

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Методические рекомендации для
самостоятельной работы обучающихся по дисциплине**

Б1.В.ДВ.04.01 КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Специальность 36.05.01 Ветеринария

Специализация Ветеринарное дело

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Организация самостоятельной работы	3
2. Методические рекомендации по самостоятельному изучению вопросов	5
3. Методические рекомендации по подготовке к занятиям	7
3.1. Лабораторная работа. Изменение крови при различных патологических состояниях	8
3.2. Лабораторная работа. Клинико-диагностическое значение определения белков плазмы крови методом электрофореза.....	8
3.3. Лабораторная работа. Качественные реакции на аминокислоты и белки (реакция Сакагучи, определение Биурета, реакция Фольга, нингидриновая реакция, pH белков, иэт).	
3.4. Лабораторная работа. Качественный и количественный методы определения глюкозы.....	9
3.5. Лабораторная работа. Определение холестерина, триглицеридов, липазы в сыворотке крови.....	
3.6. Лабораторная работа. Особенности обмена минеральных веществ и витаминов в организме животных.	9
3.7. Лабораторная работа. Исследование печени.....	9
3.8. Лабораторная работа. Определение активности ферментов АЛТ, АСТ, ЛДГ, глутамилтрансферазы, альфа-амилазы (липазы), щелочной фосфотазы в сыворотке крови.....	10
3.9. Лабораторная работа. Лабораторные методы исследования печени.	10
3.10. Лабораторная работа. Биохимия мочи: общий белок, сахар, кетоновые тела, нитриты, pH, билирубин, лейкоциты.....	10
3.11. Лабораторная работа. Определение гормонов T_3 , T_4 , ТТГ для диагностики иодадефекта в организме животных.....	11

1. ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.1. Организационно-методические данные дисциплины

№ п.п . .	Наименование темы	Общий объем часов по видам самостоятельной работы (из табл. 5.1 РПД)				
		подготовка курсового проекта (работы)	подготовка реферата/эссе	индивидуальные домашние задания (ИДЗ)	самостоятельно изучение вопросов (СИВ)	подготовка к занятиям (ПкЗ)
1	2	3	4	5	6	7
1.	Изменение крови при различных патологических состояниях	x	x	x	3	4
2.	Клинико-диагностическое значение определения белков плазмы крови методом электрофореза.	x	x	x	3	3
3.	Качественные реакции на аминокислоты и белки (реакция Сакагучи, определение Биурета, реакция Фольга, нингидриновая реакция, pH белков, иэт).	x	x	x	2	2
4.	Качественный и количественный методы определения глюкозы.	x	x	x	3	3
5.	Определение холестерина, триглицеридов, липазы в сыворотке крови.	x	x	x	3	3
6.	Особенности обмена минеральных веществ и витаминов в организме животных.	x	x	x	2	2
7.	Исследование печени	x	x	x	3	3
8.	Определение активности ферментов АЛТ, АСТ, ЛДГ, глутамилтрансферазы, альфа-амилазы (липазы), щелочной фосфотазы в сыворотке крови.	x	x	x	3	3
9.	Лабораторные методы исследования	x	x	x	3	3

	печени.					
10.	Биохимия мочи: общий белок, сахар, кетоновые тела, нитриты, pH, билирубин, лейкоциты.	x	x	x	2	2
11.	Определение гормонов Т ₃ , Т ₄ , ТТГ для диагностики иодадефекта в организме животных.	x	x	x	5	5

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО САМОСТОЯТЕЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ВОПРОСОВ

2.1. Изменение крови при различных патологических состояниях

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Какие патологические состояния у животных встречаются наиболее часто. Какие показатели меняются при патологии, норма на данные виды показателей.

2.2 Клинико-диагностическое значение определения белков плазмы крови. методом электрофореза.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Диагностика при нарушении белкового обмена, причины, которые влияют на дегидратацию и их коррекцию. Описать данное заболевание. Липиды их значение в организме животных. Как диагностируют данное нарушение и какие методы используются.

2.3. Качественные реакции на аминокислоты и белки (реакция Сакагучи, определение Биурета, реакция Фольга, нингидриновая реакция, pH белков, иэт).

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Для усвоения поли- и дисахаридов необходимо их расщепление в кишечнике до моносахаридов. Нарушение образования или выделения сока поджелудочной железы, содержащего фермент а-амилазу, влечет за собой расстройство всасывания углеводов. Это может наблюдаться при поражениях ткани поджелудочной железы (панкреатиты) и при закупорке ее выводного протока (камни, опухоли). Наличие в кале не переваренных зерен крахмала является одним из показателей нарушения усвоения полисахаридов. Нарушение всасывания моносахаридов, в частности глюкозы, может быть обусловлено патологическим процессом в самой стенке тонкого кишечника. Нормальный процесс всасывания моносахаридов (глюкозы, галактозы, фруктозы) связан с их фосфорилированием и дефосфорилированием в эпителии кишечника. При воспалении слизистой оболочки кишечника, злокачественном перерождении ее, отравлении ферментативными ядами, блокирующими процесс фосфорилирования моносахаридов, нарушается всасывание углеводов. Патология всасывания углеводов особенно легко развивается новорожденных животных.

2.4. Определение холестерина, триглицеридов, липазы в сыворотке крови.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Оценить обеспеченность организма минеральными веществами следя принципу балансового опыта. Т.е. необходимо произвести учет суточного потребления с кормом того или иного элемента. Исключить возможное влияние вторичных факторов. Дополнительно используют определение концентраций минеральных элементов в крови и органах депо. Интенсивно изучается концентрация токсических микроэлементов в волосяном покрове для диагностики токсикозов.

Теория о геобиохимических провинциях дополнительно может указывать на возможный диагноз. Ранее были изданы справочники по кормопроизводству и геологии где территории разбивались на геобиохимические провинции. Территория РБ недостаточна по Se, Co, I, Zn и ряду других элементов, с избытком железа. В настоящее время значительное влияние на содержание неорганических элементов в верхних слоях литосферы оказывает техногенный фактор. Значительно повысилась концентрация таких токсических элементов, как Pb, Ni, Mn, Hg, Cd. Свинец, ртуть и кадмий относятся к

тройке наиболее значимых загрязнителей. Определение концентраций их в кормах, почвах и воде используют в качестве мониторинговых. В зоне крупных промышленных предприятий и городов их концентрации знаильные. В РБ определенное влияние на развитие геобиохимической провинции оказала авария на ЧАЭС.

2.5 Качественный и количественный методы определения глюкозы.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Глюкоза ее содержание в сыворотке крови животных. Качественные реакции на глюкозу. На каких приборах и каким методом определяют глюкозу в сыворотке крови животных.

2.6. Особенности обмена минеральных веществ и витаминов в организме животных.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Определение витаминов методом атомно-абсорбционного анализа. Методика определения микро и макроэлементов в сыворотке крови. Метод высокоеффективной жидкостной хроматографии и его применение при определении витаминов.

2.7. Определение активности ферментов АЛТ, АСТ, ЛДГ, глутамилтрансферазы, альфа-амилазы (липазы), щелочной фосфотазы в сыворотке крови.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Роль холестерина в организме животных.

2.8. Исследование печени

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

В настоящее время ветеринарная гепатология рассматривает три нозологические единицы болезней печени: гепатит, гепатоз и цирроз, а также три единицы болезней желчевыводящих путей: холецистит, холангит и желчекаменную болезнь. Выделенная в начале прошлого века из гепатоза токсическая дистрофия печени со временем была оформлена в нозологическую единицу. Впервые эта болезнь была описана Е.М. Земмером в 1882 г. под названием «энзоотический гепатит», а по предложению Корса названа «токсическая дистрофия печени». Абсцесс печени (гнойно-некротический гепатит), дистрофии (жировая, амилоидная и др.), являются патоморфологическими формами болезней печени. К ним можно отнести и все воспаления желчевыводящих путей, поскольку клинически у животных они не диагностируются.

2.9. Лабораторные методы исследования печени.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Методы исследования и диагностики заболевания печени. Биохимические показатели

2.10. Биохимия мочи: общий белок, сахар, кетоновые тела, нитриты, pH, билирубин, лейкоциты.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Изучение прибора для измерения мочи «Анализатор мочи».

2.11. Определение гормонов Т₃, Т₄, ТТГ для диагностики иодадефицита в организме животных.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Роль гормона тироксина в организме животных. Какие нарушения происходят при нарушении гормонального баланса. Какие методы используются при диагностике этого нарушения и пути коррекции.

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЗАНЯТИЯМ

3.1. Лабораторная работа. Изменение крови при различных патологических состояниях

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Общий анализ крови широко используется как один из самых важных методов обследования при большинстве заболеваний. Изменения, происходящие в периферической крови, неспецифичны, но в то же время отражают изменения, происходящие в целом организме.

Подготовка к исследованию: взятие крови проводят утром, натощак.

Материал для исследования: цельная венозная кровь (с ЭДТА).

Метод определения: автоматический счетчик крови Hemolux-19: подсчет форменных элементов и определение MCV по изменению импеданса; гемоглобин - цианметгемоглобиновый метод; гематокрит, MCH, MCHC - расчетные методы.

Сроки исполнения: 1 день.

Гемоглобин - дыхательный пигмент крови, участвующий в транспорте кислорода и углекислоты, выполняющий также буферные функции (поддержание pH). Содержится в эритроцитах (красные кровяные тельца крови). Состоит из белковой части - глобина - и железосодержащей порфириновой части - гема. Это белок с четвертичной структурой, образованной 4 субъединицами. Железо в геме находится в двухвалентной форме.

Физиологические формы гемоглобина: 1) оксигемоглобин (HbO_2) - соединение гемоглобина с кислородом образуется, преимущественно, в артериальной крови и придает ей алый цвет (кислород связывается с атомом железа посредством координационной связи); 2) восстановленный гемоглобин или дезоксигемоглобин (HbH) - гемоглобин, отдавший кислород тканям; 3) карбоксигемоглобин (HbCO_2) - соединение гемоглобина с углекислым газом; образуется, преимущественно, в венозной крови, которая вследствие этого приобретает темно-вишневый цвет.

Патологические формы гемоглобина: 1) карбгемоглобин (HbCO) - образуется при отравлении угарным газом (CO), при этом гемоглобин теряет способность присоединять кислород; 2) метгемоглобин - образуется под действием нитритов, нитратов и некоторых лекарственных препаратов (происходит переход двухвалентного железа в трехвалентное с образованием метгемоглобина- HbMet).

При цианметгемоглобиновом методе определения содержания гемоглобина в крови двухвалентное железо гемоглобина окисляется до трехвалентного железа метгемоглобина, затем метгемоглобин переводится в стабильный цианметгемоглобин цианидом. Таким образом, этим методом определяются все формы гемоглобина без их дифференцировки.

3.2. Лабораторная работа. Клинико-диагностическое значение определения белков плазмы крови методом электрофореза.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Белки – высокомолекулярные органические азотсодержащие соединения, состоящие более чем из 20 видов альфа-аминокислот. Условной границей между крупными полипептидами и белками служит молекулярная масса 8000-10000. Плазменные белки

синтезируются преимущественно в печени, клетках плазмы, лимфатических узлах, селезенке и костном мозге.

Белки плазмы крови

Альбумины:

Нормируемое значение 56.5 – 66.8 (На альбумин в сыворотке крови приходится приблизительно 60% общего белка. Альбумины синтезируются в печени (примерно 15г/сут), время их полураспада составляет примерно 17 дней. Онкотическое давление плазмы на 65-80 % обусловлено альбумином. Альбумины выполняют важную функцию транспортировки многих биологически активных веществ, в частности гормонов. Они способны связываться с ХС, билирубином. Значительная часть кальция в крови также связана с альбумином. Альбумины способны соединяться с различными ЛС.

Возможны как качественные, так и количественные изменения альбуминов плазмы крови. Качественные изменения альбуминов очень редки из-за гомогенного состава этой белковой фракции; количественные изменения проявляются гипер- и гипоальбуминемией.

Гиперальбуминемию наблюдают при дегидратации в случаях тяжелых травм, при обширных ожогах, холере.

3.3. Лабораторная работа. Качественные реакции на аминокислоты и белки (реакция Сакагучи, определение Биурета, реакция Фольга, нингидриновая реакция, pH белков, иэт).

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Роль аминокислот в организме животных.

3.4. Лабораторная работа. Качественный и количественный методы определения глюкозы.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Для количественного определения глюкозы используются следующие методы:

1. Редуктометрические. Основаны на свойстве сахаров восстанавливать соли тяжелых металлов в щелочной среде (титрометрический метод Хагедорна-Йенсена). Недостаток этих методов состоит в том, что они не специфичны, так как присутствующие в крови редуцирующие вещества, не являющиеся углеводами, также обладают восстанавливающими свойствами и полученные результаты включают всю сумму восстанавливающих соединений в крови. В связи с этим количество сахара в крови получается значительно выше истинного количества глюкозы. Однако этот метод сохраняет клиническое значение, поскольку разность между «каждущимся» сахаром крови и «истинной» глюкозой у одного и того же лица остается постоянной.

2. Колориметрические. Основаны на определении степени интенсивности окраски соединений, образующихся при взаимодействии глюкозы с определенным веществом (ортотолуидиновый метод). Метод специфичен и точен.

3. Энзиматические. Основаны на действии фермента глюкозооксидазы, окисляющей глюкозу до глюконовой кислоты кислородом воздуха (глюкозооксидазный метод). Этот метод специфичен и широко применяется в клинико-диагностических лабораториях.

3.5. Определение холестерина, триглицеридов, липазы в сыворотке крови.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Холестерин и его роль в организме животных.

3.6. Лабораторная работа. Особенности обмена минеральных веществ и витаминов в организме животных.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Значение минеральных веществ в организме животных

Для поддержания жизни, роста и проявления максимальной генетически обусловленной продуктивности животные должны получать все незаменимые питательные, минеральные и биологически активные вещества в определенных количествах и соотношениях.

Функция макро- и микроэлементов в организме разнообразна и важна в биохимии питания животных. Наряду со специфическими функциями большое значение минеральные вещества имеют в поддержании осмотического давления, буферной емкости жидкостей и тканей организма, нервного и мышечного возбуждения, регуляции катализитических процессов, проявлении иммунобиологической реактивности организма. Недостаток минеральных веществ в рационе отрицательно сказывается на степени минерализации скелета у животных, их здоровье, продуктивности, продолжительности жизни, функции воспроизведения.

В настоящее время при балансировании рационов учитывают следующие жизненно необходимые для свиней макроэлементы: кальций, фосфор, калий, натрий, хлор, магний, серу.

В организм животных кальций поступает с кормом и минеральными добавками в виде солей, содержится в основном в костях (97-99%) в виде фосфорнокислых и углекислых солей, и только в ядрах клеток данный элемент связан с органическими веществами. Богаты кальцием нервные клетки мозга, желез, особенно молочной. Соли кальция в плазме крови способствуют образованию фибрина и фибриногена, от чего зависит свертываемость крови. Кальций активизирует фермент протромбиназу, под действием которой протромбин превращается в активный тромбин, а также ферменты липазу, лецитиназу, актомиозинаденозинтрифосфатазу, фосфоглюкомутазу. Кальций участвует в регулировании мышечной и нервной деятельности, стабилизирует трипсин и тормозит функции энзимов и др.

Ионы кальция укрепляют защитные функции организма, понижая клеточную проницаемость и повышая фагоцитарную активность лейкоцитов.

Многочисленные исследователи отмечают положительное влияние кальция на продуктивность животных. Использование минеральной подкормки животным, обогащенной дикальцийфосфатом, способствует повышению переваримости питательных веществ корма, использования организмом азота, лучшему росту животных. Нарушение фосфорно-кальциевого обмена отрицательно сказывается на росте молодняка, оплодотворяемости, плодовитости, молочности маток и качестве семени производителей.

3.7. Лабораторная работа. Лабораторные методы исследования печени.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

К основным диагностическим методам, позволяющим своевременно выявить патологию печени, относят:

1. Лабораторное исследование (функциональные пробы печени, оценка ее метаболических возможностей, маркеры аутоиммунных заболеваний)
2. Визуальную оценку печени и ее сосудов, желчевыводящих путей (ультразвуковое исследование, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография и ангиография, радиоизотопное сканирование, эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография)
3. Морфологическое исследование печени (пункционная или лапароскопическая биопсия печени)

3.8. Определение активности ферментов АЛТ, АСТ, ЛДГ, глутамилтрансферазы, альфа-амилазы (липазы), щелочной фосфотазы в сыворотке крови

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Роль ферментов в организме животных.

3.9. Лабораторные методы исследования печени.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

При поступлении животного для исследования (биохимического) и соблюдении всех правил взятия крови и выдерживании животного на голодной диете, результаты исследования обязаны быть достоверными, то есть, отражать нормальные или патологические процессы в живом организме, учитывая, что живой организм является единым целым, и органы функционируют в совокупности, то и исследуемые показатели крови (отвечающие за деятельность того или иного органа) должны коррелировать (взаимозависеть) между собой. Соответственно, изменение одного из показателей, изменяет и другие.

3.10. Лабораторная работа. Биохимия мочи: общий белок, сахар, кетоновые тела, нитриты, pH, билирубин, лейкоциты.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Общий анализ мочи проводят в качестве контрольного исследования при лечении различных заболеваний для оценки эффективности терапии.

Общий анализ мочи состоит из нескольких исследований:

- органолептического (цвет, запах, пенистость, прозрачность мочи);
- физико-химического (определение плотности и кислотности мочи);
- биохимического (белок, глюкоза, кетоновые тела, билирубин, уробилиноген, гемоглобин);
- микроскопического (эритроциты, лейкоциты, эпителиальные клетки, цилиндры, соли);
- микробиологического (бактерии, грибы).

Основные показатели общего анализа мочи (расшифровка результатов анализа)

Цвет мочи

В норме моча имеет желтоватый оттенок за счет пигмента урохрома.

Цвет мочи может меняться:

- у здоровых людей при употреблении ярко окрашенных ягод, фруктов и овощей (черники, свеклы), некоторых лекарственных препаратов (фурагина, витаминов группы В);
 - красный цвет мочи может указывать на почечную колику или инфаркт почки;
 - моча становится цвета «мясных помоев» при остром гломерулонефrite;
 - желто-бурый оттенок мочи (цвет пива) свидетельствует о наличии желтухи (вирусного гепатита);
 - бледная водянистая моча бывает на фоне приема мочегонных средств, при несахарном диабете.

Запах

Как правило, моча имеет нерезкий, неспецифический запах.

Запах ацетона указывает на повышенное содержание кетоновых тел в моче (кетонурию).

Моча имеет мышиный запах при фенилкетонурии (нарушении метаболизма аминокислоты фенилаланина).

Пенистость

В норме при взбалтывании мочи образуется нестойкая, необильная, прозрачная пена.

Появление в моче белка приводит к образованию обильной, стойкой пены.

Прозрачность

У здоровых людей моча прозрачная.

При наличии в моче солей, эритроцитов, эпителия, лейкоцитов моча может становиться мутной.

Реакция мочи (кислотность, pH)

Обычная реакция мочи - слабокислая, допускается колебания pH мочи в промежутке 4,8-7,5.

pH повышается при некоторых инфекциях мочевыделительной системы, хронической почечной недостаточности, длительной рвоте, гиперфункции парашитовидных желез, гиперкалиемии.

Снижение pH бывает при туберкулезе, сахарном диабете, обезвоживании, гипокалиемии, лихорадке.

3.11. Лабораторная работа. Определение гормонов Т₃, Т₄, ТТГ для диагностики иодадефицита в организме животных.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:

Факторы, влияющие на результаты:

- для исследования половых гормонов, следует исключить прием эстрогенов перед сдачей крови за 3 дня,
- для исследования Т4 (тироксин), исключить препараты с йодом за месяц, препараты щитовидной железы за 2-3 дня,
- перед проведением анализа нужно исключить физические нагрузки и стресс,
- понижают уровень гормонов: анаболические стeroиды, прогестерон, глюкокортикоиды, дексаметазон, ампициллин и др.,
- повышают уровень гормонов: кетоконазол, фуросемид, ацетилсалициловая кислота.

Метод измерения: иммуноферментный анализ

ДИАГНОСТИКА патологии ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Показания для проведения эндокринной диагностики:

- Выраженная внеsezонная линька
- Выпадение или поредение шерсти (алопеции)
- Часто повторяющиеся экземы
- Зуд в отдельных местах или по всему телу (после исключения иных патологий сопровождающихся зудом: кожные паразиты, почечная или печеночная патология)
- Изменение цвета кожи на отдельных частях тела или генерализованно
- Сухая или жирная себорея
- Стойкие поражения кожи в виде корочек, папул или пустул, кальциноз кожи
- Поражения кожи на лапах с образованием свищей, мозолей, «разлизов»
- Кахексия или избыточный вес при адекватном кормлении
- Бесплодие сук и кобелей
- Недержание мочи у сук и кобелей
- Некоторые опухоли молочных желез