

Министерство образования Республики Беларусь  
Учреждение образования  
«Международный государственный экологический  
университет имени А. Д. Сахарова»



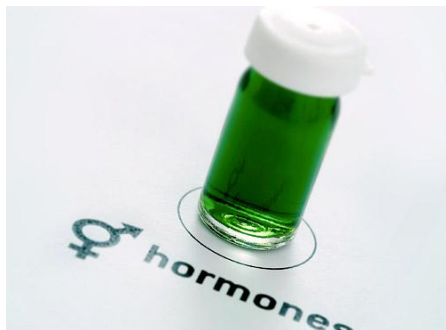
---

Факультет экологической медицины  
Кафедра экологической медицины и радиобиологии

**В. Д. Свирид**

**ПРАКТИКУМ ПО ДИСЦИПЛИНЕ  
«ЭНДОКРИНОЛОГИЯ»**

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ



Минск  
2011

УДК 616.4+612.018  
ББК 28.91  
С24

*Рекомендовано к изданию НМС МГЭУ им. А.Д.Сахарова  
(протокол № 2 от 18 октября 2011 г.)*

**Автор:**

*В. Д. Свирид*, доцент кафедры экологической медицины и радиобиологии  
МГЭУ им. А. Д. Сахарова, к.б.н.

**Рецензенты:**

профессор Института физиологии НАН Республики Беларусь, д.б.н. *Калюнов В. Н.*;  
доцент кафедры экологической медицины и радиобиологии  
МГЭУ им. А. Д. Сахарова, к.б.н. *Синелева М. В.*

**С24 Свирид, В. Д.**

Практикум по дисциплине «Эндокринология»: учебно-методическое пособие / В. Д. Свирид. – Минск : МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2011. – 32 с.

ISBN 978-985-551-021-6.

Предназначено для студентов и магистрантов специальностей «Медико-биологическое дело» и «Медицинская экология». Пособие может быть использовано студентами биологических и медицинских факультетов высших учебных заведений.

**УДК 616.4+612.018  
ББК 28.91**

**ISBN 978-985-551-021-6**

© Свирид В. Д., 2011  
© Международный государственный  
экологический университет  
имени А. Д. Сахарова, 2011

## Содержание

### **Лабораторная работа № 1**

Иммунологические методы анализа гормонов.....4

### **Лабораторная работа № 2**

Гормон мозгового слоя надпочечников адреналин.....14

### **Лабораторная работа № 3**

Гормоны щитовидной железы.....21

Список литературы.....30

## **Лабораторная работа № 1**

### **Иммунологические методы анализа гормонов**

**Цель работы:** рассмотрение основных принципов иммунологических методов, обучение методике экспериментального определения гормонов с помощью этих методов.

#### **Основные принципы методов связывания**

Создание радиоиммунологического метода является одним из наиболее важных достижений в развитии биологических методов исследования. Он произвел революцию в эндокринологии. После были разработаны иммуоферментные и иммуофлуоресцентные методы. Их основа – принцип связывания лиганда со связующим агентом. Популярность рассматриваемых методов обусловлена рядом причин:

- 1) иммунологический метод более чувствителен, специфичен и прост, чем классические биологические методы;
- 2) он позволяет определять содержание веществ, для которых ранее не существовало способов определения;
- 3) радиоиммунологический и родственные ему методы образуют в совокупности единую систему, позволяющую проводить определение неограниченно широкого круга веществ;
- 4) данные методы несложны и универсальны в выполнении и не требуют высокой квалификации экспериментатора.

Во всех методах используется комбинация двух веществ, одно из которых называют связывающим агентом, а другое – лигандом (его количество измеряют). Для обозначения всей группы методов больше всего подходит название «методы связывания». Под это определение подходит любой метод, в котором количественное определение какого-то вещества основано на постепенном насыщении специфического (для этого метода) связывающего агента этим веществом и последующем измерении его распределения между свободной и связанной фазами. Процесс связывания – общий принцип, на котором основаны все методы данной группы. Природа связывающего агента и способ разделения свободной и связанной фаз могут быть разными. Наиболее широко распространена классификация методов связывания, учитывающая природу используемого связывающего агента. В иммунологическом методе в качестве связывающего агента используются антитела, в методе конкурентного связывания – белки плазмы, специфически связывающие гормоны, в рецепторном методе – белки природных клеточных рецепторов. Для определения соотношения между количествами свободного и связанного лиганда проводят разделение свободной и связанной фаз при помощи физико-химических методов и судят о распределении

по относительному содержанию в каждой из фаз меченого лиганда, представляющего собой очень малые количества лиганда, меченого радиоактивными изотопами, ферментами или флуоресцентным зондом.

Существует три основных вида методов анализа биологически активных веществ: биологические, физико-химические и методы связывания. Методы связывания могут предназначаться для измерения как связывающих агентов, так и лигандов. Для определения лиганда можно использовать связывающие агенты трех различных типов, каждый из которых можно применять в сочетании с одним из указанных ниже видов метки. При любом сочетании перечисленных компонентов на последнем этапе должно быть проведено разделение свободного и связанного лиганда.

Следует отметить, что ни одна из перечисленных черт не является обязательной в методе связывания. Меченым может быть не только лиганд, но и связывающий агент (присутствует в иммунорадиометрическом методе). Меткой не обязательно должен быть радиоактивный изотоп. В качестве ее можно использовать любое вещество, которое измерено в очень малых количествах: флуоресцирующее соединение (иммунофлуоресцентный метод) или фермент (иммуноферментный метод).

Основные принципы методов связывания довольно просты. Предположим, что обсуждается радиоиммунологический метод, в котором в качестве связывающего агента используются антитела, а в качестве лиганда – антиген. Однако в основе любого другого метода, подходящего под категорию связывающих, лежат те же принципы. Принцип радиоиммунологического метода представлен на рис. 1. На нем показано связывание антигена с антителом в присутствии различных суммарных количеств антигена.

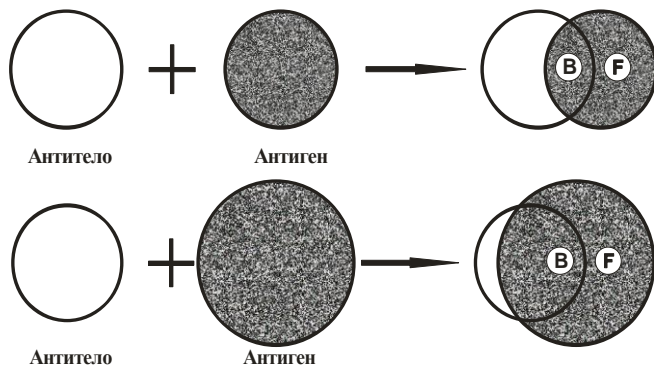
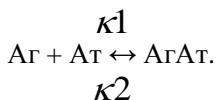


Рис. 1. Основной принцип метода связывания, рассмотренный на примере радиоиммунологического анализа

Допустим, что антиген с антителом в определенных количествах (вверху) взаимодействуют друг с другом, образуя комплекс антиген–антитело. В состоянии равновесия в системе будет содержаться этот комплекс (перекрывающаяся зона В) и некоторое количество свободного антитела и свободного антигена (зона F). Теперь количество антитела остается прежним, а количество антигена увеличивается (внизу). В состоянии равновесия количество комплекса антиген–антитело (зона В) увеличится, но и количество свободного антигена (зона F) увеличится в большей степени, а отношение связанного антигена к свободному уменьшится.

Распределение антигена между связанной и свободной фазами находится в прямой зависимости от общего количества присутствующего антигена, что позволяет определять его количество. Чтобы лучше понять принцип метода связывания, обратимся к представлению об обратимых реакциях между антигеном и антителом с образованием комплекса антиген–антитело:



Через  $k_1$  в уравнении обозначена константа скорости прямой реакции (связывание антигена с антителом, образующее комплекс), а через  $k_2$  – константа скорости обратной реакции (диссоциация комплекса антиген–антитело). Следует отметить, что  $k_1$  и  $k_2$  – константы, т. е. показывают, какая доля молекул вступает в реакцию в единицу времени. Абсолютная скорость – общее число молекул, реагирующих в единицу времени – будет зависеть от концентрации молекул. Когда после добавления антигена и антитела начинается процесс связывания, скорость прямой реакции будет высокой, а скорость обратной реакции – низкой.

Концентрации свободных Ag и At в процессе реакции будут снижаться, скорость прямой реакции будет падать. Одновременно с этим концентрация комплекса Ag–At и скорость обратной реакции будут увеличиваться. В итоге наступит такое состояние, когда количество свободных молекул Ag и At, реагирующих в единицу времени с образованием комплекса Ag–At, будет равно количеству молекул комплекса AgAt, которые за это время диссоциируют.

В состоянии равновесия дальнейшего изменения концентрации молекул в обеих частях уравнения происходить не будет. До установления равновесия проходит достаточно много времени в большинстве радиоиммунологических методов.

Вывод: при неизменном количестве связывающего агента и заданной величине констант скорости прямой и обратной реакции отношение связанного лиганда к свободному в состоянии равновесия будет находиться в количественной зависимости от суммарного количества присутствующего лиганда. В этом и состоит основной принцип всех методов связывания.

Вопросы о меченом лиганде, стандартах образцов и способах разделения свободной и связанной фаз являются не определяющими, а второстепенными по сравнению с основным принципом метода. Зачастую меченый лиганд бывает совершенно идентичен немеченому лиганду не только в свободном виде, но и в составе комплекса со связывающим агентом. В этих условиях конечное распределение лиганда между свободной и связанной фазами будет определяться общим количеством лиганда и не зависеть от соотношения между количеством меченого и немеченого лиганда. Метку применяют потому, что ее использование дает удобный в техническом отношении способ измерения распределения лиганда между свободной и связанной фазами. В большинстве методов связывания меченый и немеченый лиганд имеют одинаковую возможность связываться со связывающим агентом. Конечный результат зависит от общего количества присутствующих молекул лиганда.

Непринципиальным является вопрос о стандартах, в качестве которых может быть использован набор растворов очищенного гормона (разных концентраций), по которым можно судить о его количестве в неизвестной пробе. Еще один фактор методического характера, не имеющий отношения к основному принципу, – это разделение свободной и связанной фаз и определение в них количества меченого лиганда.

**Калибровочные кривые.** Для построения калибровочной кривой подбирают такую концентрацию связывающего агента, при которой связывается приблизительно 50 % меченого лиганда. Очевидно, что дальнейшее добавление лиганда должно приводить к значительно большему увеличению меченого лиганда в свободной фазе по сравнению со связанной. Если выбрана более высокая концентрация связывающего агента, то потребуются значительно большее количество лиганда, чтобы вызвать заметный сдвиг в свободной и связанной фазах. В конечном счете чувствительность метода будет снижена.

Для построения калибровочной кривой проводят инкубацию фиксированных количеств меченого лиганда и связывающего агента с различными концентрациями чистого немеченого лиганда. Кривая, построенная в координатах (процент связанной метки – логарифм серийных разведений лиганда), в этом случае имеет сигмоидный характер (рис. 2). Верхняя часть кривой малому количеству немеченого лиганда, которое вызывает относительно небольшие сдвиги в распределении метки между свободной и связанной фазами.

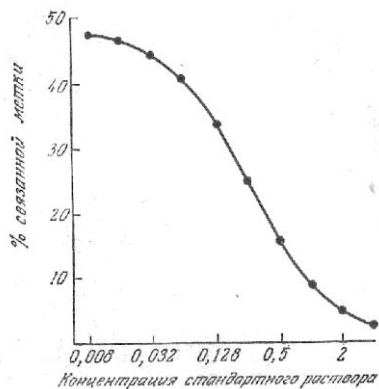


Рис. 2. Калибровочная кривая

Фиксированное количество меченого лиганда и связывающего агента инкубируют со стандартными растворами немеченого лиганда различной концентрации (ось абсцисс). По мере увеличения концентрации стандарта процент связанной метки (ось ординат) постепенно уменьшается. Однако по мере уменьшения процента связанного лиганда его общее количество (меченый + немеченый лиганд) в действительности увеличивается.

В нижнем участке кривой соотношение между суммарными концентрациями лиганда и связывающего агента таково, что большая часть лиганда находится в свободной форме. Между этими положениями есть интервал концентраций лиганда, в пределах которого относительно небольшие изменения вызывают значительные сдвиги в распределении лиганда между свободной и связанной фазами. В случае примера, представленного на рис. 2, этот интервал расположен между 0,032 и 2. Наиболее **прямая часть кривой** соответствует интервалу, в котором определение может быть эффективным.

Построение калибровочной кривой – основное условие количественного определения лиганда в исследуемом образце. Если вместо стандарта взять исследуемый образец и использовать те же фиксированные концентрации связывающего агента и метки, то найденное распределение метки между связанной и свободной фазами будет соответствовать некой величине на горизонтальной оси калибровочной кривой. Определить эту величину можно путем простой экстраполяции (рис. 3).



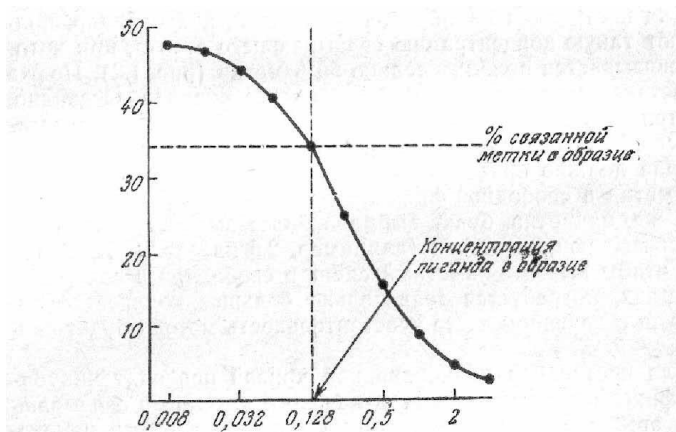


Рис 3. Определение количества лиганда в неизвестном образце с помощью калибровочной кривой

Анализируемый образец инкубируют с растворами связывающего агента и метки известной концентрация. Количество связанного меченого лиганда в анализируемом образце составляет около 34 %, что соответствует количеству стандарта 0,128. Эта величина и есть концентрация лиганда в анализируемом образце.

### Практическая часть

**Задание:** построение калибровочной кривой для определения кортизола.

**Материалы и оборудование:** пробирки для РИА анализа, набор для определения кортизола, пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, гамма-счетчик, прибор для встряхивания пробирок, вихревой смеситель, штатив для пробирок, водоструйный насос и дистиллированная вода.

Лабораторная работа выполняется с использованием набора для радиоиммунного определения кортизола РИА-КОРТИЗОЛ-СТ. Он предназначен для количественного определения кортизола в сыворотке крови человека методом радиоиммунологического анализа.

Количественное определение кортизола необходимо для диагностики нарушений в системе гипоталамус–гипофиз–надпочечники и контроля за эффективностью проведения лечебных мероприятий. Особое значение имеет определение кортизола в сыворотке крови при таких эндокринных заболеваниях, как синдром Иценко-Кушинга, болезнь Аддисона и др.

Состав набора:

[<sup>125</sup>I]-кортизол – жидкий препарат, готовый к использованию, 1 флакон, 55 мл, общая активность – 70–150 кБк;

пробирки полистирольные с иммобилизованными моноклональными антителами к кортизолу, 100 шт.;

калибровочные пробы на основе сыворотки крови человека, содержащие известные количества кортизола в диапазоне концентраций 0–1600 нмоль/л (точные концентрации кортизола в калибровочных пробах указаны на этикетках флаконов), жидкие или лиофилизованные препараты, 6 флаконов;

контрольная сыворотка (КС), лиофилизованный препарат, 1 флакон.

Набор РИА-КОРТИЗОЛ-СТ рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных проб, 1 пробы КС и 6 калибровочных проб, а также 1 пробы общей активности [<sup>125</sup>I]-кортизола.

В аналитической пробирке, содержащей компоненты набора и образец сыворотки крови, во время инкубации устанавливается равновесие между [<sup>125</sup>I]-кортизолом и эндогенным кортизолом анализируемого образца сыворотки крови с антителами, иммобилизованными на стенках пробирки. Количество связанного антителами [<sup>125</sup>I]-кортизола находится в обратной зависимости от концентрации кортизола в анализируемом образце. Разделение свободного и связанного антителами кортизола осуществляют удалением инкубационной среды из пробирок с помощью водоструйного насоса.

Перед использованием выдержать компоненты набора при комнатной температуре 18–25 °С в течение 30–40 мин.

Во флаконы, содержащие калибровочные пробы и КС, внести по 0,5 мл дистиллированной воды. Перемешать до полного растворения препаратов без образования пены. Схема анализа приведена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Пробирки (в дубликатах)	Характеристики объема компонентов		
	Калибровочные пробы, мл	Контрольная сыворотка или исследуемые образцы, мл	[ <sup>125</sup> I]- кортизол
T	–	–	0,05
B <sub>0</sub> –B <sub>5</sub>	0,05	–	0,05
B <sub>КС</sub>	–	0,05	0,05
B <sub>X</sub>	–	0,05	0,05

Таблица 2

Пробирки (в дубликатах)	Последовательность операций		
	Т	Содержимое пробирок перемешать на вихревом смесителе и инкубировать при температуре 20–25 °С в течение 1 ч при постоянном встряхивании	Из всех пробирок, кроме № 1 полностью, удалить содержимое
В <sub>0</sub> — В <sub>5</sub>			
В <sub>КС</sub>			
В <sub>Х</sub>			

Аналитические пробирки поместить в штатив и каждую пару пробирок промаркировать обозначением той величины, для измерения которой они предназначены:

Т – для определения общей активности [<sup>125</sup>I]-кортизола в пробирке;

В<sub>0</sub>–В<sub>5</sub> – для построения калибровочной кривой;

В<sub>КС</sub> – для пробирок с КС;

В<sub>Х</sub> – для исследуемых образцов.

Отобрать из каждого флакона с калибровочными пробами по 0,05 мл сыворотки и внести в пробирки В<sub>0</sub> – В<sub>5</sub>. Из флакона с контрольной сывороткой отобрать по 0,05 мл в пробирки В<sub>КС</sub>, пробирки В<sub>Х</sub>, внести по 0,05 мл анализируемой сыворотки крови пациентов.

Во все пробирки внести по 0,5 мл раствора [<sup>125</sup>I]-кортизола. Содержимое перемешать на вихревом смесителе. Инкубировать все пробирки при температуре 20–25 °С в течение 1 ч при постоянном встряхивании (не менее 300 встряхиваний в мин.).

Из них полностью удалить содержимое, кроме Т, с помощью водоструйного насоса.

Поместить их в гамма-счетчик и измерить скорость счета [<sup>125</sup>I]-кортизола в каждой пробирке в течение 1 мин.

**Расчеты и графические построения.** Найти среднее арифметическое значение скорости счета [<sup>125</sup>I]-кортизола для каждой пары проб.

Рассчитать соотношение В<sub>0</sub>/Т, в процентах, где Т – общая активность [<sup>125</sup>I]-кортизола, измеряемая средней скоростью счета в пробирке Т; В<sub>0</sub> – средняя скорость счета в пробирках, содержащих калибровочную пробу С<sub>0</sub>. Значение В<sub>0</sub>/Т должно быть не менее 50 %.

Рассчитать соотношение В<sub>Х</sub>/В<sub>0</sub> в процентах для каждой пары пробирок калибровочных, контрольной и неизвестных проб, где В<sub>Х</sub> – средняя скорость счета в рассматриваемых пробирках.

В полулогарифмических координатах (ось абсцисс – логарифмическая, ось ординат – в координатах *logit log*) построить график зависимости  $V_X/V_0$  (ось ординат) от концентрации кортизола (ось абсцисс) в калибровочных пробах.

Для неизвестных и контрольной проб сыворотки крови на основании соответствующих значений  $V_X/V_0$  в процентах по калибровочному графику определить содержание кортизола. Для перевода молярной концентрации кортизола в массовую следует пользоваться соотношением:  $\text{мкг/л (нг/мл)} = \text{нмоль/л} \times 0,362$ .

**Аналитические характеристики набора.** Специфичность. Перекрестная реакция антисыворотки со структурными аналогами кортизола приведена в табл. 3.

Таблица 3

Исследуемые вещества	Перекрестная реакция, %
кортизол	100
11-дезоксикортизол	0,9
кортикостерон	0,6
дезоксикортикостерон	0,06
преднизолон	5,2
прогестерон	0,07
тестостерон	0,08
эстрадиол	0,07
эстриол	0,07
эстрон	0,04
даназол	0,005

Чувствительность анализа. Минимальная достоверно определяемая концентрация кортизола составляет 10 нмоль/л.

Воспроизводимость результатов. Коэффициент вариации при измерении кортизола в образцах сыворотки крови не превышает 8 %.

Точность. «Открытие» стандартной добавки кортизола в образцах сыворотки крови с известным содержанием эндогенного гормона составляет 90–110 %.

Клиническая проверка. Секретция кортизола имеет циркадный ритм с максимальным выбросом гормона в утренние часы и снижением уровня в течение дня. Диапазон концентрации кортизола в сыворотке крови здоровых лиц: 260–720 нмоль/л утром и 50–350 нмоль/л днем.

**Условия хранения и применения набора.** Набор РИА-КОРТИЗОЛ-СТ должен храниться при температуре 2–8 °С. Компоненты, подготовленные к работе, могут храниться при температуре 2–8 °С в течение 3 сут.

При вскрытии и растворении лиофилизированных компонентов набора необходимо следить, чтобы на пробках не осталось сухого вещества.

Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную мутную сыворотку крови. Определяемые образцы можно хранить при температуре минус 20 °С в течение 3 мес.

### **Форма отчетности**

Результаты измерений занести в таблицу, построить по ним калибровочную кривую, определить концентрацию кортизола в неизвестных образцах.

### **Контрольные вопросы**

1. Какие преимущества иммунологических методов определения биологически активных веществ?
2. На каком принципе основаны иммунологические методы?
3. Какие компоненты составляют инкубационную смесь при построении калибровочной кривой?
4. Какие стадии необходимо осуществить при выполнении иммунологического метода?
5. В каких координатах может строиться калибровочная кривая?
6. Как по калибровочной кривой определить концентрацию лиганда в пробах биологического материала?

## Лабораторная работа № 2

### Гормон мозгового слоя надпочечников адреналин

**Цель работы:** изучение структуры и функции катехоламинов в организме и освоение химических методов определения адреналина.

#### Структурно-функциональная организация мозгового вещества надпочечников, его патологии

Мозговое вещество надпочечников и симпатическая нервная система – производные нервного гребешка: у них нейроэктодермальное происхождение, они служат местом образования катехоламинов, к которым относят дофамин, норадреналин и адреналин. Биосинтез этих низкомолекулярных веществ происходит в хромоаффинных клетках мозгового слоя надпочечника, ЦНС и адренергических симпатических волокнах постганглионарных нейронов. Катехоламины являются нейротрансмиттерами, которые опосредуют функцию ЦНС и симпатической нервной системы, принимая основное участие в регуляции функции сердечно-сосудистой системы. Исходный продукт для образования катехоламинов – тирозин, который посредством ряда преобразований под действием ферментов превращается в адреналин.

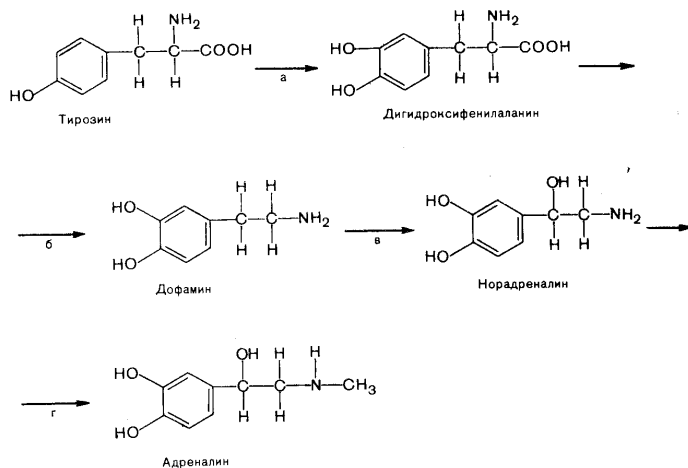


Рис. 4. Схема синтеза катехоламинов:  
а – тирозингидроксилаза, б – ДОФА-декарбоксилаза, в – дофамин-β-оксидаза,  
г – норадреналин-N-метилтрансфераза

Сначала происходит гидроксилирование тирозина с образованием дигидроксифенилаланина (ДОФА). Он является предшественником ка-

техоламинов, не обладает биологической активностью, но легко проникает через гематоэнцефалический барьер. Образование ДОФА происходит при участии фермента тирозингидроксилазы (а), которая выявляется в мозговом веществе надпочечников, ЦНС и тканях, иннервируемых симпатической нервной системой. Активность тирозингидроксилазы и гидроксилирование тирозина – это основные звенья в биосинтезе катехоламинов, лимитирующих его скорость. Накопление фенилаланина и его метаболитов угнетает активность тирозингидроксилазы, поэтому при фенилкетонурии синтез катехоламинов снижен. Посредством ДОФА-декарбоксилазы (б) ДОФА превращается в дегидроксифенилэтиламин (дофамин), который при участии дофамин-β-оксидазы (в) преобразуется в норадреналин, а он под действием норадреналин-N-метилтрансферазы (г) превращается в адреналин.

Установлено, что гидроксилирование тирозина с образованием ДОФА происходит в митохондриях хромаффинных клеток. Декарбоксилирование ДОФА и образование дофамина осуществляются в цитоплазме клетки, где в растворенном виде присутствуют ДОФА-декарбоксилаза и другие ферменты, необходимые для этого этапа в биосинтезе катехоламинов. Дофамин попадает в гранулы клеток или терминали аксонов и в присутствии дофамин-β-оксидазы превращается в норадреналин. Далее норадреналин в хромаффинных клетках превращается в адреналин.

Катехоламины в хромаффинных клетках локализуются в гранулах, которые служат резервуаром, местом их биосинтеза и высвобождения. Кроме катехоламинов, гранулы содержат липиды, нуклеотиды (АТФ), белки, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ . В гранулах мозгового вещества надпочечников содержится 80 % адреналина и 20 % норадреналина. Секреция катехоламинов осуществляется путем экзоцитоза, при этом содержимое гранул «изливается» во внеклеточное пространство.

Гранулы выполняют следующие специфические функции: поглощают дофамин из цитоплазмы клетки и конвертируют его в норадреналин; являются местом «складирования» адреналина и норадреналина, предохраняют их от воздействия моноаминоксидазы, разрушения и в ответ на нервную стимуляцию высвобождают катехоламины в кровь. При этом гранулы функционируют как тканевые буферные системы для катехоламинов. Эту функцию можно сравнить с функцией транспортных белков сыворотки крови для тиреоидных гормонов и кортикостероидов.

В окончаниях симпатических нервных волокон выявляются гранулы, содержащие лишь норадреналин. Аналогичные гранулы обнаружены и в ганглиях симпатической нервной системы. Норадреналин найден в головном и спинном мозге, наибольшая концентрация – в области ги-

поталамуса. Содержание адреналина в этих областях незначительно. Около 80 % содержащегося здесь норадреналина локализуется в нервных окончаниях. Следует отметить, что около 50 % катехоламинов, содержащихся в области гипоталамуса и других базальных ганглиях головного мозга, приходится на дофамин.

Высвобождение катехоламинов как из мозгового вещества надпочечников, так и из окончаний симпатической нервной системы происходит под влиянием различных физиологических стимуляторов: стресс, физическая и психическая нагрузка, повышение уровня инсулина в крови, гипогликемия, гипотония и др. Этот процесс реализуется при участии ионов  $Ca^{2+}$ . Поступающие в кровь катехоламины достигают периферических тканей, где накапливаются, метаболизируются и затем экскретируются с мочой. Накапливание катехоламинов в тканях прямо пропорционально иннервации тканей симпатической нервной системы.

Инактивация катехоламинов происходит с участием двух ферментных систем: катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ) и моноаминоксидазы (МАО). КОМТ – это внутриклеточный фермент, который локализуется в цитоплазме. Считается, что около 50 % КОМТ находится в синапсосамах центральной и периферической нервной системы, а остальная часть (50–55 %) приходится на другие органы: печень, почки, кишечник, селезенку, слюнные железы, аорту, матку, жировую ткань, эритроциты (рис. 5).



Рис. 5. Метаболизм и экскреция с мочой катехоламинов. МАО – моноаминоксидаза, КОМТ – катехол-О-метилтрансфераза

МАО широко представлена в тканях организма (печень, почки, желудок, кишечник, нервная ткань, головной мозг, сердце, половые же-



лезы, надпочечники, тромбоциты) и локализуется на наружной мембране митохондрий. В мозговом веществе надпочечников большая часть МАО располагается в митохондриях и лишь незначительное ее количество выявляется в гранулах хромаффинных клеток.

Влияние катехоламинов на клеточном уровне опосредуется через адренергические рецепторы, которые можно представить как мембраносвязанные макромолекулы, специфически реагирующие с катехоламинами, находящимися во внеклеточной жидкости. В результате такого взаимодействия инициируются внутриклеточные процессы, приводящие к физиологическому эффекту. Различают  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренергические рецепторы.  $\alpha$ -Адренергические вещества вызывают сужение периферических сосудов, расширение зрачка и увеличение потоотделения, в то время как  $\beta$ -адренергические вещества – расширение сосудов, бронхов, снижение перистальтики желудочно-кишечного тракта, а также оказывают ино- и хронотропное стимулирующее влияние на сердце. Кроме того  $\beta$ -адренергические рецепторы подразделяются на  $\beta_1$ , опосредующие стимуляцию сердца и липолиз жира, и  $\beta_2$ , которые осуществляют расширение бронхов и сосудов, опосредуют гликогенолиз в печени. Адреналин и норадреналин являются равнозначными агонистами для  $\beta_1$ -рецепторов, а норадреналин – слабым агонистом для  $\beta_2$ -рецепторов.

$\alpha$ -Адренергические рецепторы контролируют высвобождение катехоламинов из окончаний симпатических нервов и подразделяются на два вида:  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -рецепторы. В постсинаптических окончаниях локализуются преимущественно  $\alpha_1$ -рецепторы,  $\alpha_2$ -рецепторы расположены в пресинаптических окончаниях.

Стимуляция функций желудочно-кишечного тракта и сердца – результат активации  $\alpha$ - и  $\beta$ -рецепторов.

Катехоламины принимают участие в регуляции секреции гормонов. Через  $\beta$ -рецепторный механизм они стимулируют высвобождение глюкагона, ренина, гастрина, паратгормона, кальцитонина, инсулина и тиреоидных гормонов, однако через  $\alpha$ -рецепторный механизм угнетают секрецию инсулина.

В последние годы обнаружено наличие третьего типа адренергических рецепторов – дофаминергических, отвечающих на дофамин, но не на другие катехоламины. Они выявлены в ЦНС (гипоталамус и другие области), в сосудах почек. Гипоталамус модулирует функцию передней доли гипофиза посредством гипоталамических гормонов и катехоламинов.

$\beta$ -Адренергическое влияние опосредуется через стимуляцию мембраносвязанного фермента аденилатциклазы, увеличение цАМФ («вторичный мессенджер») и взаимодействие специфических цАМФ-

зависимых протеинкиназ, фосфорилирование специфических белков. Стимуляция  $\alpha_2$ -адренергического рецептора сопровождается ингибированием гуаниннуклеотидного регуляторного белка, что приводит к снижению активности каталитической субъединицы аденилатциклазы и уменьшению образования цАМФ.

$\alpha_1$ -Адренергическое влияние опосредуется кальцийполифосфоинозитидной системой. Комплексообразование гормона (катехоламинов) с этим рецептором приводит к активизации данной системы и образованию двух мессенджеров – диацилглицерина и инозитолтрифосфата. Последний способствует повышению содержания внутриклеточного кальция, а диацилглицерин активирует специфические протеинкиназы, фосфорилирующие определенные ферменты, что проявляется различными биологическими эффектами. Дофаминергические влияния, как и  $\beta$ -адренергические, опосредуются цАМФ.

Катехоламины влияют на обмен веществ посредством увеличения скорости утилизации энергии и повышения мобилизации энергетических запасов для использования их в тканях. Стимуляция обменных процессов сопровождается повышенным образованием тепла (термогенез), увеличивается потребление кислорода. Наличие достаточного количества источников энергии обеспечивается стимуляцией гликогенолиза и липолиза. Дополнительно к прямому действию катехоламины оказывают большое влияние на обмен веществ и через поджелудочную железу:  $\alpha$ -рецепторный – снижается секреция инсулина,  $\beta$ -рецепторный механизм – стимулируется «высвобождение» глюкагона.

Под влиянием катехоламинов стимулируются процессы глюконеогенеза в печени. Они осуществляются благодаря активации  $\alpha$ -адренергических рецепторов. Следовательно, биологическое значение катехоламинов в организме велико.

Феохромоцитома – одна из причин артериальной гипертонии. Эта опухоль встречается примерно у 1 % больных с постоянно повышенным диастолическим АД и поддается хирургическому лечению. Нередко феохромоцитома остается невыявленной, поэтому высок риск тяжелых сердечнососудистых нарушений (до смертельного исхода).

Феохромоцитома – доброкачественная опухоль, происходящая из хромаффинных клеток симпатoadреналовой системы. В 90 % случаев феохромоцитомы возникают в мозговом веществе надпочечников, 8 % – в аортальном поясничном параганглии. Гораздо реже опухоли локализуются вне надпочечников: менее 2 % – в брюшной и грудной полостях, менее 0,1 % – в области шеи.

Феохромоцитома может возникнуть в любом возрасте, наиболее часто – между 20 и 40 годами. Частота феохромоцитом у взрослых муж-

чин и женщин одинакова, однако среди больных детей 60 % – мальчики. В 10 % заболевание имеет наследственный характер, причем у 70 % больных выявляются двусторонние опухоли. Злокачественными бывают менее 10 % феохромоцитом. Они располагаются вне надпочечников и секретируют дофамин.

Самый надежный способ лечения феохромоцитомы – ее удаление. Однако перед операцией необходимо стабилизировать АД с помощью блокаторов  $\alpha$ - и  $\beta$ -рецепторов.

### Практическая часть

**Задание.** Обнаружение катехоламинов по их окисленным продуктам.

Адреналин и норадреналин образуются из аминокислоты тирозина и являются производными пирокатехина. Присутствие в их структуре пирокатехинового кольца определяет химические свойства гормонов. Они легко окисляются в нейтральных растворах с образованием красного пигмента – адренохрома, который при дальнейшей полимеризации образует меланины.

**Ход работы:**

#### 1. Реакция с хлоридом железа (III)

**Принцип реакции.** При добавлении к раствору адреналина хлорида железа (III) жидкость окрашивается в изумрудно-зеленый цвет вследствие образования комплексного соединения типа фенолята железа (рис. 6).

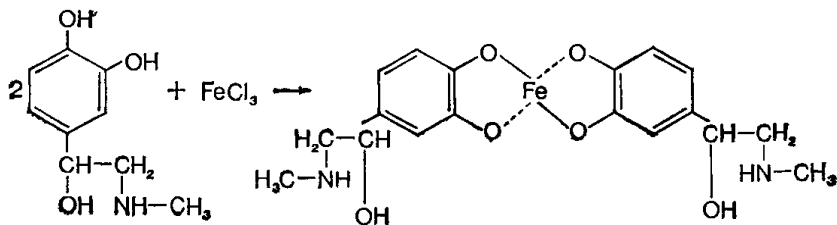


Рис. 6. Реакция адреналина с хлоридом железа (III)

Адреналин обладает слабощелочной реакцией, легко окисляется на воздухе с образованием аденохрома, поэтому раствор окрашивается в красный цвет.

**Материалы и реактивы:** раствор адреналина (1 : 100), 1 %-ный раствор хлорида железа (III), 10 %-ный раствор гидроксида натрия.

В пробирку вносят 3 капли раствора адреналина (1 : 100) и 1 каплю 1 %-го раствора хлорида железа (III). Появляется изумрудно-зеленое окрашивание, которое при добавлении гидроксида натрия приобретает темно-коричневый цвет. Реакция обусловлена тем, что пирокатехиновое кольцо образует с ионами железа (III) соединения феноляты.

## 2. Реакция с йодатом калия

**Принцип реакции.** Адреналин в кислой среде с йодноватокислым калием образует соединение красно-фиолетового цвета.

**Материалы и реактивы:** раствор адреналина (1 : 100), 10 %-ный  $KJO_3$ , 10 %-ная уксусная кислота.

В пробирку вносят 2–3 капли раствора 10 %-ного  $KJO_3$  и 2 капли раствора уксусной кислоты. Смесь перемешивают и слегка нагревают. Жидкость окрашивается в красно-фиолетовый цвет. Окраска обусловлена образованием азокрасителя.

### Форма отчетности

Заполните таблицу:

Гормон	Место синтеза	Химическое строение	Качественная реакция	Механизм реакции	Наблюдаемое окрашивание
адреналин					

### Контрольные вопросы

1. Дайте характеристику структуры адреналина и норадреналина.
2. Где синтезируются катехоламины?
3. Какое вещество является предшественником катехоламинов?
4. Приведите схему синтеза катехоламинов.
5. Как утилизируются катехоламины?
6. Каким образом катехоламины действуют на орган-мишень?
7. Какие эффекты оказывают катехоламины на различные органы и ткани?
8. Охарактеризуйте патологии мозгового вещества надпочечников.

## **Лабораторная работа № 3**

### **Гормоны щитовидной железы**

**Цель работы:** изучение структуры и функции тироидных гормонов в организме и освоение химических методов определения тироксина по содержанию йода.

#### **Структурно-функциональная организация щитовидной железы, ее патологии**

Щитовидная железа, располагающаяся на передней поверхности трахеи, между щитовидным хрящом и 5–6-м трахейными кольцами, является единственным органом, синтезирующим органические вещества, содержащие йод.

Синтез тироидных гормонов осуществляется в фолликулах, которые представляют собой функциональную и морфологическую единицу щитовидной железы. Стенки фолликулов состоят из одного слоя эпителиальных клеток (тироцитов), верхушки которых направлены в просвет фолликула, а основания прилегают к базальной мембране. Каждый фолликул окружен сетью капилляров. Волокна симпатической части вегетативной нервной системы, сопровождающие сосуды, оканчиваются на стенках капилляров и фолликулов. Щитовидная железа получает иннервацию и от парасимпатической части вегетативной нервной системы (далее – парасимпатическая нервная система). Фолликулы образуют дольки, отделенные друг от друга соединительной тканью.

Полость каждого фолликула заполнена коллоидом, состоящим в основном из тироглобулина (гликопротеида – мол. м. 660 000). Пептидная цепь, образовавшаяся на рибосомах шероховатой эндоплазматической сети тироцита, переносится в цистерны, где формируются вторичные и третичные структуры тироглобулина, а также углеводные компоненты молекулы, которые представлены моносахаридами. Из цистерн шероховатой эндоплазматической сети тироглобулин транспортируется в комплекс Гольджи, где происходит окончательное образование углеводных компонентов. Далее он перемещается к апикальной части клетки, образуя пузырьки. Путем экзоцитоза содержимое пузырьков высвобождается в просвет фолликула. В нормальных условиях транспорт тироглобулина совершается не только в просвет фолликула, но и в обратном направлении.

Процесс биосинтеза тироидных гормонов (рис. 7) можно разделить на четыре стадии.

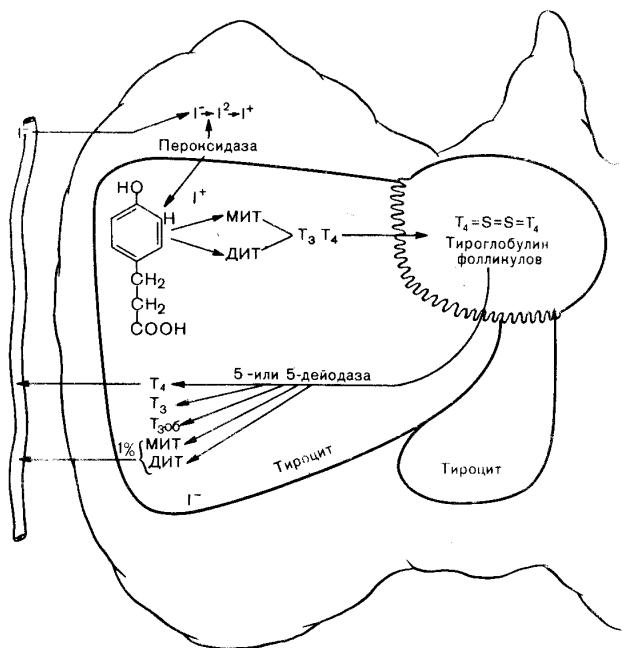


Рис. 7. Синтез и секреция тиреоидных гормонов

**Включение йода в щитовидную железу.** Йод в виде органических и неорганических соединений поступает в желудочно-кишечный тракт с пищей и питьевой водой. Он всасывается в кишечнике в форме йодидов. Они с током крови достигают щитовидной железы, ткань которой обладает уникальной способностью захватывать и концентрировать йодид со скоростью около 2 мкг/ч.

Клеточные мембраны тироцитов осуществляют захват йодидов (I). Транспорт йодидов через мембрану тироцита является активным, требующим энергии процессом, при котором йодид поступает из среды с меньшей концентрацией (плазма крови) в среду с высокой концентрацией (ткань щитовидной железы).

Встречаются клинические варианты гипотироза, обусловленные недостатком образования тиреоидных гормонов из-за дефекта в системе, осуществляющей захват йодидов из плазмы крови и транспорт его через мембрану тироцита. В таких случаях у обследованных выявляется низкое поглощение введенного в организм радиоактивного йода щитовидной железой, а также низкое содержание его в слюне, желудочном соке и молоке кормящих матерей.

**Органификация йода.** Следующий этап после захвата йода щитовидной железой – синтез тироидных гормонов, который начинается с быстрой фиксации йода в молекулу тирозина. Однако прежде чем поступивший в щитовидную железу йодид будет использован для синтеза тироидных гормонов, он должен быть окислен до активной формы при помощи фермента йодпероксидазы и перекиси водорода ( $H_2O_2$ ). Пероксидаза (мол. м. 64 000) непосредственно связана с мембраной тироцита. Активированный йодид ( $I^+$ ) способен насыщать йодом молекулу тирозина с образованием монойодтирозина (МИТ) или дийодтирозина (ДИТ). При помощи этой пероксидазной системы щитовидная железа использует каждый поступающий в нее атом йода и препятствует возможному возвращению йодида в кровеносную систему.

Процесс образования МИТ и ДИТ происходит на боковых цепях молекулы тироглобулина, несущих тирозиновые остатки. Йодирование тироглобулина осуществляется на границе между апикальной частью тироцита и коллоидом, содержащимся в просвете фолликула. Далее йодированный тироглобулин хранится в межклеточном коллоиде.

Широко применяемые для лечения диффузного токсического зоба тиростатические препараты (метилтиоурацил, пропилтиоурацил, мерказолил, метимазол) оказывают терапевтическое действие через угнетение активности пероксидазы, блокируя образование тироидных гормонов.

**Процессинг тироглобулина.** Тироглобулин в фолликуле подвергается гидролизу под действием протеазы до свободных аминокислот.

**Процесс конденсации.** В заключительной стадии синтеза тироидных гормонов МИТ и ДИТ конденсируются под влиянием окислительных ферментов с образованием биологически активных тироидных гормонов: трийодтиронина –  $T_3$  и тироксина –  $T_4$ . При конденсации двух субъединиц ДИТ образуется  $T_4$ . Если происходит конденсирование между субъединицами ДИТ и МИТ, то образуется  $T_3$ .

Большая часть фолликулов щитовидной железы предназначена для хранения тироглобулина, количество тироидных гормонов таково, что если полностью блокировать биосинтез гормонов, то запасов  $T_3$  и  $T_4$  будет вполне достаточно для поддержания эутиреоидного состояния более месяца. Считается, что тиростатические препараты ингибируют пероксидазу и блокируют образование тироидных гормонов не только в стадии образования МИТ и ДИТ, но даже в большей степени в стадии образования  $T_3$  и  $T_4$ .

**Высвобождение гормонов щитовидной железы.** При снижении уровня тироидных гормонов в сыворотке крови «срабатывают» центры, контролирующие секрецию тиротропного гормона и приво-

дящие к стимуляции освобождения ТТГ. Он активирует аленилатниклазу, связываясь с рецепторами щитовидной железы, и увеличивает образование цАМФ в фолликулах. Действие цАМФ на освобождение тироидных гормонов осуществляется через активирование (синтез) ферментов (цАМФ зависимых протеинкиназ). В результате тироглобулин транспортируется из просвета фолликула к лизосомам клетки, осуществляющим протеолиз тироглобулина. Уже через 10 мин. после действия ТТГ в апикальной части тироцитов образуются псевдоподии, которые путем эндоцитоза захватывают капельку коллоида. Почти одновременно с началом эндоцитоза коллоида под влиянием ТТГ плотные гранулы (лизосомы) мигрируют от базальной мембраны к апикальной части клетки и сливаются с капельками коллоида. При этом они образуют фаголизосомы, которые содержат эстеразу и фосфатазу, но преимущественно катептические протеазы. В результате гидролиза тироглобулина высвобождаются свободные аминокислоты.

Поступившие из щитовидной железы в кровь  $T_3$  и  $T_4$  связываются с белками сыворотки крови, осуществляющими транспортную функцию.

Тироксинсвязывающий глобулин связывает и транспортирует 75 % тироксина и 85 % трийодтиронина. Период его полураспада составляет 5 дней. Он более крепко связывает тироксин, в то время как связь с трийодтиронином в 4–5 раз слабее по сравнению с  $T_4$ .

Тироксинсвязывающий преальбумин имеет период полураспада 2 дня. В сыворотке крови он связывает около 15 %  $T_4$  и менее 5 %  $T_3$ . Прочность связи тироксинсвязывающего преальбумина с тироксином значительно уступает связи тироксинсвязывающего глобулина с  $T_4$ . Связь же тироксинсвязывающего преальбумина с  $T_3$  очень слабая.

Период полураспада альбумина – 15 дней. В связи с высокой концентрацией в сыворотке крови альбумин обладает огромной связывающей способностью и связывает около 10 %  $T_4$  и столько же  $T_3$ .

Большая часть тироидных гормонов (99,97 %  $T_4$  и 99,7 %  $T_3$ ) находится в связанной с белками крови форме. Свободная форма составляет лишь 0,03 % для  $T_4$  и 0,3 % для  $T_3$ : она обуславливает биологическое действие тироидных гормонов.

Роль белков, связывающих тироидные гормоны, в организме велика. Они связывают избыточное количество этих гормонов, ограничивая в строгих пределах фракцию свободных гормонов. Тем самым предупреждают их потерю через выделительную систему (печень и почки) и регулируют скорость доставки тироидных гормонов на периферию, где они оказывают основное метаболическое действие.

Чем вызвано наличие нескольких видов тироксинсвязывающих белков? Тироксинсвязывающий глобулин связывает наиболее прочно



по сравнению с другими белками как  $T_4$ , так и  $T_3$ . Кроме того является более стабильным, относительно инертным резервуаром тироидных гормонов. Тироксинсвязывающий преальбумин и альбумин представляют собой лабильную фракцию тироидных гормонов, способную предоставить при различных стрессовых ситуациях необходимое количество свободных тироидных гормонов.

Среди тироидных гормонов наибольшее биологическое значение имеют  $T_4$  и  $T_3$ :  $T_3$  активнее  $T_4$  в 4–5 раз. В течение длительного времени считалось, что  $T_4$  и  $T_3$  в равной степени принимают участие в обмене веществ. Однако было доказано, что на периферии  $T_4$  конвертируется (переходит) в  $T_3$  и биологическое действие тироидных гормонов более чем на 90–92 % осуществляется за счет  $T_3$ . Использование радиоиммунологического метода для определения концентрации  $T_3$  в сыворотке крови позволило установить, что около 80 % циркулирующего  $T_3$  является производным от  $T_4$  из-за его периферического монодейодирования и только 20 %  $T_3$  сыворотки непосредственно образуются в щитовидной железе. Основная роль тироксина в организме заключается в том, что он представляет своего рода источник, или прогормон  $T_3$ . В процессе монодейодирования  $T_4$  конвертируется как в  $T_3$ , так и в обратный, риверсивный трийодтиронин, который является биологически неактивным гормоном.

Известно, что тироидные гормоны необходимы для нормального роста и развития организма. У человека снижение биосинтеза и секреции этих гормонов приводит к задержке физического и психического развития, а также к нарушению дифференцировки скелета и ЦНС.

Биологическое действие гормонов щитовидной железы осуществляется путем регуляции белкового синтеза. Первый этап в механизме действия тироидных гормонов – связывание гормонов с соответствующим рецептором.

Концентрация  $T_4$  в сыворотке крови составляет 100 нмоль/л,  $T_3$  – 1,8 и обратного  $T_3$  – около 0,61 нмоль/л. Экспериментально показано, что через 30 мин. после внутривенного введения  $T_3$  связывается ядрами печени и почек крыс. В дальнейшем происходит диссоциация  $T_3$  из связи с ядерными рецепторами. Определена природа тироидных рецепторов: белок, не относящийся к гистонам (мол. м. 50 500). Время диссоциации  $T_3$  из связи с ядерными рецепторами составляет около 15 мин., а период полураспада  $T_3$  в плазме – около 16 ч. Связывание  $T_3$  ядерными рецепторами осуществляется без участия каких-либо цитоплазматических переносчиков, которые необходимы в механизме действия стероидных гормонов. Белки цитоплазмы связывают трийодтиронин, но их аффинность к  $T_3$  значительно ниже, чем к ядерным

рецепторам. Они могут связывать не только  $T_3$ , но и  $T_4$ . Способность связывать  $T_4$  составляет лишь 1/10 способности связывать  $T_3$ . Моно- и диодтирозин не могут вытеснять (замещать) меченый  $T_3$  из его связи с рецепторами. Обратный  $T_3$  почти не обладает способностью к замещению  $T_3$  в соответствующих ядерных рецепторах. В различных тканях количество  $T_3$ , связанного с рецепторами, примерно одинаково.

В норме  $T_4$  специфично взаимодействует с йодтиронинсвязывающей белковой фракцией плазматической мембраны клеток-мишеней, диффундирует в толщу ее, где теряет один атом йода. После этого комплекс диссоциирует с высвобождением  $T_3$ . Взаимодействие  $T_4$  с мембраной клетки и превращение в  $T_3$  является «стартером» механизма внутриклеточного действия тироидных гормонов.

Хорошо известно, что избыточная функция щитовидной железы (тиротоксикоз) проявляется рядом симптомов, указывающих на повышение активности симпатической нервной системы: тахикардия, тремор, легкая возбудимость и др. Однако содержание катехоламинов в сыворотке крови понижено при тиротоксикозе и повышено при гипотирозе. Исследования показали, что это действие тироидные гормоны осуществляют через изменение количества соответствующих рецепторов в периферических тканях. В органах, где симпатическая и парасимпатическая нервные системы оказывают антагонистические влияния (скелетные мышцы), при гипертирозе увеличивается количество  $\beta$ -адренергических и уменьшается количество холинергических (мускариновых) рецепторов. В других органах, где симпатическая и парасимпатическая нервные системы не являются антагонистами (слюнные железы), тироидные гормоны увеличивают лишь количество  $\beta$ -адренергических рецепторов, оставляя количество холинергических рецепторов неизменным. В третьих тканях (жировая ткань) тироидные гормоны изменяют активность фосфодиэстеразы. Не исключено, что влияние тироидных гормонов на изменение чувствительности тканей к катехоламинам осуществляется механизмами, функционирующими дистальнее места действия протеинкиназ.

Биосинтез тироидных гормонов осуществляется под контролем ЦНС, гипоталамуса и гипофиза. Эти взаимоотношения представлены на рис. 8.

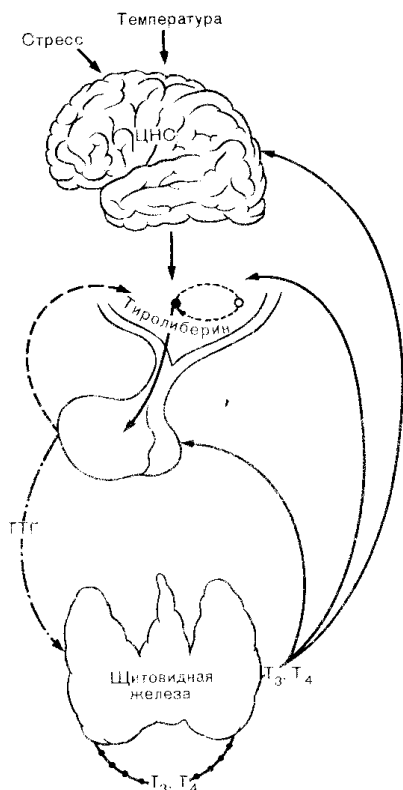


Рис. 8. Регуляция функции щитовидной железы

При недостатке тиреоидных гормонов наблюдается снижение основного обмена, теплопродукции и повышение концентрации холестерина. Замедляется скорость распада гликопротеидов и протеогликанов в соединительной ткани. В клетчатке накапливается гиалуроновая кислота, что приводит к развитию микседемы. При недостаточности гормонов у плода или новорожденных происходят замедление роста, необратимые врожденные нарушения, задержка умственного развития (кретинизм). При недостатке гормонов у детей более старшего возраста наблюдается отставание в росте без задержки умственного развития. Все эти изменения связаны с замедлением белкового синтеза. Дефицит свободных тиреоидных гормонов приводит к гипотирозу, характерными особенностями которого является низкая частота сердечных сокращений, вялость сонливость, диастолическая гипертензия, запоры, высокая чувствительность

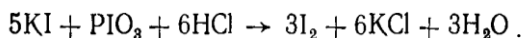
к холоду, сухость кожи и волос. Лечение – гормонотерапия аналогами синтетических тироидных гормонов.

При избытке тироидных гормонов развивается тиретоксикоз с характерным признаком экзофтальмии. Она развивается вследствие отека ретробулярной ткани. Также наблюдается учащение сердечных сокращений, увеличение пульсового давления, нервозность, бессонница, похудание, слабость, потливость и влажность кожи, повышенная чувствительность к теплу. Лечение тиретоксикоза заключается в подавлении образования тироидных гормонов с применением анти tiroидных средств: радиоактивного йода, технеция, или хирургического удаления всей железы или ее части.

### Практическая часть

Задание. Обнаружение йода в препаратах для лечения заболеваний щитовидной железы

**Принцип реакции.** Гормоны щитовидной железы представляют собой йодированные производные аминокислоты тирозина. При щелочном гидролизе тироксина образуется йодид калия, из которого йод можно вытеснить йодатом калия в слабокислой среде с образованием молекулярного йода. Образовавшийся свободный йод дает синее окрашивание с крахмалом:



**Материалы и реактивы:** таблетка левотироксина, 10 %-ный раствор  $K_2CO_3$ , 10 %-ный раствор серной кислоты, 1 %-ный раствор крахмала, 1 %-ный раствор  $KIO_3$ , лакмусовая бумага.

**Оборудование:** фарфоровая ступка с пестиком, водяная баня, пробирки с обратным холодильником.

В фарфоровой ступке растереть 1 таблетку левотироксина. Полученный порошок высыпать в пробирку и добавить 3 мл 10 %-го раствора  $K_2CO_3$ . Перемешать и закрыть пробирку обратным холодильником, поставить на водяную баню для гидролиза. Содержимое пробирок кипятить в течение 10–15 мин. Полученный гидролизат охладить, нейтрализовать раствор серной кислотой, по каплям добавляя ее до слабокислой реакции. Добавлять осторожно: возможна бурная реакция кислоты. Лакмусовой бумагой проверяют pH среды. Затем добавить 50 мкл раствора крахмала и 100 мкл раствора  $KIO_3$ . Выделившийся йод окрашивает жидкость в синий цвет.

## Форма отчетности

Заполните таблицу:

Гормон	Место синтеза	Химическое строение	Качественная реакция	Механизм реакции	Наблюдаемое окрашивание
тироксин					

### Контрольные вопросы

1. Дайте характеристику структуры тироидных гормонов.
2. Где синтезируются тироидные гормоны?
3. Как регулируется функция щитовидной железы?
4. Охарактеризуйте стадии синтеза тироидных гормонов.
5. Каким образом тироидные гормоны действуют на орган-мишень?
6. Какие патологии развиваются при пониженном уровне тироидных гормонов в крови?
7. Какие патологии развиваются при повышенном уровне тироидных гормонов в крови?

## Список литературы

1. Маршалл, В. Дж. Клиническая биохимия: пер. с англ. / В. Дж. Маршалл. – М.; СПб.: БИНОМ; Невский диалект, 2000. – 368 с.
2. Флетчер, Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины: пер. с англ. / Р. Флетчер, С. Флетчер, С. Вагнер. – М.: Медиа Сфера, 1998. – 352 с.
3. Чард, Т. Радиоиммунологические методы / Т. Чард. – М.: Мир, 1981. – 248 с.
4. Ткачева, Г. А. Радиоиммунологические методы исследования / Г. А. Ткачева, М. И. Балаболкина, И. П. Ларичева. – М.: Медицина, 1983. – 192 с.
5. Резников, А. Г. Методы определения гормонов / А. Г. Резников. – Киев: Наукова думка, 1980. – 400 с.



**Учебное издание**

**Свирид Василий Дмитриевич**

**ПРАКТИКУМ  
ПО ДИСЦИПЛИНЕ  
«ЭНДОКРИНОЛОГИЯ»**

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ**

Редактор *И. В. Перковец*  
Корректор *И. В. Перковец, С. М. Курбыко*  
Компьютерная верстка *И. В. Перковец*

Подписано в печать 09.11.2011. Формат 60×90 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Гарнитура Times. Ризография.  
Усл. печ. л. 2. Уч.-изд. л. 1,25.  
Тираж 35 экз. Заказ № 179.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования «Международный государственный  
экологический университет имени А. Д. Сахарова»

ЛИ № 02330/993 от 31.08.2011 г.  
Республика Беларусь, 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23

E-mail: [info@iseu.by](mailto:info@iseu.by)  
<http://www.iseu.by>