



Лабораторный практикум

Макаров Л.М.

*Программные комплексы и
методы медицинских и диагностических
исследований*

СОДЕРЖАНИЕ

1. Метод центрифугирования.....	2
Основы метода центрифугирования	4
2. Хроматографические методы.....	9
3. Электрофорез.....	12
4. Метод меченых атомов.....	18
5. Общий анализ мочи	23

1. Метод центрифугирования

Изучение белков

Для изучения любого процесса, происходящего в клетках, субклеточных структурах (например, в митохондриях) или тканях, необходимо выделить компоненты, которые обеспечивают протекание



химических реакций. Для этого следует разрушить клетки или клеточные органеллы физическими методами. Животные клетки разрушаются довольно легко, а бактериальные и растительные клетки — с трудом, так как они имеют прочную стенку.

Весь процесс выделения белков и изучения их современными методами можно представить следующей упрощенной схемой:

- а) разрушение клеток или внутриклеточных структур;
- б) выделение из клеток нужных органелл или частиц;
- в) разделение компонентов органелл и их выделение, например белков;
- г) изучение химических и физических свойств различными

способами (хроматография, электрофорез, спектральные, радиоизотопные и другие методы).

Рассмотрим эти этапы.

Разрушение клеток

Сначала клетки разрушали, растирая их с песком в ступке. Однако в наше время применяют более эффективные методы, хотя и традиционным еще пользуются при работе с растительными и бактериальными клетками.



Разновидностью этого метода является продавливание клеток, смешанных с кристалликами льда или другими острыми частичками, через пресс. Очень часто разрушение

клеток производят при вращении острых лопастей в цилиндре аппарата, похожего на миксер (гомогенизатор), или при движении плотно прилегающего вращающегося поршня вверх и вниз в сосуде с суспензией клеток. Суспензию клеток можно обработать ультразвуком, что тоже приводит к разрушению

клеток. Но этот метод имеет существенный недостаток: в процессе обработки ультразвуком выделяется теплота, которая может повредить структуры, особенно белковые.

К другим методам разрушения тканей и клеток относятся последовательное замораживание и оттаивание, обработка ферментами, переваривающими клеточную стенку. Например, при обработке клеток бактерий лизцимом ускоряется гидролиз клеточной стенки, освобождается внутриклеточная жидкость, содержащая необходимые белки. А метод «азотной бомбы» основан на интересном прин-

ципе. Клетки при высоком давлении насыщают газообразным азотом. Давление азота внутри клетки и давление вне ее становятся близкими по значению. После этого внешнее давление сбрасывают, а азот, находящийся внутри клетки, разрушает клеточную оболочку, «взрывает» ее.

Для выделения той или иной фракции выбирают определенную ткань. Например, печень животных — идеальный объект для выделения фракции митохондрий, где их особенно много, а тимус (зобная или вилочковая железа) — ядер и ядерных белков.

Из ткани, выбранной для получения белка или другого компонента, готовят однородную массу — гомогенат, от которого отделяют внутриклеточную жидкость. Для устранения местного нагревания, возникающего в процессе гомогенизации, все процедуры разрушения клеток и выделения белка проводят при пониженных температурах. Сосуды с гомогенатом помещают в холодильные камеры. Исследования проводят в комнатах-холодильниках, подготовку материала осуществляют на льду. Это необходимо потому, что белки при действии теплоты подвергаются денатурации, а ферменты могут потерять свою активность в процессе выделения — инактивироваться. Так как для выделения белков берут ткани, различные по плотности, количеству в них сосудов и соединительнотканых включений, воды, жира и т. д., необходимо тщательно контролировать условия разрушения клеток:

продолжительность гомогенизации, температуру, скорость разрушения. Этот тонкий процесс, как считают специалисты, не только наука, но и искусство.

Разделение частиц путем центрифугирования
Следующий этап выделения биологических структур после разрушения клеток — центрифугирование. Этот метод уже встречался нам, когда говорилось о размерах и массе биологических макромолекул.

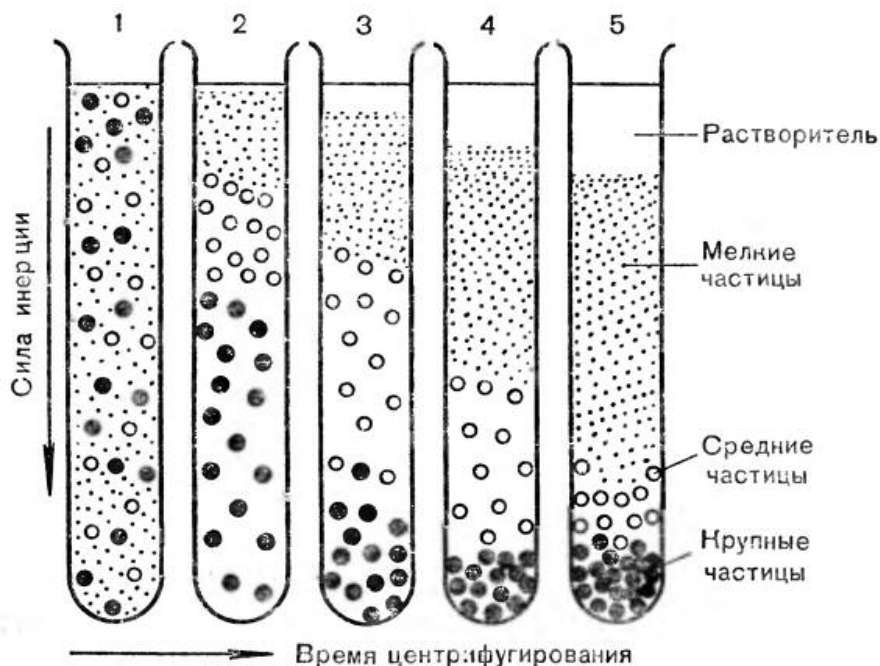
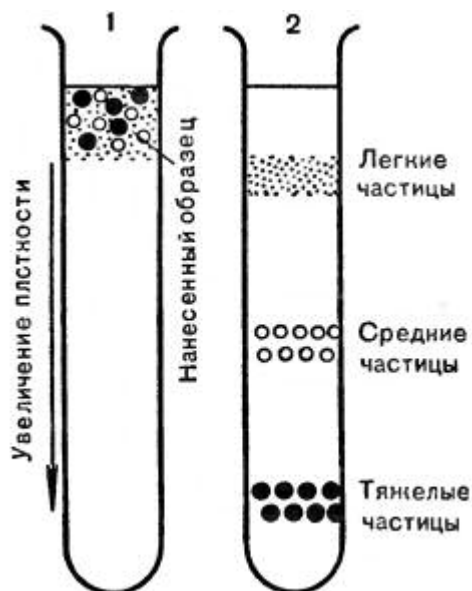


Рис. 1. Разделительное центрифугирование: 1 — хаотическое распределение в пробирке разделяемых частиц; 2—4 — промежуточные стадии центрифугирования; 5 — осаждение в конце центрифугирования в зависимости от размеров и форм частиц.

Таким способом можно также выделять определенный биологический материал из гомогената для последующих исследований. Это препаративное центрифугирование, т. е. направленное на выделение какого-то препарата из гомогенной массы, например препарата митохондрий или микросом.



Гомогенат центрифугируют в пробирках при определенном числе оборотов. В результате нескольких циклов можно получить сначала самые тяжелые частицы (например, ядра). После их отделения гомогенат центрифугируют при большем числе оборотов и получают новый осадок из частиц, которые легче первого осадка, но тяжелее тех, которые остались в суспензии над ним. Затем из более легких фракций выделяют макромолекулы, специфические для этого осадка, например митохондрии.

альные белки. Принцип дифференциального центрифугирования показан на рисунке 1.

Рис. 2. Центрифугирование веществ согласно их плотности (пробирка наполнялась жидкостью так, что внизу плотность жидкости значительно больше, чем вверху): 1—начало центрифугирования; 2 — после центрифугирования.

Поэтому, когда говорят о ядерных белках или о ферментах лизосом, всегда предполагается, что сначала были выведены сами препараты ядер и лизосом методом дифференциального (разделительного) центрифугирования, а уже затем проводилась работа с белками этих фракций.

Препаративное центрифугирование имеет несколько модификаций, одной из которых является равновесное центрифугирование. Его принцип заключается в том, что белок, ДНК или липопротеид смешивают в пробирке с концентрированным раствором сахарозы или другого вещества, обладающего большой плотностью. В процессе центрифугирования молекулы исследуемого вещества окажутся в той зоне пробирки, где будет одинаковая с ними по плотности зона сахарозы. Этим методом были разделены и затем изучены различные фракции липопротеидов плазмы крови человека (рис. 2).

Извлечение отдельных фракций из пробирок проводят разными приемами, в частности используют полиэтиленовые пробирки, которые после окончания центрифугирования прокалывают в основании иглой и отбирают по каплям каждую фракцию в отдельные стаканы.

Центрифугирование применяется очень широко. Оно используется (кроме уже перечисленных примеров) для оценки чистоты белков, вирусов, препаратов ДНК. О чистоте препарата судят по характеру границы между фракциями при центрифугировании: чистый препарат дает одну резко очерченную границу.

Центрифугирование помогает следить за изменением конформации белков, распадом белков на субъединицы, образованием комплекса фермента с субстратом, приведшим к изменению формы и размера белка.

Основы метода центрифугирования

Разделение суспензий и эмульсий под действием центробежной силы осуществляется преимущественно во вращающихся аппаратах, называемых центрифугами. Центрифуги, применяемые в технике, используются для проведения не только процессов осаждения, но и процессов фильтрации. Центрифуги применяемые для осаждения, называют осадительными, в отличие от фильтрующих центрифуг, применяемых для процессов фильтрации. Одним из основных критериев оценки эффективности работы центрифуги является фактор разделения :

$$f = \frac{\omega^2 R}{g} = \frac{n^2 R}{900}$$

где $\omega = \frac{\pi n}{30}$ угловая скорость кастеты с пробирками био пробы

В отечественной литературе фактор разделения часто обозначается как центробежный критерий Фруда:

$$F_{ry} = \frac{\omega^2 R}{g}$$

Во время центрифугирования жидкости, в ней возникают значительные силы инерции, которые можно использовать для проведения фильтрования высококонцентрированных суспензий. На элемент жидкости массой m в центрифуге, находящейся на расстоянии r от оси вращения действует сила тяжести :

$$G = mg \quad (1)$$

а также центробежная сила инерции :

$$S = \frac{m\omega^2}{R} \quad (2)$$

Здесь ω - окружная скорость элемента жидкости которую можно связать с числом оборотов центрифуги в единицу времени.

Из уравнений (1) и (2):

$$\omega = 2\pi Rn \quad (3)$$

Силу инерции можно представить следующим образом:

$$\omega = 4\pi Rn^2 m \quad (4)$$

Отношение силы тяжести и центробежной:

$$\frac{G}{S} = \frac{g}{4\pi^2 n^2 R} \quad (5)$$

Направление равнодействующей должно быть нормальным к поверхности жидкости в данной точке, или точнее к касательной к этой поверхности. Наклон этой касательной будет равен обратной величине наклона равнодействующей и с противоположным знаком:

$$\frac{dy}{dr} = \frac{4\pi^2 n^2 r}{g} \quad (6)$$

$$\frac{dy}{dr} = \frac{4 \cdot \pi^2 \cdot n^2 \cdot r}{g} \quad (4.6)$$

Интегрируя уравнение (4.6), от предела $r = 0, y = 0$, получим уравнение кривизны жидкости в центрифуге:

$$y = \frac{2\pi^2 n^2 r^2}{g} \quad (7)$$

$$y = \frac{2 \cdot \pi^2 \cdot n^2}{g} \cdot r^2 \quad (4.7)$$

Уравнение (7) показывает, что поверхность жидкости в центрифуге принимает форму параболоида вращения. Вершина этого параболоида может находиться как внутри, так и вне центрифуги. При больших числах оборотов она настолько удалена, что поверхность жидкости в центрифуге можно считать вертикальной цилиндрической. Большие силы инерции могут служить и для фильтрования высококонцентрированных суспензий. В таких случаях обычно процесс фильтрации нерентабелен, т.к. из-за быстрого заполнения аппарата осадком частыми окажутся простои и слишком большой будет часть жидкости, остающейся в осадке.

Большая сила инерции, возникающая в центрифуге, может быть использована для отделения от жидкости мелких частиц твердого вещества. Осаждение мелких твердых частиц подчиняется закону Стокса, т.е. в уравнении:

$$\omega = \frac{d^2(\rho_{мс} - \rho_{жс})g}{18\mu} \quad (8)$$

$$\omega = \frac{d^2 \cdot (\rho_{ТВ} - \rho_{Ж}) \cdot g}{18 \cdot \mu} \quad (4.8)$$

заменяв в нем ускорение силы тяжести g ускорением силы инерции a , получим :

$$\omega = \frac{d^2(\rho_{мс} - \rho_{жс})a}{18\mu} \quad (9)$$

Ускорение a рассчитывается из уравнения (2):

$$a = \frac{\omega^2}{r} = \frac{(2\pi n)^2}{r} = 4\pi^2 n^2 r \quad (10)$$

Отсюда для частицы, находящейся на расстоянии r от оси вращения, получим мгновенную скорость в радиальном направлении к стенке:

$$\omega = \frac{dr}{d\tau} = \frac{2\pi^2 d^2(\rho_{мс} - \rho_{жс})n^2 r}{9\mu} \quad (11)$$

$$\omega = \frac{dr}{d\tau} = \frac{2 \cdot \pi^2 \cdot d^2 \cdot (\rho_{ТВ} - \rho_{Ж}) \cdot n^2 \cdot r}{9 \cdot \mu} \quad (4.11)$$

Интегрируя уравнение (11) в пределах (для поверхности жидкости) до R (радиус центрифуги), получим время, необходимое для осаждения твердой частицы диаметром d на стенке

$$\tau = \frac{9\mu}{2\pi^2(\rho_{тв} - \rho_{ж})d^2n^2} \ln \frac{R}{r} \quad (12)$$

В течение этого времени частицы диаметром больше d будут удалены полностью, частицы меньшего размера осядут на стенке.

Время разделения жидких смесей от центробежной силы, зависит от разностей плотностей и от вязкости жидкости. В результате центрифугирования получается расслоение суспензии или эмульсии. У стенки собираются компоненты с большей плотностью. Обычно плотность твердой фазы больше плотности жидкой.

ЗАДАНИЕ провести расчеты

Обработка экспериментальных данных

Результаты проведенной работы заносятся в таблицу 1:

№	Число оборотов вала	Время осаждения, экспериментальное	Радиус свободной поверхности жидкости (выражение 1)	Внутренний радиус осадка (выражение 2)	Скорость осаждения частиц по формуле Стокса (выражение 3)	Скорость осаждения при центрифугировании (выражение 4)	Время осаждения, расчетное (выражение 5)	Фактор разделения (F)
	(ω)	(с)	(м)	(м)			(с)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1000	609,69						0.5
	1000	605,75						0.84
	1500	404,18						0.5
	1500	403,96						0.88
	2000	303,184						0.82
	2000	302,078						0.91

Расчетные формулы

1. Внутренний радиус свободной поверхности жидкости, (м)

$$r_0 = \sqrt{r_{рот}^2 - \psi(r_{рот}^2 - r_б^2)}$$

$r_{рот}$ - радиус ротора внутренний (м) $r_б$ радиус борта ψ коэффициент заполнения ротора суспензией

2. Внутренний радиус осадка перед операцией выгрузки, (м)

$$r_{oc} = \sqrt{r_{rot}^2 - \psi_{oc} (r_{rot}^2 - r_0^2)}$$

ψ коэффициент заполнения ротора осадком

3. Скорость осаждения частиц по формуле Стокса

$$\omega_{oc} = \frac{d^2 \cdot (\rho_{тв} - \rho_{ж}) \cdot g}{18 \cdot \mu_{ж}}$$

4. Скорость осаждения с учетом центробежных сил

$$\omega_{oc} = \frac{d^2 \cdot (\rho_{тв} - \rho_{ж}) \cdot g}{18 \cdot \mu_{ж}} \cdot F_{разд}$$

5. Продолжительность осаждения

$$\tau_{oc} = \frac{18\mu_{ж}}{d^2(\rho_m - \rho_{ж})\omega} \ln\left(\frac{r_{oc}}{r_0}\right)$$

Примечание :

радиус ротора (R) равен 0.45 м, радиус (r) борта - 0.32 м, ; ρ плотность твердой фазы - 2650 кг/м³, а ρ плотность жидкой - 1000 кг/м³, μ вязкость жидкости - 0.001, d диаметр частиц - 2*10⁻⁶ м

Центрифугирование на центрифугах проводит разделение смесей, состоящих из двух или нескольких компонентов с разной удельной плотностью. Разделение частиц с помощью центрифугирования основано на разной скорости осаждения частиц в центробежном поле центрифуги. В лабораторной практике чаще всего применяют препаративное центрифугирование. Препаративное центрифугирование основано на различиях в скорости оседания частиц, отличающихся друг от друга плотностью и размерами.



Разделяемый материал, в лабораториях это чаще всего кровь, по мере увеличения скорости центробежного ускорения центрифуги распределяется по плотности и размерам частиц вдоль пробирки. На дно пробирки осаждаются форменные элементы крови (эритроциты, лейкоциты), в надосадке — плазма или сыворотка крови.

Для разделения крови в лабораториях используют центрифуги общего назначения. Они обеспечивают центрифугирование со скоростью до 8000 оборотов в минуту, относительное центробежное ускорение до 6000 оборотов в минуту. Отличаются центрифуги друг от друга емкостью, рядом сменных роторов.

Во всех центрифугах данного типа роторы жестко крепятся на валу привода, центрифужные пробирки должны быть вместе с находящимся в них биоматериалом тщательно уравновешены и различаться по весу не более чем на 0,25 грамм. При неполной загрузке ротора центрифуги пробирки должны

быть размещены симметрично, одна против другой. Таким образом, обеспечивается равномерное распределение пробирок относительно оси вращения ротора.

Например, мини-центрифуга СМ-6 со скоростью вращения ротора 1000, 1500, 2750 оборотов в минуту рассчитана на 12 пробирок в роторе, применяется для разделения растворов на фракции.

2. Хроматографические методы

Одним из наиболее удобных методов разделения биологических соединений является хроматография. Разнообразие ее видов и модификаций позволяет сделать выбор, который зависит от природы выделяемого материала.

С помощью хроматографических методов можно разделить как большие, так и малые количества биологического материала (несколько пикограммов).

Хроматографическая система состоит из двух фаз: неподвижной и подвижной, которая течет по неподвижной или пропускается через нее. Разделение веществ между фазами может происходить за счет адсорбции (адсорбционная или распределительная хроматография), равновесного распределения (хроматография на бумаге), ионообменного равновесия и других модификаций хроматографического метода. Рассмотрим принципы некоторых из этих модификаций.

Адсорбционная (распределительная) хроматография была применена М. Цветом в 1903 г. для разделения окрашенных веществ. Колонка для хроматографии представляет собой стеклянную трубку, заполненную адсорбентом. В нее вносят смесь, которую требуется разделить, после чего начинают пропускать растворитель. Вещества, входящие в смесь, продвигаются по колонке с разными скоростями. В случае окрашенных компонентов разделение легко обнаружить по отдельным цветным зонам. Зоны — участки адсорбента — извлекают из колонки, отделяют подвижную фазу от неподвижной и анализируют вещество.

Связавшиеся с адсорбентом вещества можно отделить от него, пропуская через колонку растворители разной полярности: гексан, бензол, эфир, хлороформ, бутанол, ацетон или их определенную смесь.

Очень интересная и важная разновидность распределительной хроматографии — хроматография на бумаге (рис. 2.1). Пористая бумага способна поглощать воду и удерживать ее между волокнами целлюлозы. Это неподвижная фаза. Если по такой бумаге движется неводный растворитель, он увлекает за собой молекулы вещества, нанесенные на бумагу. Разделение зависит от сродства компонентов нанесенной смеси к тому или иному растворителю: чем выше растворимость вещества в подвижной фазе, тем быстрее и дальше оно продвинется от места нанесения образца вместе с растворителем. Таким образом разделяют, например, смесь аминокислот и определяют, какие из них и в каком количестве входят в образец.

В зависимости от строения отдельных аминокислот, от их способности лучше растворяться в подвижной или неподвижной фазе можно вычислить отношение для каждой аминокислоты — R_f :

$$R_f = \frac{a}{b}$$

где a — расстояние, пройденное аминокислотой; b — расстояние, пройденное растворителем от точки нанесения образца.

R_f — постоянен для каждой аминокислоты и является характерным показателем при стандартных условиях опыта. Чтобы растворитель не испарялся, хроматографию проводят в закрытых камерах специального назначения. На рисунке 5 показан прибор для получения нисходящей хроматограммы. Несколько более усложненным вариантом хроматографического метода является проведение двумерной хроматографии. После разделения смеси на хроматографической бумаге в паре растворителей, например фенол — аммиак (рис. 6), хроматограмму поворачивают на 90° и продолжают разделение смеси уже в другом направлении и в других растворителях, например в бутанол-

муравьиной кислоте. Такая модификация метода позволяет разделить даже те вещества, которые обладают сходными хроматографическими характеристиками и потому движутся на хроматограмме совсем рядом.

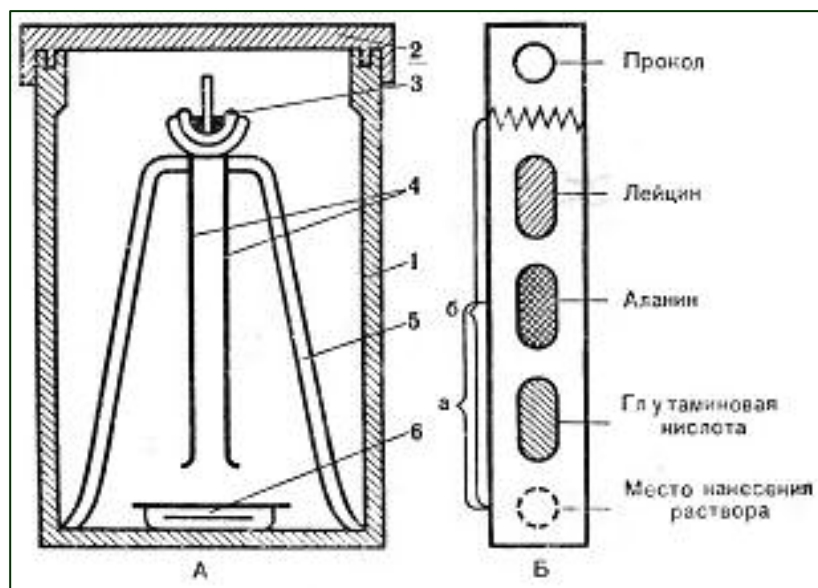
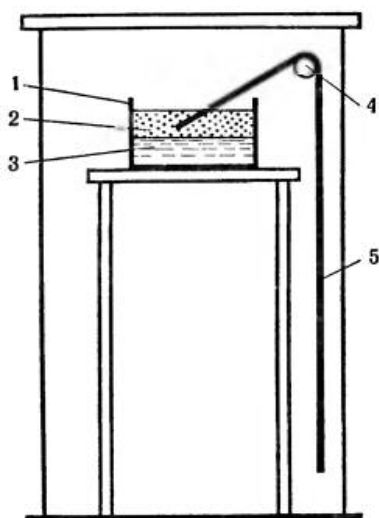


Рис. 2.1. Распределительная хроматография: А — прибор для хроматографии: 1 — камера; 2 — крышка; 3 — лодочка с растворителями; 4 — полоски хроматограммы; 5 — подставка для лодочки; 6 — кювета с растворителями для насыщения камеры; Б — бумажная полоска хроматограмма с окрашенными веществами: а — путь, пройденный веществом; б — путь, пройденный растворителем.



На рисунке 2.4 представлена радиальная хроматограмма на бумаге, где в смеси были только три аминокислоты. Чтобы разделить смесь на отдельные аминокислоты, определить, выделить в чистом виде и выявить их количество, поступают следующим образом. Из хроматографической бумаги вырезают круг, делят его на четыре сектора, на один из которых близко к центру наносят смесь, подлежащую разделению, на остальные три сектора наносят в таких же местах у центра эталонные растворы чистых индивидуальных аминокислот.

Рис. 2.2 Прибор для хроматографии на бумаге: 1 — лодочка с растворителями; 2 — органический растворитель; 3 — вода; 4 — стеклянный кронштейн; 5 — хроматографическая бумага.

В центре круга вырезают отверстие. В него вставляют небольшую бумажную ножку и опускают ее нижний конец в растворитель. Растворитель поднимается по ножке, достигает центра круга и по радиусам распространяется к периферии круга, увлекая аминокислоты. Через определенное время хроматограмму снимают и помещают в шкаф при температуре около 100 °С для фиксации аминокислот и испарения растворителя.

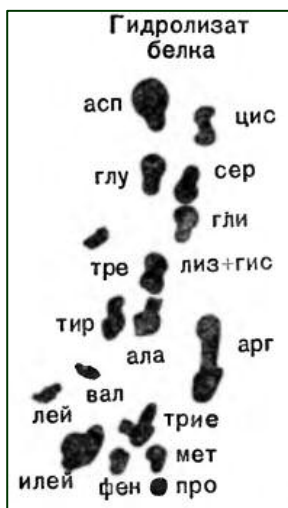


Рис. 2.3. Двумерная хроматография аминокислот.

После этого хроматограмму проявляют специальным раствором, окрашивающим и выявляющим аминокислоты, и пятна аминокислот вырезают. Чтобы снять аминокислоту, бумагу опускают в стаканчик с растворителем. Чем выше будет интенсивность окраски раствора, тем больше в нем аминокислоты. На специальных приборах можно точно установить количество аминокислот по оптической плотности их растворов. Аминокислоты затем выделяют из растворов и используют в дальнейшей работе.

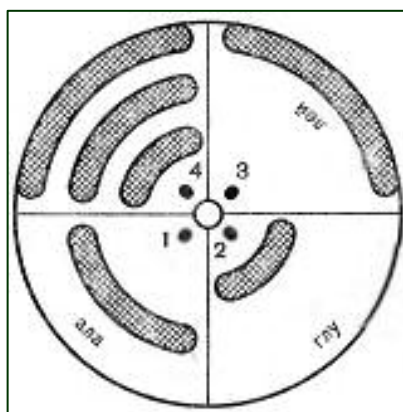
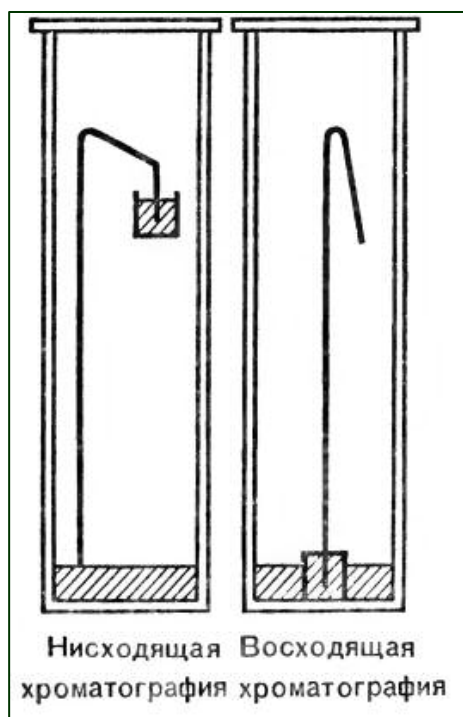


Рис. 2.4. Радиальная хроматограмма.
Цифрами обозначены точки нанесения эталонных аминокислот (1, 2, 3) и определяемой смеси (4).

О том, какое пятно из сектора, где наносилась смесь, соответствует той или иной аминокислоте, судят по величине R_f , которую сравнивают с эталонными образцами, расположенными в соседних секторах. Таким простым методом или незначительно отличающимся по технике исполнения легко разделить аминокислоты, полученные при гидролизе белка, содержащиеся в сыворотке крови или моче больных.

Определение количества свободных аминокислот в крови очень важно для суждения об обмене белков. Например, в норме в сутки выделяется около 0,5 г аминокислот. При усиленном распаде белков, а также при некоторых заболеваниях печени, почек, при нарушении процессов дезаминирования или переамикирования в сыворотке крови и моче отмечаются изменения в количестве и составе аминокислот. Эти знания помогают своевременно и правильно назначить необходимое лечение.

Важнейшим и широко применяемым видом хроматографического метода является проникающая хроматография. Она отличается принципиально от других видов хроматографического анализа. Метод основан на свойствах многих пористых материалов пропускать небольшие молекулы и не пропускать крупные, т. е. действует принцип молекулярного сита. Такими пористыми материалами являются полисахаридные гели (декстраны), полистиролы, пористые стеклянные шарики со строго определенным размером пор.

Рассмотрим конкретный пример с применением проникающей хроматографии, которую еще называют гель-фильтрацией. Представим, что необходимо отделить белковые молекулы от аминокислот, солей и других низкомолекулярных соединений, находящихся в общей смеси. Для этого стеклянную хроматографическую колонку наполняют пористым гелем — сефадексом, закрепляют ее вертикально в штативе и наносят сверху смесь, подлежащую разделению. Опускаясь вниз, частички этой смеси проникают в пористые гранулы, которыми наполнена колонка, задерживаются там или переходят в следующие нижние слои. Так происходит с мелкими частицами смеси, размеры которых позволяют им проникать через поры внутрь гранул. Поэтому путь мелких частиц к выходу из колонки довольно длинный.

Крупные же частицы вместе с током растворителя быстро продвигаются к выходу из колонки между гранул.

Таким образом гель-фильтрацию можно назвать фильтрованием наоборот; крупные частицы проскакивают через молекулярное сито, а мелкие задерживаются, их путь длиннее (рис. 8).

При обычном фильтровании, как известно, через фильтр проходят мелкие частицы, а более крупные задерживаются. Такая разновидность хроматографии, как гель-фильтрация, позволяет очистить белки от низкомолекулярных соединений, дает возможность разделить и очистить вирусы, ферменты, гормоны, антитела, нуклеиновые кислоты.

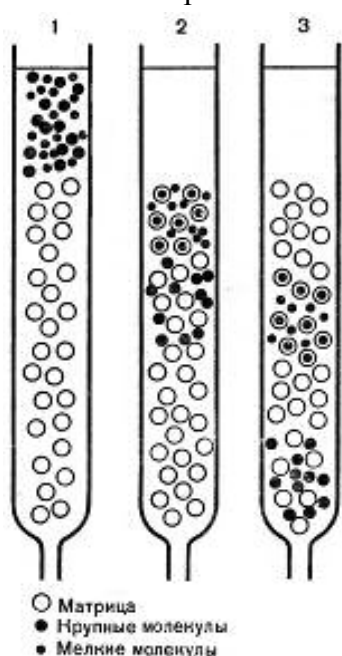


Рис. 2.5. Разделение веществ методом гель-фильтрации: 1, 2, 3 — последовательные стадии разделения. Крупные частицы не проникают в поры гранул матрицы и выходят раньше мелких из колонки.

3. Электрофорез

Аминокислоты, пептиды, белки и другие молекулы, выделенные из живых организмов, содержат заряженные группы, поэтому в растворе они могут быть катионами или анионами. Частицы в зависимости от своего заряда перемещаются в электрическом поле. На этом основан принцип широко применяемого в белковой химии метода — электрофореза.

Скорость движения заряженных молекул зависит от многих причин: а) движущей силы электрического поля; б) значения заряда частиц; в) размеров заряженных молекул; г) формы перемещающихся в электрическом поле частиц и некоторых других факторов. Так как у различных молекул эти параметры отличаются, можно разделить их смесь на фракции путем электрофореза.

Разделение заряженных частиц проводят в каком-нибудь однородном носителе. Это хроматографическая бумага, тонкие слои оксидов кремния (IV) или алюминия, крахмальные или другие гели. На всех носителях вещества распределяются в электрическом поле в виде зон, которые можно обнаружить и выделить, поэтому метод получил название зонального электрофореза. Общие закономерности электрофореза следующие:

- 1) подвижность частиц возрастает с увеличением суммарного заряда;
- 2) чем больше размеры молекул, тем меньше их подвижность;
- 3) глобулярные и фибриллярные белки обладают разной подвижностью, обусловленной силой трения при перемещении;
- 4) скорость перемещения веществ прямо пропорциональна силе тока, а длина пройденного частицами пути прямо пропорциональна времени пропускания тока;

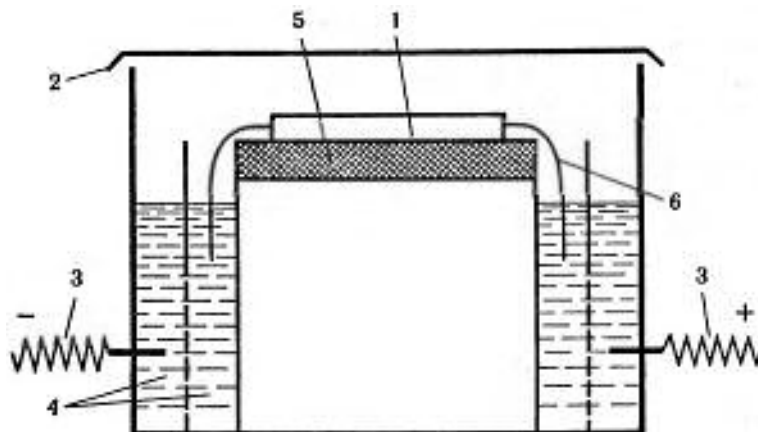


Рис. 3.1. Прибор для электрофореза:

- 1 — носитель; 2 — крышка; 3 — электроды;
4 — буферный раствор; 5 — изолятор; 6 — фитиль.

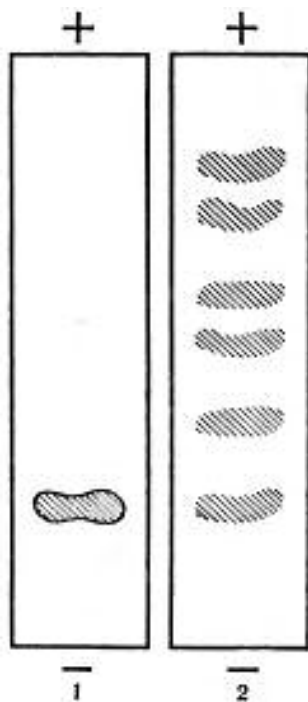


Рис. 3.2. Электрофорез на бумаге: 1 — полоска бумаги для электрофореза с нанесенным образцом для разделения; 2 — та же полоска бумаги, окрашенная после электрофореза.

- 5) чем больше сопротивление, тем меньше скорость продвижения частиц в электрическом поле;
- 6) на подвижность частиц влияет состав растворителя, его концентрация и pH;
- 7) скорость перемещения зависит от химического состава носителя и его отношения к разделяемым частицам.

Для проведения электрофореза применяется несложное оборудование, состоящее из источника питания и электрофоретической камеры, в которой смонтированы электроды, опоры для носителя и камеры для раствора (рис. 9). Смесь, подлежащую разделению, наносят примерно посередине или ближе к одному из электродов в зависимости от предполагаемого направления движения. Часто в состав разделяемой смеси включают какой-нибудь инертный краситель, чтобы можно было следить за ходом электрофореза

(движением полос).

Так как большинство биологических соединений не окрашено, после окончания электрофореза электрофореграмму окрашивают так же, как и хроматограмму. Это делает видимыми различные компоненты разделяемого образца (рис. 3.2 и 3.3). Окрашенные полосы можно или вырезать и исследовать, или поместить в специальный прибор — денситометр и по интенсивности окраски определить количество того или иного белка, пептида или другого компонента смеси (рис. 3.4).

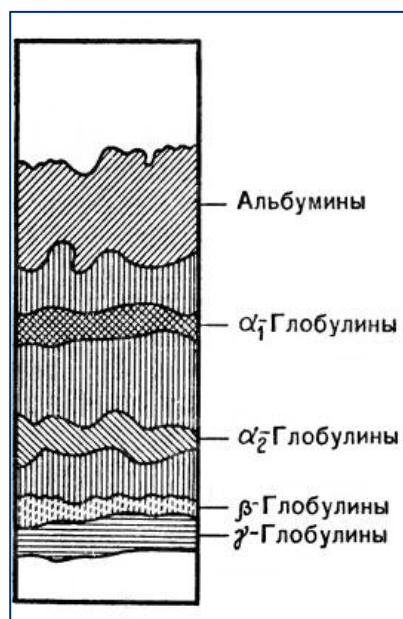


Рис. 3.3. Электрофореграмма сыворотки крови.

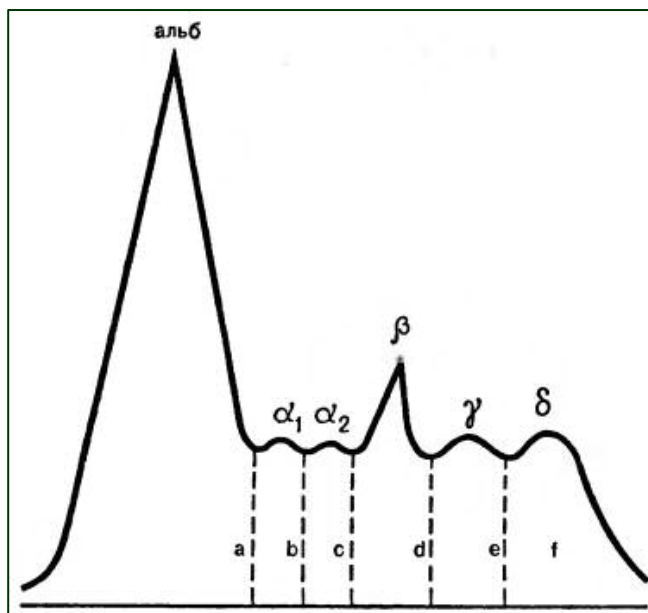


Рис. 3.4. Денситограмма плазмы крови человека:
 альб — альбумины; α_1 , α_2 — глобулины;
 в — глобулины; γ — глобулины; б — солевой рубец.
 Общая концентрация белка соответствует площади:
 $S=a+b+c+d+e+f$

Рисунок получен на денситометре — приборе, определяющем оптическую плотность полученных после электрофореза фракций.

Метод электрофореза применяется очень широко. Электрофорез на бумаге используется для разделения аминокислот, пептидов, белков, нуклеиновых кислот и заряженных производных углеводов. Низковольтный электрофорез на бумаге сопровождается значительной диффузией частиц, что приводит к нечеткому их разделению, к «размытости» границ. При высоковольтном электрофоретическом разделении время процесса сводится до минимума, и поэтому диффузия значительно уменьшается. Вместо бумаги при электрофорезе часто применяют в качестве носителя ацетат целлюлозы. Преимущество этого соединения в том, что оно имеет высокую чистоту, дает меньшую адсорбцию образца, способствует лучшему разделению компонентов, обладает низким фоном окрашивания. Поэтому электрофорез на ацетате целлюлозы широко применяется в клинике для разделения белков сыворотки крови и гемоглобинов, а также сложных белков глико и липопротеидов. Концентрация аминокислот в плазме крови и моче при некоторых заболеваниях существенно отличается от нормы и может служить важным показателем при диагностике заболевания и контроле за эффективностью проводимого лечения. Приведем несколько примеров, имеющих большое клиническое значение.

При ревматизме в хронической стадии значительно увеличено количество α - и γ -глобулинов в сыворотке крови. При инфекционных заболеваниях наблюдается увеличение у больных γ -глобулиновой фракции белков. При циррозе печени значительно снижено содержание в крови α - и γ -глобулинов. Этот эффект становится понятным, если вспомнить, что синтез названных белков происходит именно в печени. Снижение уровня альбуминов и рост количества всех глобулиновых фракций отмечается при злокачественных опухолях. Существенно отличается от электрофореграммы здорового человека соотношение белковых фракций в крови почечного больного (рис. 3.5).

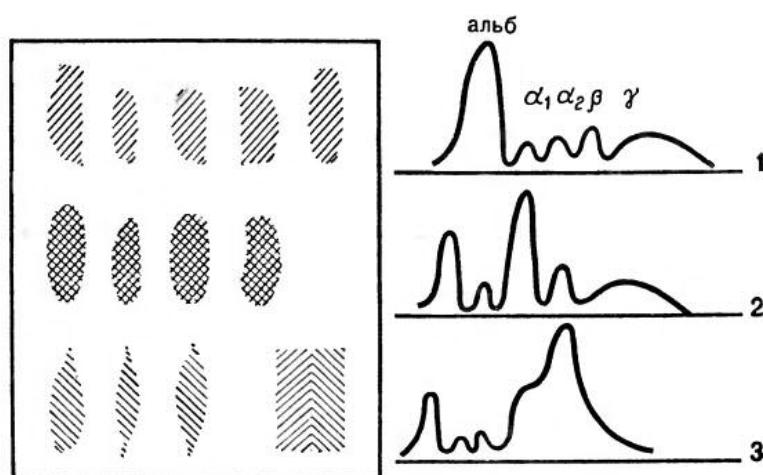


Рис. 3.5. Электрофореграмма сыворотки крови при патологических состояниях:
1 — нормальная сыворотка крови; 2 — нефроз — заболевание почек; 3 — цирроз печени.

Практика

Белковый состав сыворотки крови.

Результат электрофореза белков плазмы крови зависит от состава фракций двух основных типов белков: альбуминов и глобулинов. Альбумин — основной белковый компонент сыворотки крови — в нормальных физиологических условиях синтезируется в печени. Глобулины составляют значительно меньшую фракцию протеинового состава сыворотки крови. Интерпретация протеинограммы заключается прежде всего в анализе белковых фракций и их относительного количества.

Альбумин — наивысший пик протеинограммы — располагается ближе всего к положительному электроду. Следующие пять компонентов (глобулины), последовательно располагающиеся все ближе к отрицательному электроду, обозначаются соответственно альфа-1, альфа-2, бета-1, бета-2 и

гамма. На рисунке 3.6 приведен образец распределения белков сыворотки крови при помощи электрофореза в норме.

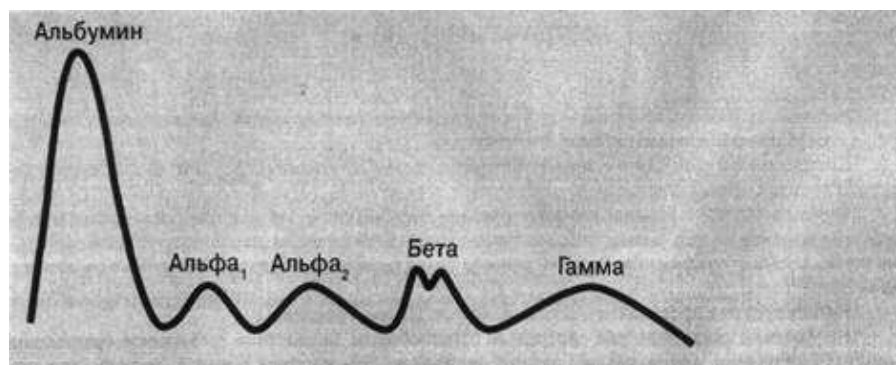


Рисунок 3.6.

Результат электрофореза белков плазмы крови в норме.

Альбумин. Альбумин представляет наибольшую белковую фракцию сыворотки крови человека. Его уровень снижается при нарушении синтезирующей функции печени и при повышенной потере или распаде данного белка. К снижению уровня альбумина приводят нарушения питания, тяжелые заболевания печени, потеря через почки (например, при нефротическом синдроме), гормонотерапия, ожоги и беременность, а к повышению — состояния, сопровождающиеся снижением относительного содержания воды в сыворотке крови (например, дегидратация).

Альфа-фракция глобулинов. Альфа-1-фракция состоит из альфа-1-антитрипсина (Угнетает активность трипсина и других протеолитических ферментов. Дефицит данного белка связан с развитием эмфиземы. - Примечание переводчика.), тирозсвязывающего глобулина и транскортина (Специфически связывает и транспортирует в плазме неконъюгированный, биологически активный кортизол. - Примечание переводчика). Ее объем возрастает при злокачественных заболеваниях и остром воспалительном процессе (благодаря белкам острой фазы), а снижается при дефиците альфа-1-антитрипсина и снижении синтеза глобулинов при заболеваниях печени. Альфа-2-фракция содержит церулоплазмин (Функция исследована недостаточно, очевидно, принимает участие в транспортировке и поддержании баланса меди в тканях, обладает феррооксидазной активностью, окисляет дополнительные ненасыщенные соединения).

Уровень данного белка снижен при болезни Вильсона-Коновалова. - Примечание переводчика), альфа-2-макроглобулин (Ингибирует ряд протеолитических ферментов. - Примечание переводчика) и гаптоглобулин (Необратимо связывается со свободным гемоглобином, вследствие чего данное соединение выводится из печени, предотвращая потерю свободного гемоглобина с мочой).

Уровень данного белка уменьшается при гемолизе, а возрастает при состояниях, сопровождающихся выраженным поражением соединительной ткани и некрозом. - Примечание переводчика), уровень которых может возрасть как белков острой фазы.

Бета-фракция глобулинов. Бета-фракция глобулинов делится на два пика: бета-1 (состоит преимущественно из трансферрина) и бета-2 (бета-липопротеин). К бета-фракции также относятся факторы комплемента, IgA, IgM и иногда IgG.

Гамма-фракция глобулинов. Основное внимание клиницистов приковано к гамма-фракции, поскольку она содержит иммуноглобулины, хотя данные белки при электрофорезе могут мигрировать и в другие фракции. С-реактивный белок находится между бета- и гамма-фракциями.

Дано

Записи пяти результатов электрофореза белков.

Таблица 3.1

	Варианты для исследования				
	1.	2.	3.	4.	5.
1.	5,170	5,79893	6,605261	5,351157	5,46
2.	16,507	17,34954	17,69814	16,64151	18,43453
3.	4,123	5,486624	6,345361	4,470401	5,891059
4.	1,874	2,406033	2,389542	2,245491	2,695692
5.	1,574	2,7454	3,323255	1,63136	5,07424
6.	2,871	3,903643	4,041514	3,255565	5,737035
7.	3,756	5,215096	4,645549	4,24712	4,45101
8.	5,012	5,818244	5,422245	5,871474	8,460488
9.	6,753	8,141369	7,647735	7,712746	11,45733
10.	8,451	8,746922	10,85727	9,385726	13,16484
11.	0,957	1,017029	2,624292	1,7439	3,683758
12.	1,025	1,988422	2,348003	1,427938	1,770138
13.	1,942	2,510887	4,333203	2,46249	3,081
14.	3,015	3,183573	3,940784	3,497661	3,536485
15.	4,529	4,954631	6,614228	5,105804	7,339736
16.	8,563	9,227863	10,59688	9,047443	11,10012
17.	5,078	5,501451	7,064658	5,131454	7,441934
18.	1,272	1,773967	1,295199	1,922555	10,789
19.	0,986	1,949977	3,391866	0,994759	11,328
20.	12,252	12,46366	13,93957	12,37845	13,73845
21.	9,854	10,79657	11,57122	10,56942	10,53234
22.	9,753	10,89247	12,23182	9,867717	11,52068
23.	12,999	13,55676	13,44283	13,63856	14,64277
24.	11,024	11,17441	13,0055	11,76975	13,38506
25.	10,029	11,28708	11,98725	10,93167	13,65852
26.	7,123	8,440092	8,911919	7,601008	10,39031
27.	5,489	5,806855	6,270424	6,03098	8,090129
28.	3,125	3,895759	5,077595	4,09805	5,720452
29.	1,012	1,510223	1,250301	1,409557	4,28626
30.	0,854	2,120964	2,261397	1,760114	3,022074
31.	4,657	4,740085	5,93813	5,37031	5,012537
32.	5,123	6,437669	5,682604	5,674734	8,0123
33.	6,013	7,360314	7,355835	6,574579	7,852
34.	6,155	7,622292	8,28282	6,647101	6,976661
35.	6,255	7,648729	7,210325	6,940704	6,604614
36.	6,315	6,891417	8,222039	6,499387	8,618245
37.	6,428	7,774551	6,765201	7,344715	9,045
38.	6,685	7,022896	8,148476	7,039792	6,0123
39.	6,872	8,336515	6,950243	7,635695	6,001
40.	7,013	8,488437	8,344023	7,912652	5,912
41.	7,258	7,780203	8,585812	7,391931	6,871
42.	7,489	8,224102	8,544396	8,280828	10,357
43.	7,954	9,438119	8,390083	8,088148	9,886468
44.	8,593	9,630208	10,99827	9,203899	10,69121
45.	9,013	9,122328	10,19778	9,621412	13,06962
46.	8,231	9,373643	10,38833	8,813893	12,7745
47.	6,532	7,593805	6,647025	6,78694	9,834602
48.	5,023	6,0633	5,670677	5,103414	5,277802
49.	2,123	3,578033	2,449035	2,26414	4,777243
50.	0,589	1,837304	1,240342	0,744674	4,553059

Задание

1. Установить различия в наборе реограмм
2. Установить номер реограммы (из табл. 3.1), отвечающей визуальному образу «норма»
3. Подготовить отчет. Расчеты провести в среде Excel/

4. Метод меченых атомов

В 30-х годах XX столетия для исследования процессов обмена веществ предложили использовать меченые атомы. Для этого применяют радиоизотопы. При распаде они испускают частицы или излучение, которые можно зарегистрировать с помощью специальных приборов. Иногда о распределении радиоизотопов в объекте судят, используя метод радиоавтографии. Принцип его заключается в том, что при контакте фотопластинки с тканью, срезом, листом растений и т. д. в определенных местах пластинки происходит ее засвечивание, которое после проявления обнаруживается в виде затемнений. Метод позволяет следить за процессами, происходящими в исследуемом объекте.

Введение изотопных меток для исследования обмена веществ сыграло большую роль в развитии науки. Считалось, что белки и липиды клеточных мембран остаются в течение всей жизни клетки стабильными и неизменными и синтезируются только один раз. Именно метод меченых атомов помог разрушить эти представления, что привело к открытию факта постоянного и непрерывного обновления всех клеточных структур. Например, меченые аминокислоты включаются в белки печени с большой скоростью. Создается впечатление, что печень, синтезируя белок, должна расти, увеличиваться по массе, накапливать белки. Однако общее количество белка в печени не увеличивается. Это может быть только в том случае, если белки печени находятся в состоянии динамического равновесия, а высокая скорость синтеза компенсируется высокой скоростью распада белковых структур или синтезом белка «на экспорт» для других органов и тканей.

Основное преимущество применения радиоактивных меток перед другими химическими и физическими методами — высокая чувствительность. Это позволяет обнаружить в организме вещества, содержащиеся в очень малых количествах, когда другие способы оказываются неприменимыми. Другим преимуществом является то, что радиоактивную метку можно вводить в живой организм и следить за ней, не влияя на обмен веществ исследуемого объекта. Чтобы не вдаваться в детали и анализ многочисленных особенностей применения радиоактивных изотопов в медико-биологических исследованиях, и в частности в химии белка, рассмотрим упрощенную схему.

Сначала в организм, орган, ткань или модельную систему вводят меченое соединение, а затем в разные периоды времени отбирают пробы, извлекают из них продукты, которые направляют на хроматографический анализ.

После хроматографирования определяют радиоактивность каждой фракции и получают информацию о том, куда включилась радиоактивная метка.

Так можно проверить (подтвердить или опровергнуть) гипотезу о пути синтеза или распада любого соединения или о других путях превращения веществ. Например, было обнаружено, что часть атомов нуклеиновых кислот находилась раньше в составе аминокислот. Это неопровержимо свидетельствует, что при распаде белков часть аминокислот идет на синтез нуклеиновых кислот.

С помощью радиоизотопов можно определять скорости обмена соединений. Например, крысам вводили меченые аминокислоты, а затем через определенные промежутки времени определяли радиоактивность разных органов и тканей. Оказалось, что белки печени обновляются через 7—14 суток, кожи и мышц — через 8—12 недель, а коллаген за год обновляется менее чем на 10%.

Очень широко в настоящее время используются изотопы не только в научных исследованиях, но и в практической медицине.

Функцию щитовидной железы исследуют при помощи меченого иода I^{131} . В клинике радиоизотопы используют для измерения времени жизни клеток крови, при диагностике заболеваний почек, легких, определении объема крови. Все это объясняется легкостью обнаружения радиоактивных изотопов и возможностью их количественного определения.

Стабильные изотопы тоже можно использовать в качестве метки или своеобразного индикатора, но обнаружить их можно только с помощью специального прибора — масс-спектрометра. Этот

прибор позволяет измерять различия в массах отдельных атомов или групп атомов и «находить» таким образом отличающиеся по массе изотопы в смеси с другими атомами. Использование стабильных изотопов требует применения довольно сложного оборудования. Но так как масс-спектрометры позволяют различать отдельные химические- группы, эти приборы сыграли и играют важную роль в установлении структуры соединений, в изучении обмена аминокислот и в других исследованиях.

Начало развитию масс-спектрометрии положено опытами Дж. Томсона (1910), исследовавшего пучки заряженных частиц, разделение которых по массам производилось с помощью электрических и магнитных полей, а спектр регистрировался на фотопластинки. Первый масс-спектрометр построен А. Демпстером в 1918, а первый масс-спектрограф создал Ф. Астон в 1919; он же исследовал изотопический состав большого числа элементов. Первый серийный масс-спектрометр создан А. Ниром в 1940; его работы положили начало изотопной масс-спектрометрии. Прямое соединение масс-спектрометра с газо-жидкостным хроматографом (1959) дало возможность анализировать сложные смеси летучих соединений, а соединение с жидкостным хроматографом с помощью термо распылительного устройства (1983) - смеси труднолетучих соединений.

Масс-спектральные приборы состоят из системы ввода пробы (система напуска), ионного источника, разделительного устройства (масс- анализатора), детектора (приемника ионов), вакуумных насосов, обеспечивающих достаточно глубокий вакуум во всей вакуумной системе прибора, и системы управления и обработки данных (рис. 4.1). Приборы соединяют с ЭВМ.



Рисунок 4.1 Блок схема прибора

Принцип анализа

Исследуемый раствор с помощью насоса подается в распылитель, в котором потоком аргона превращается в аэрозоль. Аэрозоль через центральный канал плазменной горелки попадает в плазму, где под воздействием высокой температуры (7000–8000 К) вещества, содержащиеся в пробе, диссоциируют на атомы, которые затем ионизируются. Образовавшиеся положительно заряженные ионы проходят через систему ионной оптики в анализатор (квадруполь), ходит фильтрация ионов по массе и детектирование интенсивности ионного потока. Полученный сигнал трансформируется в зависимость интенсивности от величины m/z .

МОБИЛЬНЫЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТР МХМС



Рисунок 4.2 Внешний вид прибора

АВТОМАТИЧЕСКОЕ ИЗМЕРЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОЗДУХЕ
(через каждые 25 секунд)

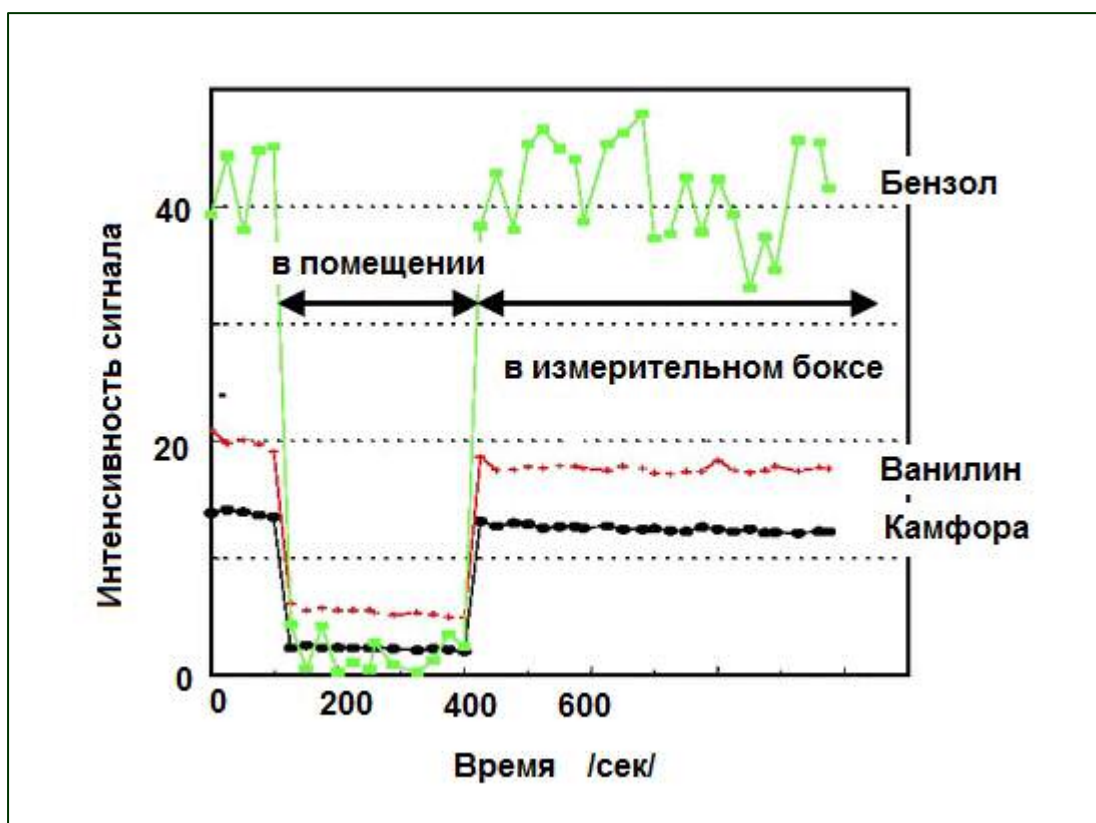


Рисунок 4.3 Скрин шот экрана - результатов исследования

Масс-спектральные приборы характеризуются чувствительностью, края определяется как отношение числа зарегистрированных ионов к числу атомов введенной пробы. За абсолютный порог чувствительности принимают минимальное количество исследуемого вещества (выраженное в

г, молях), за относительный - минимальную массовую или объемную долю вещества (выраженную в %), которые обеспечивают регистрацию выходного сигнала при отношении сигнал-шум 1:1.

Практическая часть

Дано

1. Набор сигналов, представленных дискретным рядом значений

Таблица 4.1 Исходные данные

Бензол	Ванилин	Камфара
3,916	2,333	2,643662
5,344	2,819	2,967029
4,789	3,048	3,147182
2,366	3,306	3,434529
4,452	2,769	2,425882
2,046	2,711	3,862367
3,071	2,873	3,296598
4,120	3,386	2,909545
4,759	3,250	2,709789
5,376	2,581	2,83022
2,612	3,303	2,153991
3,255	2,068	2,520796
2,263	3,350	2,185806
4,735	2,317	3,608536
2,710	2,378	2,02654
43,547	19,605	13,36604
40,304	19,275	11,51524
40,775	19,058	13,5658
42,855	19,482	12,65658
40,211	18,521	12,18987
43,185	19,029	11,62941
39,707	18,838	12,6928
42,437	19,060	12,48695
39,742	19,781	13,56266
42,124	19,240	11,9217
40,183	19,500	12,45831
43,269	19,607	12,09894
43,098	19,671	13,01181
41,316	19,616	13,31391
42,895	19,729	13,0113
41,494	19,103	11,54091
41,003	19,729	13,73371
43,078	19,140	11,74863
40,262	19,948	12,60811
41,419	19,654	11,88756
42,191	18,860	13,3684
39,843	19,118	12,71886
43,445	19,268	13,03591
43,556	18,750	12,1342
42,279	19,810	11,73987
2,247	1,978	3,353298
5,357	2,739	2,834568
4,442	3,128	2,711851
2,835	1,904	3,379564
5,021	3,237	3,581704
2,984403	2,20915	2,869714

5,711901	2,040761	2,655917
2,146876	2,832788	3,212144
5,053255	2,902049	3,072713
5,339217	2,142587	1,877707
5,663694	2,322171	3,586888
4,588952	2,077325	2,726158
3,059265	3,158429	1,825042
1,960092	2,084163	3,200129
4,185234	2,606089	3,100239
3,287154	2,787486	3,223123
2,318901	2,013604	2,963497
4,107443	2,910777	2,535352
4,530421	3,168845	3,958894
4,526594	2,4488	2,774184

Таблица 2 Данные для анализа

Вещество 1	Вещество 2	Вещество 3	Вещество 4	Вещество 5
141,88	31,01	1243,88	1410,34	46,23
194,55	38,70	1706,53	1761,25	53,28
172,53	39,36	1511,53	1789,33	54,12
87,53	44,14	769,09	2007,86	60,49
162,89	38,28	1429,58	1742,37	44,42
74,36	34,98	652,07	1590,20	65,91
113,43	39,48	996,59	1796,83	58,91
149,66	44,60	1312,43	2028,21	51,17
174,08	44,52	1527,77	2025,97	49,43
194,41	34,44	1704,02	1566,71	49,70
94,79	42,57	831,11	1935,12	37,52
117,01	26,44	1024,84	1201,62	42,90
81,90	42,75	717,91	1942,75	37,64
171,52	31,18	1503,64	1418,62	62,76
99,84	32,62	876,95	1484,71	36,95
1557,45	245,57	13633,81	11155,44	225,30
1441,10	240,97	12614,99	10946,26	193,83
1457,75	238,08	12760,47	10814,78	227,98
1533,19	244,49	13421,99	11107,15	213,88
1437,66	231,45	12584,75	10513,76	204,99
1543,66	237,52	13512,25	10788,99	195,34
1422,71	238,47	12456,96	10835,38	216,48
1519,78	240,75	13306,05	10938,38	212,55
1420,12	246,36	12430,39	11190,22	227,20
1506,70	241,08	13189,67	10951,87	201,18
1439,62	246,62	12604,85	11205,65	212,46
1546,99	245,03	13541,70	11130,66	203,53
1543,56	248,52	13514,37	11291,50	221,49
1477,80	245,76	12936,75	11164,33	224,49
1534,49	247,43	13433,19	11240,28	219,67
1484,57	239,78	12996,37	10893,06	195,20
1465,52	246,06	12828,11	11176,53	230,40
1539,38	238,44	13474,38	10830,52	196,89
1439,89	249,65	12604,71	11340,88	212,43
1480,10	244,84	12955,48	11121,15	199,20
1507,91	235,18	13199,13	10682,49	224,23

1423,92	238,29	12463,87	10823,84	213,26
1556,53	244,10	13628,56	11091,56	222,50
1559,49	236,62	13653,39	10750,53	206,36
1511,50	247,47	13230,99	11240,99	197,42
83,31	27,66	732,21	1259,29	59,18
192,24	34,93	1683,53	1587,49	48,30
160,98	41,20	1411,35	1873,37	47,66
101,29	23,70	886,56	1076,66	56,59
179,62	40,50	1572,41	1839,92	60,18
107,24	28,11	939,31	1277,49	48,66
205,18	26,50	1797,04	1204,61	45,56
77,35	35,91	677,69	1631,65	54,43
182,60	38,18	1600,37	1736,04	53,50
193,33	29,23	1694,77	1330,19	34,00
204,50	31,04	1792,15	1412,20	62,20
167,82	29,71	1472,75	1353,37	49,50
111,42	41,43	977,36	1883,94	32,67
72,34	28,26	635,53	1285,69	55,89
153,46	36,36	1347,12	1655,43	55,83
121,22	38,47	1064,78	1751,02	57,74
83,06	25,27	727,20	1147,97	49,82
150,35	39,83	1319,63	1812,68	46,04
162,68	40,25	1424,69	1829,03	67,09
163,24	31,99	1430,33	1454,39	47,95

Задание

1. Установить различия в наборе сигналов (таблица 1)
2. Провести количественное сопоставление сигналов
3. Вычислить дисперсию
4. Провести анализ сигналов (таблица 2)
5. Вычислить дисперсию
6. Найти подобные сигналы из таблицы 1 и таблицы 2
7. Указать критерии подобия
8. Подготовить отчет. Расчеты провести в среде Excel

5. Общий анализ мочи

Процедура включает исследование физических (цвет, прозрачность, запах, рН, удельный вес), химических параметров (желчные пигменты, белок, глюкоза и др.), а также микроскопию осадка мочи (эритроциты, лейкоциты, гемоглобин, цилиндры и др.).

Последний анализ заключается в изучении твердого остатка, полученного центрифугированием.

Таблица 5.1 Нормы общего анализа мочи

	Показатели	Результат
1.	Количество доставленной мочи на анализ	Диагностического значения не имеет
2.	Цвет мочи	Различные оттенки жёлтого цвета
3.	Прозрачность мочи	Прозрачная
4.	Запах мочи	Нерезкий, неспецифический
5.	Реакция мочи или pH	Кислая, pH больше 4 и меньше 7
6.	Удельный вес (относительная плотность) мочи	1,018 и более в утренней порции
7.	Плотность	В пределах 1,012 г/л – 1,022 г/л
8.	Белок в моче	отсутствует, до 0,033 г/л
9.	Глюкоза в моче	отсутствует, до 0,8 ммоль/л
10.	Кетоновые тела в моче	Отсутствуют
11.	Билирубин в моче	Отсутствует
12.	Гемоглобин в моче	Отсутствует
13.	Эритроциты в моче (микроскопия)	0 -3 в поле зрения для женщин 0 -1 в поле зрения для мужчин
14.	Лейкоциты в моче (микроскопия)	0–6 в поле зрения для женщин 0–3 в поле зрения для мужчин
15.	Эпителиальные клетки в моче (микроскопия)	0-10 в поле зрения
16.	Цилиндры в моче (микроскопия)	Отсутствуют
17.	Соли в моче (микроскопия)	Отсутствуют
18.	Бактерии в моче	Отсутствуют
19.	Грибы в моче	Отсутствуют
20.	Паразиты в моче	Отсутствуют

Задание создать алгоритм и программный модуль автоматического сопоставления результатов клиничко-лабораторного анализа.



Рисунок 5.1 Структура программного анализатора
Исходные данные для проведения тестов

Таблица 5.1a Данные общего анализа мочи

	Показатели	Результат
21.	Количество доставленной мочи на анализ	Диагностического значения не имеет
22.	Цвет мочи	Различные оттенки жёлтого цвета
23.	Прозрачность мочи	Прозрачная
24.	Запах мочи	Нерезкий, неспецифический
25.	Реакция мочи или pH	pH =7,21
26.	Удельный вес (относительная плотность) мочи	1,372 и более в утренней порции
27.	Плотность	В пределах 1,0015 г/л
28.	Белок в моче	0,073 г/л
29.	Глюкоза в моче	0,85 ммоль/л
30.	Кетоновые тела в моче	Имеются
31.	Билирубин в моче	Отсутствует
32.	Гемоглобин в моче	Имеется
33.	Эритроциты в моче (микроскопия)	5
34.	Лейкоциты в моче (микроскопия)	3
35.	Эпителиальные клетки в моче (микроскопия)	8
36.	Цилиндры в моче (микроскопия)	Отсутствуют
37.	Соли в моче (микроскопия)	Отсутствуют
38.	Бактерии в моче	Отсутствуют
39.	Грибы в моче	Отсутствуют
40.	Паразиты в моче	Отсутствуют

Таблица 5.1a Данные общего анализа мочи

	Показатели	Результат
41.	Количество доставленной мочи на анализ	Диагностического значения не имеет
42.	Цвет мочи	Различные оттенки жёлтого цвета
43.	Прозрачность мочи	Прозрачная
44.	Запах мочи	Нерезкий, неспецифический
45.	Реакция мочи или pH	pH = 7,12
46.	Удельный вес (относительная плотность) мочи	1,21 и более в утренней порции
47.	Плотность	В пределах 1,0015 г/л
48.	Белок в моче	0,073 г/л
49.	Глюкоза в моче	0,85 ммоль/л

50.	Кетоновые тела в моче	Имеются
51.	Билирубин в моче	Отсутствует
52.	Гемоглобин в моче	Имеется
53.	Эритроциты в моче (микроскопия)	5
54.	Лейкоциты в моче (микроскопия)	3
55.	Эпителиальные клетки в моче (микроскопия)	8
56.	Цилиндры в моче (микроскопия)	Отсутствуют
57.	Соли в моче (микроскопия)	Отсутствуют
58.	Бактерии в моче	Отсутствуют
59.	Грибы в моче	Отсутствуют
60.	Паразиты в моче	Отсутствуют

Задание

1. Создать компьютерный модуль по оценке данных клинического анализа
2. Установить различия в наборе данных (таблица 5. таблица 5. 1 и таблица 5. 2)
3. Провести количественное сопоставление таблиц в режиме «компьютерный модуль»
4. Подготовить отчет.

Рекомендуется использовать среду программирования Visual Basic, поставляемую в пакете типового офиса