**Тема 4.2 Обмен холестерола и липопротеинов**

***Цель занятия***

- изучить обмен и функции холестерола;

- освоить качественный и количественный методы определения холестерола в сыворотке крови.

***Студент должен знать:***

- химическое строение холестерола, его биологическую роль и метаболизм.

***Студент должен уметь:***

- проводить качественные реакции на холестерол в сыворотке крови;

- определять количественно содержание холестерола в сыворотке крови.

***Необходимый исходный уровень.***

Из курса органической химии студент должен знать:

 - строение и свойства фосфолипидов, ТАГ, холестерола

**Вопросы для самоподготовки**

1. Холестерол, его структура и функции.
2. Биосинтез холестерола.
3. Катаболизм холестерола и образование желчных кислот.
4. Транспорт холестерола кровью. Роль ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП.
5. ЛХАТ - реакция и ее роль в метаболизме холестерола.

**Практическая часть занятия**

**Лабораторная работа 1**

***Качественные реакции на холестерол***

***а) Реакция Либермана- Бурхарда***

*Принцип метода*: холестерол при взаимодействии с уксусным ангидридом и концентрированной серной кислотой дает красное окрашивание, переходящее затем в синее и зеленое.

*Ход работы:* в пробирку вносят 5 капель хлороформного раствора холестерола, добавляют 1 каплю уксусного ангидрида и 1 каплю концентрированной серной кислоты.

*Результат:*

*Вывод:*

***б) Реакция Сальковского***

*Принцип метода*: под действием концентрированной серной кислоты происходит дегидратация холестерола, конденсация образовавшихся продуктов в виде непредельных углеводородов, соединяющихся с образованием окрашенных продуктов красного цвета.

*Ход работы:* в пробирку вносят 1 каплю 1% хлороформного раствора холестерола и добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты.

*Результат:*

*Вывод:*

**Лабораторная работа 2**

 ***Количественное определение холестерола в сыворотке крови энзиматическим методом***

*Принцип метода*: метод основан на использовании сопряженных ферментативных реакций, катализируемых холестеролэстеразой, которая осуществляет гидролиз эфиров холестерина, и холестеролоксидазой, которая превращает образующийся при гидролизе ХС в холестенон с образованием эквимолярного количества Н2О2. Последний под влиянием пероксидазы окисляет 4-аминоантипирин с образованием продуктов розово-малинового цвета.

*Ход работы:*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты (мл) | Опыт | Стандарт | Контроль |
| 1. дистил. Н2О | - | - | 0,05 |
| 2. сыворотка | 0,05 | - | - |
| 3. стандарт | - | 0,05 | - |
| 4. рабочий реактив | 2,5 | 2,5 | 2,5 |

Инкубируют 10 минут при 10-200 С, измеряют оптическую плотность опыта и стандарта против контроля при 560-590 нм (зеленый светофильтр).

Расчет: концентрация ХС (ммоль/л) в сывортке крови= Еоп / Ест \* С ст, где С ст равна 5,17 ммоль/л

 В норме содержание ХС в сывортке крови составляет 5,2 + 1,3 ммоль/л

*Результат:*

*Вывод:*

**Практическая значимость работы**

Определение содержания холестерола используется для оценки липидного состава биомембран, а также для диагностики ряда заболеваний, главным образом для выявления атеросклероза, заболеваний печени.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Дать ответы на следующие вопросы:
	1. Почему гидрофобное вещество – холестерол - в желчи присутствует в растворенном состоянии?
	2. Какие препараты обладают гипохолестеринемическим и гиполипопротеинемическим действием?

***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 3 т. Т.2: Биоэнергетика и метаболизм / Д.Нельсон, М Кокс; пер. с анг. -М.: Бином. Лабораторные знания, 2014. -636с.
3. Климов, А.Н. Липиды, липопротеиды и атеросклероз / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева.- Спб.: Питер Пресс, 1999.-512 с.
4. Холодова, Ю.Д. Липопротеины крови/ Ю.Д. Холодова, П.П. Чаяло.-Киев.-1990.- с.