**Применение ферментов оксидоредуктаз в медико-биологических исследованиях**

**Григорьева Елизавета Денисовна, МАОУ лицей № 77 г. Челябинска, 11 класс**

 Медико-биологические исследования, направленные на ранее выявление патологических процессов в организме человека и животных, в настоящее время приобретают всё большее значение. Значительная часть экспресс-методов основано на применении цветных реакций, позволяющих выявить продукты жизнедеятельности микроорганизмов (и вирусов), а также избыточные или, наоборот, недостаточные концентрации естественных метаболитов. Чем меньшие отклонения от нормы тех или иных веществ, характеризующих патологических процесс, удаётся обнаружить, тем раньше может быть оказана квалифицированная медицинская помощь. Большая часть цветных реакций, применяемых для исследования биологических сред, являются химическими реактивами, которые могут давать побочные реакции, а потому часто имеют невысокую чувствительность, не дают возможности на 100% утверждать, что в организме протекает патологический процесс. Требуются дополнительные исследования. На эти дополнительные исследования требуется дополнительное время. Проводить такие исследования возможно в специализированной лаборатории. Важно отметить, что в таких медико-биологических исследованиях могут применяться небезопасные вещества (соли свинца, бензидин, ртутные соединения и др.). В связи с этим такие методики не могут применяться неспециалистами, например в домашних условиях. Разработка простых, безопасных, основанных на доступных материалах и оборудовании ранней диагностики патологических процессов в организме является актуальной задачей. **Целью** нашей работы является разработка экспресс-методов ранней диагностики ряда патологических процессов, основанная на применение оксидоредуктаз. Ферменты работают очень быстро, точно и, при правильном их использовании, не дают побочных (в том числе опасных) продуктов. **Рабочая гипотеза** нашего исследования состоит в утверждении, что применение оксидоредуктаз в медико-биологических исследованиях позволят существенно понизить обнаруживаемые концентрации соединений характерных для многих патологических процессов и обнаружить такие процессы в организме на самых ранних стадиях. Учитывая механизм работы оксидоредуктаз, можно определить методы, применяемые в наших экспериментах. Это методы окисления и окислительной конденсации органических соединений, с образованием хромофоров. В процессе исследования необходимо было решить ряд задач:

1. Анализ литературных источников и интернет-ресурсов, посвящённых методам исследования биологических сред на предмет обнаружения в них веществ, характеризующих патологический процесс, протекающий в организме человека и животных.

2. Разработка высокочувствительных экспресс-методов обнаружения в биологических средах веществ, характеризующих патологический процесс.

3. Создание опытных образцов оборудования для медико-биологических исследований, которые могут применять вне биохимической лаборатории, не только специалисты, но и обычные люди.

 **Литературный обзор**

Ферменты играют исключительно важную роль в биохимическом анализе. В биологических материалах, например в жидких средах организма, с помощью определения каталитической активности можно обнаружить ферменты в ничтожно малых концентрациях [1]. Энзимы можно использовать как реагенты для определения концентраций метаболитов самого организма, а также патогенной флоры. Ферменты применяют как реагенты для определения уровня глюкозы в крови, а также в моче. Большая часть ферментативных реакций – относятся к цветным реакциям.  При определении субстрата ферментативной реакции к анализируемой пробе прибавляют фермент и др. необходимые для реакции компоненты. По окончании реакции тем или иным удобным методом устанавливают в растворе содержание продукта реакции [2]. Очевидно, что обнаружение нехарактерной ферментативной активности в организме человека или животного может указывать на присутствие той или иной флоры (бактерии, грибы, риккетсии) [3, 4]. С ферментами связан целый ряд перспективных исследований и разработок в сфере медицины, которые помогут удешевить производство антибиотиков и сделать их более эффективными, повысить качество и доступность средств диагностики многих серьезных недугов, в частности, сердечно-сосудистых заболеваний [5, 6]. Ферменты активно используются в комплексной терапии целого ряда серьёзных заболеваний. Применение ферментов для заместительной терапии практикуется уже давно, причем необходимого увеличения количества фермента во внеклеточных жидкостях и пищеварительных соках достигают сравнительно легко. Для лечения расстройств пищеварения предложено множество препаратов, содержащих смесь ферментов животного и растительного происхождения, расщепляющих белки, жиры, углеводы, и другие компоненты [7, 8]. Ферменты характеризуются очень большим увеличением скорости реакций. Они работают в мягких условиях и практически не образуют побочных продуктов, при высоком уровне селективности в отношении субстратов [9, 10]. Ферменты и небиологические катализаторы, подчиняясь общим законам катализа, имеют следующие общие признаки: - они катализируют только энергетически возможные реакции; - не изменяют направления реакции; - ускоряют наступление равновесия обратимой реакции и не сдвигают его; - не расходуются в процессе реакции. Однако ферменты обладают особыми качествами, отличающими их от небиологических катализаторов. Эти отличия связаны с особенностями строения ферментов, как веществ белковой природы: - скорость ферментативного катализа намного выше, чем небиологического, так как ферменты сильнее снижают энергию активации. Так, например, энергия активации реакции разложения пероксида водорода без катализатора составляет 75,6 кДж/моль, с участием катализатора платины - 49,14 кДж/моль, а с участием фермента каталазы - 23,1 кДж/моль. Понимание механизмов работы ферментов и прогресс в изучении их строения открывают возможности для разработки высокоточных экспресс-методик диагностики многих неинфекционных и инфекционных заболеваний [11, 12]. Важно отметить то, что применение ферментативного метода в медико-биологических исследованиях можно организовать так, чтобы не приходилось использовать вредные вещества и исключить образование опасных для человека соединений [13, 14]. Хорошая предсказуемость продуктов реакции и практически количественный их выход, обуславливают возможность применения ферментативных методов в медико-биологических исследованиях, дают возможность ранней диагностики патологических процессов в организме [15].

Особое внимание заслуживают ферменты оксидоредуктазы, которые играют ключевую роль в получении энергии у всех живых организмов, а потому оценка активности этих ферментов имеет важное диагностическое значение, как инфекционных процессов, так и неинфекционных заболеваний. Ферменты этого класса катализируют **окислительно-восстановительные реакции,** лежащие в основе биологического окисления. Класс насчитывает 22 подкласса. Коферментами этого класса являются НАД**,**НАДФ, ФАД, ФМН, убихинон, глутатион, липоевая кислота [16].

Примером подклассов могут служить ферменты, действующие на СН-ОН-группу доноров, на СH-СН-группу доноров, на СН-NН2-группу доноров, на гемсодержащие доноры [17]. Большое практическое значение имеют методики ферментативного анализа, основанные на применении ферментов группы пероксидаз. Пероксидазы, группа ферментов класса [оксидоредуктаз](https://www.booksite.ru/fulltext/1/001/008/084/023.htm), которые катализируют окисление различных полифенолов, алифатических и ароматических аминов, а также жирных кислот (пероксидаза жирных кислот), цитохрома (цитохромпероксидаза), глутатиона (глутатионпероксидаза) с помощью перекиси водорода (H2O2) или органических перекисей [18]. Например, растительные соки некоторых растений, практически не содержащие оксидаз, можно применить для обнаружения многих опасных веществ, которые в процессе ферментативного окисления превращаются в окрашенные (хорошо заметные в исследуемых жидкостях) соединения. Другая группа ферментов, которая на наш взгляд, заслуживает внимание для медико-биологических исследований – это дегидрогеназы. Дегидрогеназы (от [*де...*](https://www.booksite.ru/fulltext/1/001/008/020/763.htm) и новолат. hуdrogenium — водород), ферменты, катализирующие отщепление водорода от органических веществ. [Коферментами](https://www.booksite.ru/fulltext/1/001/008/065/419.htm) Д. обычно являются динуклеотиды: никотинамидадениндинуклеотид (НАД), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ) или флавинадениндинуклеотид (ФАД) и флавинмононуклеотид (ФМН), которые акцептируют водород окисляемого вещества [19]. Ферменты этой группы отщепляют водород от субстрата и переносят его на органические соединения, которые при этом переходят в восстановленную форму. Если внести в раствор окрашенное вещество (хромофор), которое имеет подходящий редокс-потенциал, то это соединение, в результате восстановления, может изменить цвет или обесцветиться. Хромофоры, которые меняют цвет, восстанавливаясь (и окисляясь) называют окислительно-восстановительными индикаторами. При выборе окислительно-восстановительных индикаторов к ним предъявляют следующие требования: 1. Окраска окисленной и восстановленной форм индикатора должна быть различна; 2. Интервал значений потенциалов, при котором происходит редокс-переход индикатора, а, следовательно, изменение его окраски, должен быть мал; 3.  Изменение цвета раствора должно быть отчетливым при небольшом количестве индикатора; 4. Индикатор должен быть устойчив к воздействию окружающей среды [20]. Установлено, что некоторые окислительно-восстановительные индикаторы обладают антисептическим действием, а потому не могут применяться для оценки активности живых бактерий, грибов, риккетсий и простейших. Важно также, чтобы индикатор не являлся ингибитором энзимов и не связывал в прочные комплексы катионы металлов, играющие важную роль в жизнедеятельности микроорганизмов и имеющими важное значение для проявления активности отдельных ферментов [21]. Красные кровяные тельца содержат гем, и обладают каталитической активностью. Эта каталитическая активность красных кровяных телец проявляется в их способности ускорять реакции окисления и окислительной конденсации, протекающие с участием пероксида водорода [22]. На каталитической активности красных кровяных телец основаны некоторые методики обнаружения следов крови в судебно-медицинской экспертизе, а также обнаружение следов крови в моче. Однако, применение ферментативного окисления для обнаружения следов крови в моче не всегда даёт достоверный и однозначный результат. Это связано с тем, что прямое окисление органических веществ, например бензидина, часто сопровождается конкурентными, более быстро протекающими, реакциями окисления иногда присутствующих в моче сильных восстановителей. Применение методов прямого окисления органических веществ при участии красных кровяных телец, с образованием хорошо наблюдаемых хромофоров, требует серьёзных навыков эксперта и условий специализированной лаборатории. Для разработки экспресс-методик обнаружения следов крови в моче мы полагаем более приемлемыми являются реакции окислительной конденсации, которые протекают на несколько порядков быстрее конкурирующих процессов.

  **Собственные исследования**

**Экспресс-методика обнаружения индикана в моче**

Важное значение для диагностики заболеваний кишечника (усиленное гниение, вызванное гнилостными бактериями, метеоризм, заворот и др.) имеет качественная реакция на индикан. Это калиевая или натриевая соль индоксилсерной кислоты, которая присутствует в моче здорового человека в следовых количествах. В моче человека с серьёзными заболеваниями кишечника индикан содержится в повышенных количествах. Обычно (в клинических лабораториях) индикан обнаруживают цветной реакцией окисления хлорным железом. В процессе определения применяют ацетат свинца, крепкую соляную кислоту, хлороформ и тиосульфат натрия. Относительная сложность методики, основанной на применении соединений свинца и крепкой соляной кислоты, делает её возможной лишь в специализированной лаборатории. Так как хлорное железо может давать и другие окрашенные также в синий (или в другие цвета) цвет соединения, чувствительность методики не даёт 100 % результат и не позволяет обнаружить патологический процесс на ранних стадиях. Мы предлагаем методику окислительной конденсации индоксила (образуется в процессе гидролиза индикана) пероксидом водорода с образованием индигокармина, основанную на использовании фермента пероксидазы. В просе своего исследования нами были изучены различные источники пероксидазы животного и растительного происхождения. Биологические среды животного происхождения нам не подходят по причине наличия в них целого ряда веществ, которые могут давать окрашенные продукты при взаимодействии с пероксидом водорода (сложно увидеть синюю окраску индигокармина). Ещё одним минусом применения биологических жидкостей животного происхождения является то, что они плохо хранятся, и в них может развиваться бактериальная флора, которая искажает результаты анализа мочи на содержание индикана. Исследования растительных соков было направлено на поиск сырья, которое практически не содержит конкурирующих ферментов оксидаз. Нами было установлено, что оксидазы ускоряют реакции окисления кислородом воздуха многих компонентов мочи (в том числе индикана), с образованием продуктов (хромофоров) красного, коричневого и других цветов. В итоге мы остановили свой выбор на растительных тканях капусты белокочанной (часть, которая не идёт в пищу), которые практически не содержат оксидаз. Нами установлено, что растительное сырье этого культурного растения весьма доступно, хорошо высушивается (в эксикаторе) и сохраняет ферментативную активность, как минимум, 8-9 месяцев. Учитывая то, что водные растворы пероксида водорода постепенно разлагаются при хранении, мы применяли устойчивый комплекс пероксида водорода с карбамидом (содержит 30% Н2О2), который хорошо сохраняется не менее года. Остановимся подробнее на медике определения индикана в моче. К 4 миллилитрам исследуемой мочи мы добавляли 1 мл. 6% раствора уксусной кислоты, а через 10 минут нейтрализовали раствор 5 каплями раствора соды. Полученный раствор фильтровали. К фильтрату добавляли 0,5 грамм сухого растительного материала тканей капусты белокочанной (содержит пероксидазу) и 1 грамм комплекса мочевины с карбамидом. Если в моче есть индикан, то в течение 4-6 минут развивалась хорошо заметная, устойчивая (не менее 30 суток) синяя окраска. Эта окраска не должна исчезать при добавлении (1 мл. 10% раствора) тиосульфата натрия. Сравнивая (серия опытов с внесением разных количеств индикана) описанную выше традиционную методику с предлагаемой нами, было установлено, что чувствительность нашей методики в 10-12 выше. Это означает, что применение методики, основанной на окислительной конденсации с применением пероксидазы, позволит (на основании анализа мочи) диагностировать патологический процесс в кишечники человека на ранних стадиях. Ранняя диагностика болезней, как известно, повышает шансы на полное исцеление. Учитывая то, что используемые реактивы и оборудование просты, доступны, недороги и безопасны, предлагаемую нами экспресс-методику, можно применять и вне специализированной лаборатории. Реакция окислительной конденсации индоксила (продукт гидролиза индикана под влиянием уксусной кислоты) при участии пероксидазы протекает быстро, без побочных продуктов пи при обычной температуре. Очевидно, что по интенсивности синей окраски раствора можно судить о концентрации индикана в моче человека и некотрых животных.

 **Экспресс-методика обнаружения адреналина в биологических средах**

Важное диагностическое значение в медико-биологических исследованиях имеет обнаружение повышенных концентраций адреналина в моче и в крове человека. Например, при некоторых опухолях (феохромоцитома-опухоль мозгового вещества надпочечников) наблюдается повышенное содержание адреналина в плазме крови. Традиционно для обнаружения адреналина (и норадреналина) в биологических средах применяют цветные реакции с пероксодисульфатом (образуется адренохром красного цвета) с нитритом натрия (образуется продукт от желтого до оранжевого цвета), с диазореактивом (красное окрашивание) и с хлорным железом (комплекс с пирокатехиновым кольцом зелёного цвета). Описанные методы дают хорошие результаты с растворами адреналина, не содержащими веществ, которые могут конкурентно реагировать с описанными реагентами. Поэтому точность таких методов высока при применении предварительных стадий разделения и очистки исследуемых биологических сред (кровь, моча и др.). Очевидно, что такие исследования необходимо проводить в специализированной лаборатории. Мы предлагаем методику экспресс-анализа биологических сред (плазма крови, моча и др.) на повышенное содержание адреналина. В качестве окислителя используем комплекс карбамида с пероксидом водорода, а в качестве фермента растительный сок капусты белокочанной, содержащей пероксидазу. Суть методики аналогична описанной выше (обнаружение индикана в моче), за исключением использования раствора уксусной кислоты, чтобы исключить превращение индикана в индоксил, с последующим образованием окрашенного в синий цвет индигокармина (помещает наблюдать образование адренохрома из адреналина) . К 4 миллилитрам исследуемой мочи ( или плазмы крови) мы добавляли 1 мл. 6% раствора добавляем 0,5 грамм сухого растительного материала тканей капусты белокочанной (содержит пероксидазу), 0,1 г Трилона Б (связывает катионы вызывающие распад пероксида водорода) и 1 грамм комплекса мочевины с карбамидом. При наличии избыточных концентраций адреналина в исследуемых средах наблюдаем развитие красной окраски раствора адренохрома. Для удобства использования, мы заранее помещаем в ёмкость (флакон, называемый «пенициллинкой») сухой порошок из растительного материала, трилона Б и необходимое количество комплекса карбамида с пероксидом водорода. Далее остаётся только добавить исследуемую жидкость (моча, плазма крови и др.). Таким образом, предлагаемую нами методику можно применить как предварительное исследование в любом месте, а не только в условиях клинической лаборатории.

 **Улучшенная методика обнаружения следов крови в моче**

В медико-биологических исследованиях исключительно важную роль играют исследования мочи на предмет обнаружения в ней следов крови. Наличие следов крови в моче указывает на серьёзные заболевания выделительной системы или на наличие серьёзных травм, которые могут и не сопровождаться болевыми ощущениями. Для обнаружения следов крови традиционно используют реакцию окисления бензидина пероксидом водорода. Эту реакцию катализируют (пероксидазная активность) фрагменты красных кровяных телец, содержащие гем. Недостатком метода является то, что бензидин является опасным реактивом, а именно канцерогеном, вызывающим онкологические заболевания почек и мочевыводящих путей. Это делает его не очень подходящим реактивом для применения обычными людьми, вне специализированной лаборатории. Другим недостатком методики обнаружения следов крови, основанной на применении бензидина, является то, что катионы некоторых d-элементов (комплексы железа, меди, марганца др.), которые могут содержаться в моче, способны катализировать окисление бензидина кислородом воздуха. В результате также развивается синяя окраска продукта окисления бензидина, которая аналогична окраске, обусловлено пероксидазной активностью кровяных телец. Поэтому бензидиновая проба не является точной методикой, а рассматривается как предварительная проба. Мы предлагаем применить для обнаружения следов крови в моче иную методику, основанную на реакции окислительной конденсации (окислитель – пероксид водорода в комплексе с карбамидом) 4-аминоантипирина с альфа-нафтолом. Эту реакцию не могут заметно ускорять иные вещества (в частности комплексы d-элементов), которые могут присутствовать в моче. То есть применение реакции окислительной конденсации является высокоселективной и будет положительной (красно-бардовое окрашивание) только при объективном наличии крови в исследуемой моче. Для исследования к 4 мл. мочи добавляем 5 капель 3 % спиртового раствора альфа нафтола, 5 капель 5 % раствора 4-аминоантипирина, 0,15 г Трилона Б (связывает катионы d-элементов,вызывающие распад пероксида водорода и конкурентные окислительные реакции с участием кислорода воздуха) и 1 грамм комплекса мочевины с карбамидом. Развитие характерной окраски наблюдается при наличии следов крови в моче даже тогда, когда бензидиновая проба оказывается отрицательной. Это свидетельствует о значительно большей (примерно в 6 раз) чувствительности, предлагаемой нами методики. Предлагаемую нами методику можно применять как тестовую вне специализированной лаборатории, если во флакон («пенициллинка») поместить необходимые реактивы (в сухом виде). Остаётся только добавить к смеси реактивов исследуемую мочу. Это может сделать любой человек, в случае если возникнет такая необходимость или подозрение на заболевание или травму. То есть обычный человек (не врач) может дома или в полевых условиях исследовать мочу на предмет содержания в ней следов крови. В случае положительной реакции, учитывая высокую чувствительность метода и хорошо сохраняющуюся окраску раствора (не менее месяца), в отличие и продукта окисления бензидина, пациент сможет аргументировано просить своевременную помощь от медицинского учреждения на самом раннем этапе заболевания.

 **Методика обнаружения дегидрогеназной активности патогенной флоры в моче**

 В норме моча человека не должна содержать бактерии и грибы. В случае развития ряда патологических процессов, в ней могут находиться анаэробные микроорганизмы или, продуцируемые ими, ферменты, активность которых можно обнаружить цветными реакциями. Причём, если клетки бактерий и грибов можно наблюдать в оптический микроскоп, а вот молекулы ферментов увидеть, возможно, лишь в электронный микроскоп после специальной процедуры разделения составных частей мочи. Возможна такая ситуация, когда сами бактерии и грибы практически не находятся в моче, а прочно связаны с отдельными составляющими выделительной системы. В этих случаях ферменты, обнаруживаемые в моче, явно указывают на наличие в органах выделительной системы нежелательной флоры. Патогенные микроорганизмы, обитающие в выделительной системе человека, активно используют ферменты группы дегидрогеназ. Такие ферменты окисляют субстраты (органические вещества, находящиеся в выделительной системе и в моче) путём отщепления водорода и переносом его на подходящий субстрат, например ФАД и НАДФ. Если в исследуемую биологическую жидкость внести подходящий хромофор, например, окислительно-восстановительный индикатор, то последний будет менять окраску (или обесцвечиваться) при наличии в исследуемой среде патогенных микроорганизмов. Дегидрогеназы восстанавливают индикатор (хромофор) до лейкооснования, которое имеет отличную от начальной окраску, либо является бесцветным соединением. Мы предлагаем применять для таких исследований индикатор тиазиновый синий, который в отличие от структурно близких ему соединений (тионин, толуидиновый синий, тионол, метиленовый синий и др.), при хорошей растворимости в биологических жидкостях, устойчив к разрушению в биологических средах, а также в моче. Этот факт был установлен нами опытным путём. Остановимся подробнее на предлагаемой нами методике исследования мочи на предмет дегидрогеназной её активности. Для исследования к 4 мл. мочи добавляем 3 капли спиртового раствора тиазинового синего 3 %, 0,15 г комплексона, Нитрилтриуксусной кислоты (связывает катионы d-элементов, которые могут взаимодействовать с индикатором, меняя его редокс-потенциал и окраску) и 1 мл. 5%; раствора глюкозы. При наличии в моче активной дегидрогеназы, наблюдаем обесцвечивание индикатора. Обесцвечивание индикатора явно указывает на присутствие в выделительной системе нежелательной флоры. Исследование мочи на предмет дегидрогеназной активности можно провести и вне специализированной клинической лаборатории, если применить смесь сухих инградиетов в расчётном соотношении, упакованную в небольшую ёмкость («пенициллинка»). Обычный человек может это сделать даже в домашних условиях. Если наблюдаем в опыте наблюдаем обесцвечивание тиазинового синего – это является прямым подтверждением на наличие нежелательной флоры в выделительной системе человека и необходимость обратиться (своевременно) в медицинское учреждение для серьёзного исследования и лечения.

 **Выводы**

1. Разработана высокочувствительная методика обнаружения индикана в моче человек, которая позволяет обнаружить патологический процесс в кишечнике человека на самых ранних стадиях и начать своевременное лечение.

2. Создана экспресс-методика обнаружения адреналина в биологических средах, с использованием фермента пероксидазы, которая отличается относительной простой, но высокой чувствительностью. Данную методику обнаружения адреналина можно применять для обнаружения повышенных норм адреналина в плазме крови, в моче и потовых выделениях. Повышенное содержание адреналина (в покое) в биологических средах является важным симптомом ряда опасных заболеваний, а потому предлагаемая методика может активно использоваться, как медиками, так и неспециалистами (в домашних условиях).

3. Разработана улучшенная методика обнаружения следов крови в моче, основанная на катализируемой гем-содержащими красными кровными тельцами, а также их фрагментами реакции окислительной конденсации (развивается хорошо заметная красно-бордовая окраска в исследуемой моче). Предлагаемая методика является высокочувствительной, а потому имеет значение для обнаружения патологических процессов в выделительной системе человека (болезни почек, мочевого пузыря и других элементов выделительной системы) , включая онкологические заболевания.

4. Создана высокочувствительная методика обнаружения дегидрогеназной активности мочи, которая позволяет обнаружить патогенную флору в выделительной системе человека. Цветная ферментативная реакция может быть проведена и в домашних условиях. Ранее обнаружение патогенной флоры в выделительной системе человека – веское основание обратиться к специалистам медикам и начать своевременное лечение.

 Предлагаемые методики не отменяют существующих лабораторных методов исследования в медицинских учреждения, а скорее, в случае обнаружения патологических отклонений, своевременным (на самых ранних этапах заболевания) поводом к ним. Главным результатом наших исследований является то, что предлагаемы экспресс-методики могут применять не специалисты, а обычные люди, например, в домашних условиях, как они это делают, определяя давление или уровень глюкозы в крови.

 **Литература**

1. Ферментативный анализ. <https://www.chem.msu.ru/rus/teaching/kolman/106.htm>

2. Кузнецов В.П. Всемогущие ферменты. - М.: Знание, 1996.

3. Ферментативные методы анализа. <https://www.booksite.ru/fulltext/1/001/008/115/805.htm>

# 4. Реннеберг. Эликсиры жизни. - М.: Мир, 1997.

# 5. Ферменты на службе у медицины: применение для молекулярной диагностики и генной инженерии. <https://issek.hse.ru/trendletter/news/150387003.html>

6. Кушманова О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии М.: Медицина, 2021.

7. Филлипович Ю.Б. Практикум по общей биохимии. - М.: Просвещение, 1999.

8. Ферменты и белковые препараты в медицине. <https://www.chem.msu.ru/rus/teaching/biotech/all.pdf>

9. Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии. - Ростов-на-Дону.: Феникс, 2009.

10. В.А.Афанасьев, Г.Е. Заиков В мире катализа. – М. :Наука, 1997.

11. Николаев Л.А. Металлы в живых организмах. - М.: Просвещение, 1986.

12. Учебно-методическое пособие по теме: «Ферменты» . <https://www.vsavm.by/wp-content/uploads/2013/12/Fermenty.pdf>

13. С.Г.Галактионов. Биологически активные вещества. М.: Молодая гвардия, 2008.

14. А. Сассон. Биотехнология содержания и надежды. - М.: Мир, 1997.

15. В.Н. Сойфер. Молекулы живых клеток. М.: Знание, 2015.

# 16. Оксидоредуктазы. <https://biokhimija.ru/fermenty/oksidoreduktazy.html>

17.Окислитпельно-восстановительные коферменты. <https://www.chem.msu.ru/rus/teaching/kolman/108.htm>

18. Пероксидаза. <https://www.booksite.ru/fulltext/1/001/008/088/375.htm>

19. Дегидрогеназы. <https://www.booksite.ru/fulltext/1/001/008/021/303.htm>

20. Кореннак И.П. Методы определения органических соединений. - М.: Химия,1999. 21. Фрайфельд Д. Физическая биохимия. -М.: Мир, 1989. 22. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. Том 1.– М.: Мир, 1994.