,5 мл)

0,2 – количество крови, взятой для анализа (мл)

Коэффициент пересчета в систему СИ (моль/л) равен 0,714.

В норме содержание остаточного азота составляет 14,3-28,6 ммоль/л, у новорожденных – 42,0-71,0 ммоль/л.

*Результат:*

*Вывод:*

**Практическая значимость работы**. Повышение остаточного азота в крови (азотемия) наблюдается при обезвоживании организма (рвота, понос), при хронических нефритах, при усиленном распаде белков, а также у недоношенных детей. Понижение содержания остаточного азота наблюдается при недостаточном белковом питании.

**Вопросы для самоконтроля**

1. **Заполнить карту по теме “Химический состав крови”**

Контрольная карта по теме “Химический состав крови”

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Показатель | Цифровые значения  (пределы колебания) | Способы  выражения |
| 1 | Общий белок сыворотки (плазмы) |  |  |
| 2 | Гемоглобин |  |  |
| 3 | Фибриноген плазмы |  |  |
| 4 | Альбумины сыворотки (плазмы) |  |  |
| 5 | Глобулины сыворотки (плазмы) |  |  |
| 6 | Белковый коэффициент (А/Г) |  |  |
| 7 | Остаточный азот цельной крови |  |  |
| 8 | Билирубин сыворотки (плазмы) |  |  |
| 9 | Глюкоза цельной крови |  |  |
| 10 | Общий холестерин цельной крови |  |  |
| 11 | Мочевина |  |  |
| 12 | Мочевая кислота |  |  |
| 13 | Кетоновые тела |  |  |
| 14 | Кальций сыворотки (плазмы) |  |  |
| 15 | Минеральный фосфор сыворотки (плазмы) |  |  |
| 16 | рН |  |  |

Против каждого показателя проставьте:

1. В столбце №3 – соответствующие цифры.
2. В столбце №4 – способ выражения данного показателя (г/л; ммоль/л).

**II. Решить ситуационные задачи:**

1. Объясните механизм гиперпротеинемии, если у мужчины с выраженной диареей и рвотой обнаружено увеличение содержания общего белка в сыворотке крови?
2. Какие изменения в свертывающей системе крови будут возникать при введении организм антагонистов витамина К?
3. При диете с низким содержанием углеводов, концентрация глюкозы в крови нормальная, уровень гликогена в печени несущественно снижен. Количество белков и жиров в организме достаточное. За счет, какого процесса поддерживается уровень глюкозы в крови?
4. При хроническом заболевании печени возможно развитие отеков. Объясните механизм наблюдаемых нарушений, с учетом того, что концентрация альбуминов в крови составляет 35 г/л.
5. После ожога, мужчине, потерявшему большое количество жидкости, вводят плазму крови. Можно ли осуществить замену плазмы на физиологический раствор и почему?

***Основная учебная литература***

1. Чиркин, А.А. Биохимия: Учебное руководство/ А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. - М.: Мед. лит., 2010.- 624 с.

***Дополнительная литература***

1. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник / под ред. С. Е. Северина. — 2-е изд., испр. и доп. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 624 с.
2. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера. В трех томах. / Д.Нельсон, М Кокс. -М.: Бином. Лабораторные знания, 2011.- т.1 -682 с.
3. Уайт, А. Основы биохимии. В трех томах / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит. – М.: Мир, 1981.- 1877с