

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО
КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ**

БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

НАВЧАЛЬНО - МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК

**(для студентів фармацевтичного факультету
спеціальність 226 «Фармація, промислова фармація»)**

(другий магістерський рівень)

(Частина 1)

ЛЬВІВ 2022

Біологічна хімія. Навчально-методичний посібник для студентів фармацевтичного факультету (другий магістерський рівень): ас. Білецька Л.П., проф. Кобилінська Л.І., ас. Мазур О.Є., доц. Макаренко Т.М., доц. Федевич Ю.М., проф. Фоменко І.С., 2022. – 136 с.

За редакцією проф. Кобилінської Л.І.

Рецензенти:

Лесик Р.Б. д. фарм. н., професор, завідувач кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Драпак І.В. д. фарм. н., професорка, завідувачка кафедри загальної, біонеорганічної, фізколоїдної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Затверджено на засіданні Вченої ради Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «27» лютого 2019 року.

Посібник розроблений згідно навчальної програми дисципліни “Біологічна хімія” (2022) для спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація» галузі знань 22 “Охорона здоров’я” у відповідності з освітньо-кваліфікаційними характеристиками та освітньо-професійними програмами підготовки фахівців відповідно до Стандарту вищої освіти України (другий магістерський рівень). Посібник розрахований для студентів фармацевтів та клінічних фармацевтів закладів вищої освіти України.

ВСТУП

Біологічна хімія належить до фундаментальних медико-біологічних дисциплін. Знання біохімічних процесів, які відбуваються на різних рівнях організації – клітинному, органному, тканинному та цілого організму – необхідні студентам-фармацевтам як для розуміння метаболічних процесів обміну речовин, енергії, перебігу реакцій розпаду та синтезу, передачі спадкової інформації, процесів, що забезпечують перебіг фізіологічних функцій, так і для інтерпретації біохімічних показників при застосуванні лікарських засобів за умов патології.

Перша частина посібника містить 4 розділи: “Вступ до біохімії. Ферменти. Вітаміни”, “Загальні уявлення про обмін речовин та енергії.”, “Метаболізм вуглеводів та його регуляція.”, “Метаболізм ліпідів та його регуляція” у, які входять 16 тем.

Кожна тема включає мету заняття, мотивацію вивчення теми, конкретні завдання, теоретичні питання, алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу, приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1», ситуаційні задачі, практичну роботу та її значення для фармації та клініки, контроль виконання лабораторної роботи, індивідуальну самостійну роботу студентів і перелік посилань на літературу (основну, додаткову та науково – фахову). Представлені розділи сформовані на основі інтеграції аудиторної та позааудиторної роботи студентів.

Суттєва увага при вивченні біологічної хімії приділяється фармацевтичним та клінічним аспектам – вивченню спадкових та набутих порушень обміну речовин, ензимопатій, питань профілактики та корекції фармацевтичними препаратами порушень обміну в організмі, застосування ензимів та ряду інших сполук як фармпрепаратів, а також патохімічних процесів, які відбуваються при розвитку та перебігу цукрового діабету, атеросклерозу, ревматизму, інфаркту міокарда, захворювань травної системи тощо.

Посібник дозволить студентам логічно осмислити та засвоїти навчальний матеріал, алгоритм вивчення якого наведений у кожному розділі і, таким чином, сприятиме формуванню комплексного підходу при вивченні фахово-спрямованих фармацевтичних дисциплін.

Згідно з навчальним планом вивчення біологічної хімії здійснюється у V-VI семестрі. Практичні заняття за методикою їх організації є лабораторними, вони передбачають контроль засвоєння визначеного програмою навчального матеріалу включаючи тести для підготовки до інтегрального іспиту “Крок - 1”; дослідження по виявленню певних класів біоорганічних сполук за властивостями їх функціональних груп; проведення якісних реакцій та оцінку показників при лабораторному дослідженні розчинів; дослідження біохімічних показників проміжних інтермедіатів і кінцевих продуктів обміну в основних рідинах організму за умов норми та розвитку патологічних процесів; розв’язування ситуаційних задач (оцінка клініко-біохімічних показників, що характеризують функції та параметри гомеостазу, встановлення механізмів регуляції метаболічних процесів тощо), інтерпретувати їх клініко-діагностичну роль та значення для фармації.

Для покращення засвоєння навчального матеріалу студенти мають використовувати сучасні підручники та посібники, які підготовлені провідними спеціалістами України та працівниками кафедри біохімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Матеріал викладений у посібнику відповідає вимогам нової навчальної програми з біологічної хімії другого магістерського рівня, що базується на принципах Кредитно – трансферної системи (ECST), Європейської кредитної трансферно – накопичувальної системи (ЄКНС) та затверджена документами МОЗ України.

Дидактичні компоненти при вивченні «Біологічної хімії»

Під час вивчення «Біологічної хімії» студент повинен оволодіти загальними і фаховими компетентностями.

Загальні компетентності:

- здатність навчатися (підготовка до теми);
- умінні спілкуватися усно та в письмовій формі першою мовою (при проведенні контролю знань);
 - уміння планувати час та керувати ним (при підготовці до заняття та при проведенні контролю знань);
 - здатність шукати, обробляти та аналізувати інформацію (при підготовці до теми);
 - здатність застосовувати знання в практичних ситуаціях (при проведенні лабораторної роботи);
 - уміння приймати обґрунтовані рішення (аналіз результатів лабораторної роботи);
 - уміння проводити дослідження на відповідному рівні (при проведенні лабораторної роботи);
 - навички взаємодії та між особистісні навички (робота в малих групах);
 - уміння працювати в команді;
 - уміння працювати самостійно;
 - уміння думати абстрактно, аналізувати та синтезувати.
-

Фахові компетентності наведені до кожної теми і представлені у програмі та силабусі за електронним посиланням:

<https://new.meduniv.lviv.ua/kafedry/kafedra-biologichnoyi-himiyi/>

Самостійна робота студентів:

- є обов'язковою формою роботи, яка забезпечує глибоке засвоєння навчального матеріалу;
- виконується письмово у спеціальних зошитах за наведеним алгоритмом;
- перевірка самостійної роботи здійснюється викладачами під час проведення контрольної роботи на заняттях.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу:

А. Письмова підготовка відповідей до

- кожного теоретичного контрольного питання теми, що вивчається, з використанням лекційного матеріалу, основної та додаткової літератури. (Перелік теоретичних контрольних питань до занять наведений у відповідних розділах посібника);
- контрольних питань з практичної роботи;
- ситуаційних задач до теми.

Б. Підготовка по тестах, включеним до інтегрального іспиту «Крок-1» проводиться: за посібниками та адресами сайтів:

- Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі: навч. посібник / Т.І.Бондарчук. Н.М.Гринчишин, Д.О.Климишин та ін.: за ред. О.Я.Склярова. - Львів: друк. ЛНМУ імені Данила Галицького, 2015. - 454 с.
- ЛНМУ – <http://www.meduniv.lviv.ua/index.php>
- Центру тестування - <http://www.testcentr.org.ua>

В. Індивідуальна самостійна робота студентів виконується у вигляді реферату за планом:

- Назва
- План реферативної роботи
- Відповіді на питання за планом
- Список використаної літератури

Навчальний посібник базується на засадах програми з навчальної дисципліни “Біологічна та біоорганічна хімія” (Київ, 2005) з врахуванням програми для студентів фармацевтичного факультету 2022 р. та особливостей викладання предмету на кафедрі біохімії ЛНМУ імені Данила Галицького.

Біологічна хімія як навчальний предмет ставить за кінцеву мету те, що студент у своїй майбутній професійній діяльності повинен **уміти**:

- Аналізувати відповідність структури біоорганічних сполук своїм функціям.
- Аналізувати метаболічні властивості ферментів, вуглеводів, ліпідів, що забезпечує їх функціональну здатність в обміні речовин.
- Пояснювати біохімічні основи фізіологічних функцій клітин, органів і систем організму людини. Аналізувати функціонування ферментативних систем як одного з центральних факторів інтеграції обміну речовин.
- Інтерпретувати особливості метаболізму як за умов норми, так і за умов патологічних станів на основі клініко – лабораторних показників.
- Класифікувати та узагальнювати результати біохімічних досліджень, що застосовуються для діагностики патологічних станів організму людини.
- Інтерпретувати особливості метаболічних перетворень біоорганічних сполук в організмі як основи їх фармакологічної дії в якості лікарських засобів та корекції ними патологічних станів.

**Опис навчального плану з дисципліни — Біологічна хімія
для студентів фармацевтичних факультетів
за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»**

Структура навчальної дисципліни	Кількість годин, з них				Вид контролю
	Всього годин/кредитів	Аудиторних		СРС	
		Лекцій	Практ. занять		
	180/6	20	70	90	
I семестр	90/3	10	32	48	Підсумковий тестовий контроль. Контроль практичних навичок.
II семестр	90/3	10	38	42	Підсумковий тестовий контроль. Контроль практичних навичок. Залік. Іспит.

**Структура залікового кредиту I семестру.
Загальні закономірності метаболізму.
Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

Тематичний план лекцій на I семестр

№ з/п	Тема	Кількість годин
1	Історія розвитку біохімії. Методи біохімічних досліджень. Ферменти: механізм дії та регуляція активності ферментів, кінетика ферментативних реакцій. Роль кофакторів та коферментних вітамінів у прояві каталітичної активності ферментів. Ензимопатії. Використання ферментів як фармпрепаратів.	2
2	Вітаміни. Водорозчинні та жиророзчинні вітаміни. Вітаміни як фармацевтичні препарати. Вітаміноподібні речовини. Антивітаміни. Біологічно активні добавки до їжі (БАДи).	2
3	Загальні закономірності обміну речовин та енергії. Цикл трикарбонних кислот. Молекулярні основи біоенергетики. Біологічне окиснення. Окисне фосфорилування та його регуляція. Вплив фармацевтичних засобів на процеси біологічного окиснення.	2
4	Вуглеводи. Обмін моносахаридів: аеробне та анаеробне окиснення. Глюконеогенез. Альтернативні шляхи обміну	2

	моносахаридів. Метаболізм полісахаридів. Регуляція та патології обміну вуглеводів. Корекція порушень процесів обміну вуглеводів фармацевтичними препаратами.	
5	Ліпіди. Обмін простих ліпідів. Обмін складних ліпідів та його регуляція. Транспорт ліпідів в крові. Корекція порушень процесів обміну ліпідів фармацевтичними препаратами.	2
Разом		10 год

Тематичний план практичних занять на I семестр

№ з/п	Тема заняття	Кількість годин
1	Вступ до біохімії. Методи проведення біохімічних досліджень.	2
2	Ферменти: будова, фізико-хімічні властивості, класифікація та механізм дії білків-ферментів. Методи виявлення ферментів у біологічних об'єктах.	2
3	Кінетика ферментативних реакцій. Регуляція та визначення активності ферментів.	2
4	Регуляція ферментативних процесів та аналіз механізмів виникнення ензимопатій. Використання ферментів як фармпрепаратів.	2
5	Дослідження функціональної ролі водорозчинних (коферментних) вітамінів у метаболізмі та реалізації клітинних функцій. Водорозчинні вітаміни як фармпрепарати. Роль кофакторів та коферментних вітамінів у прояві каталітичної активності ферментів.	2
6	Дослідження функціональної ролі жиророзчинних вітамінів у метаболізмі та реалізації клітинних функцій. Жиророзчинні вітаміни як фармпрепарати. Антивітаміни. Вітаміноподібні речовини та біологічно активні добавки до їжі (БАДи).	2
7	Процеси біологічного окиснення. Загальні закономірності обміну речовин та енергії. Функціонування циклу трикарбонових кислот.	2
8	Молекулярні основи біоенергетики. Ферменти біологічного окиснення; молекулярна організація ланцюга біологічного окиснення. Окисне	2

	фосфорилювання, його регуляція. Інгібітори та роз'єднувачі дихання і окисного фосфорилювання дихального ланцюга мітохондрій.	
9	Дослідження гліколізу – анаеробного окиснення вуглеводів.	2
10	Дослідження аеробного окиснення глюкози та альтернативних шляхів обміну моносахаридів.	2
11	Катаболізм та біосинтез глікогену. Регуляція обміну глікогену. Біосинтез глюкози – глюконеогенез.	2
12	Механізми метаболічної та гормональної регуляції обміну вуглеводів. Порушення обміну вуглеводів.	2
13	Катаболізм і біосинтез триацилгліцеролів. Внутрішньоклітинний ліполіз та молекулярні механізми його регуляції.	2
14	Обмін складних ліпідів та кетонових тіл.	2
15	β -Окиснення та біосинтез жирних кислот. Дослідження обміну жирних кислот.	2
16	Біосинтез та біотрансформація холестеролу. Регуляція та патології ліпідного обміну.	2
Разом		32 год

Тематичний план самостійної роботи студентів I семестр

№ з/п	Теми	Кількість годин СРС
1	Сучасні біохімічні методи дослідження. Внесок вчених кафедри біохімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького в розвиток біологічної хімії.	3
2	Сучасні методи розділення та очистки білкових сумішей, що застосовуються для розділення ензимів. Приклади та їх характеристика.	3
3	Використання інгібіторів ферментативного каталізу в якості фармацевтичних препаратів. Приклади та їх характеристика.	3
4	Використання ізоферментів в ензимодіагностиці захворювань.	3

	Застосування ферментів як фармацевтичних засобів при захворюваннях травної системи, гнійнонекротичних процесах, як фібринолітичних препаратів, тощо.	
5	Регуляція процесів кровотворення коферментними формами вітамінів В ₁₂ та фолієвої кислоти.	3
6	Вітаміноподібні речовини та їх роль у процесі обміну речовин.	3
7	Роль найважливіших метаболітів амфіболічних шляхів (глюкозо-6-фосфату, пірувату, α-кетоглутарату, ацетил-S-КоА, сукциніл-S-КоА та ін.) та інтермедіатів ЦТК в інтеграції метаболічних процесів.	3
8	Механізм порушення синтезу АТФ за умов дії на організм патогенних факторів хімічного, біологічного та фізичного походження.	3
9	Особливості регуляції обміну гліколізу в нормі та при патології. Молекулярна основа ефекту Пастера та Кребтрі.	3
10	Причини та прояви вроджених та набутих порушень пентозофосфатного циклу. Порушення обміну фруктози і галактози.	3
11	Принципи регуляції метаболізму глікогену. Біохімічна основа розвитку; класифікація та особливості перебігу мукополісахаридозів.	3
12	Методи діагностики та принципи біохімічної корекції цукрового діабету. Біохімічні основита та сучасні фармацевтичні засоби, що застосовуються для лікування цукрового діабету.	3
13	Особливості молекулярних механізмів регуляції обміну ліпідів. Роль гормонів у процесах регуляції.	2
14	Метаболізм сфінголіпідів та причини його порушення.	3
15	Біологічні функції поліненасичених жирних кислот, джерела та їх застосування як фармацевтичних засобів. Карнітин та його роль у метаболізмі жирних кислот.	3
16	Сучасні антигіперліпідемічні фармацевтичні засоби та їх застосування в регуляції порушень обміну ліпідів.	3
Разом		48 год

Критерії оцінювання успішності студентів у I семестрі

За поточне навчання та на контрольних заняттях засвоєння розділів студентів виставляються оцінки за чотирибальною шкалою: *"відмінно"*, *"добре"*, *"задовільно"*, *"незадовільно"*.

Оцінку *«відмінно»* одержує студент, який дає правильні відповіді на 19-20 тестів з 20; логічно, грамотно, вичерпно і детально відповідає на теоретичні питання контрольної письмової роботи, наводить без помилок хімічні перетворення, висвітлює особливості метаболічних процесів в нормі та патології, характеризує регуляторні механізми метаболізму.

Оцінку *«добре»* одержує студент, який дає правильні відповіді на 16-18 тестів з 20; логічно, грамотно, по суті дає відповіді на теоретичні питання, не робить суттєвих помилок. Опрацьовує матеріал винесений на самостійне вивчення.

Оцінку *«задовільно»* одержує студент, який дає правильні відповіді на 14-15 тестів з 20; в основному без деталізації правильно відповідає на поставлені теоретичні питання, допускає неточності, робить помилки у визначеннях, при цьому порушена логіка та послідовність викладення матеріалу. Недостатньо якісно опрацьовано матеріал винесений на самостійне вивчення. Оформляє протокол практичної роботи згідно вимог.

Оцінку *«незадовільно»* одержує студент, який дає правильні відповіді менше, ніж на 14 тестів з 20; допускає суттєві помилки чи не відповідає на поставлені теоретичні питання, відсутній протокол практичної роботи, відсутня самопідготовка до заняття.

Студент допускається до заліку при виконанні всіх вимог навчальної програми та за умов, якщо за поточне оцінювання та за контроль засвоєння розділів (16 занять) середнє арифметичне його поточних оцінок складає не менше 3,0 балів.

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ СТУДЕНТІВ У НАВЧАЛЬНІЙ ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

1. Перебуваючи у хімічній лабораторії, необхідно суворо дотримуватися загальних правил техніки безпеки, враховуючи, що будь-яке порушення може призвести до нещасного випадку.
2. У хімічній лабораторії слід працювати лише у медичних халатах і шапочках.
3. На робочому місці залишати тільки необхідні речі (книгу, зошити, ручки), всі інші речі (портфелі, сумки) зберігати у спеціально відведеному для цього місці, одяг у гардеробі.
4. Категорично забороняється виконувати у лабораторії роботи, не пов'язані із виконанням навчального практикуму.
5. Реактиви після їх використання необхідно ставити на відведене місце.
6. Роботи з концентрованими кислотами, лугами слід проводити обережно, під витяжною шафою, щоб виключити можливість їх потрапляння в очі, а також появу опіків і пошкодження одягу.
7. Бути обережним при роботі з електроприладами. Працювати тільки із заземленим обладнанням.
8. При запалюванні газу кран пальника відкривати поступово.
9. Для уникнення нещасних випадків не працювати з леткими і легкозаймистими речовинами поблизу запаленого пальника.
10. Користуватися горючими і токсичними речовинами (галогени, концентровані кислоти, луги, сірководень тощо), а також проводити досліди, які супроводжуються виділенням шкідливих парів, газів, дозволяється тільки у витяжній шафі.
11. При нагріванні речовин у пробірці не направляти її отвір у бік студента, який працює, або до себе.
12. Не можна залишати в лабораторії без нагляду ввімкнуті електроприлади, гарячі водяні бані, газові пальники, центрифуги тощо.
13. У випадку пожежі негайно погасити найближчі пальники і гасити вогонь, використовуючи вогнегасник, покривало, пісок.
14. При опіках:
 - сильними лугами: необхідно промити уражені ділянки тіла водою і накласти компрес, змочений 1 % розчином оцтової кислоти;
 - сильними кислотами: необхідно промити уражені ділянки тіла водою і накласти компрес, змочений 1 % розчином соди;
 - фенолом: розтерти побілілу від опіку ділянку до нормального стану шкіри, а потім промити водою і накласти пов'язку із гліцирином.
15. У разі потрапляння кислоти або лугу в очі необхідно промити їх великою кількістю води, а потім 2 % розчином соди або борної кислоти.
16. Не виливати в раковину вміст пробірок з концентрованими кислотами та лугами.
17. Не кидати папір, сірники, побитий посуд у водостічну раковину, для цього користуватися смітником.

Розділ 1.

Вступ до біохімії. Прості та складні білки. Ферменти

Тема №1. Вступ до біохімії. Методи проведення біохімічних досліджень

Мета заняття. Ознайомити студентів з предметом і завданнями біологічної хімії, її практичним застосуванням, методами біохімічних досліджень, які використовуються у клінічній практиці. Оволодіти деякими фізико-хімічними методами дослідження, ознайомитися з приладами, які використовуються у біохімічних експериментах. Вивчити фактори, дія яких призводить до похибки біохімічних досліджень. Знати будову, класифікацію та фізико-хімічні властивості білків, їх характеристику, вміти проводити якісні реакції на амінокислоти та кількісно визначати білок.

Мотивація теми. Біохімія – це наука, яка вивчає хімічний склад живих організмів, будову, властивості, локалізацію та роль наявних у них сполук, шляхи їх синтезу та перетворення, а також притаманні живій клітині хімічні процеси, які в сукупності забезпечують обмін речовин і перетворення енергії. Визначення біохімічних показників використовують для виявлення точки прикладання та обґрунтування механізмів дії лікарських засобів.

Білки – високомолекулярні органічні сполуки, які становлять основу структури клітин і тканин, беруть участь у метаболізмі, обумовлюють процеси росту, розмноження та постійного самооновлення організму. Їх широко використовують у практичній медицині з лікувальною та діагностичною метою.

Конкретні завдання:

- *Аналізувати стан та перспективи розвитку біохімії, використання її досягнень у клінічній і промисловій фармації;*
- *Засвоїти етапи та закономірності становлення біохімії як фундаментальної медико-біологічної науки та навчальної дисципліни;*
- *Пояснювати амінокислотний склад, структурну організацію, фізико-хімічні властивості, методи виділення та очистки білків;*
- *Трактувати численні функції та біологічні властивості білків і пептидів;*
- *Класифікувати та давати характеристику простих і складних білків, значення окремих представників.*

Теоретичні питання

1. Визначення біохімії як науки та її місця серед інших медико-біологічних дисциплін. Об'єкти вивчення та завдання біохімії. Розділи біохімії та її значення для вивчення профільних дисциплін.
2. Історія розвитку біохімічних досліджень в Україні та світі. Внесок вчених кафедри біохімії Львівського національного медичного університету в розвиток біологічної хімії.
3. Основні методи біохімічних досліджень:
 - оптичні методи в біохімії (фотоелектроколориметрія, спектрометрія, спектрофотометрія, флюоресцентний аналіз);

- електрофорез (горизонтальний, диск-електрофорез, ізоелектричне фокусування, імуноелектрофорез);
 - хроматографія (афінна, іонообмінна, тонкошарова, рідинна, газова, гель-хроматографія);
 - полярографія; манометричний і радіоізотопний методи;
 - імуноферментні методи; полімеразна ланцюгова реакція, її застосування в наукових і практичних дослідженнях.
4. Методи таргетної доставки ліків за допомогою наночастинок. Нанотехнології.
 5. Загальні принципи оцінки результатів наукових досліджень. Помилки, що трапляються під час проведення лабораторних досліджень.

Історичний нарис та напрямки наукової діяльності кафедри біохімії

Понад 100 років минуло з часу створення кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Наукова робота кафедри біохімії була започаткована у 1894 році професором В. Неміловичем (1863 – 1904), який став першим завідувачем кафедри.

З 1906 по 1919 рр. кафедрою завідує професор С.Бондзінський. Основним напрямком наукового дослідження кафедри під керівництвом проф. С.Бондзінського були так звані оксипротеїнові кислоти – продукти білкового обміну, які в невеликій кількості виділяються з сечею. У цей період колектив кафедри займався дослідженням жовчних пігментів і продуктів їх обміну, визначав склад фосфору в кістках зубів, досліджувався обмін холестерину в організмі, вплив алкоголю на метаболічні процеси, вивчався склад жирів молока, обмін кофеїну та теоброміну в організмі людини. Співробітниками кафедри було синтезовано і проведено клінічні дослідження препарату „танальбіну”, а також ацетилсаліцилової кислоти та її ефірів. Професор С.Бондзінський є автором близько 30 наукових робіт.

З 1922 по 1941 рік кафедрою біохімії завідував всесвітньо відомий вчений академік АН СРСР Якуб Оскарівич Парнас. Заслуги Якуба Парнаса полягають у розробці проблеми анаеробного розпаду вуглеводів, які загальноновизнані та відомі у біохімічній літературі як теорія Ембдена-Мейергофа-Парнаса або „схема гліколізу ЕМП”. Я.Парнас один з перших у світі використав радіоізотопний метод у біохімічних дослідженнях. Надзвичайне значення мало встановлення Я.Парнасом того факту, що більш високофосфорильовані похідні аденілової кислоти, у вигляді яких вона знаходиться в м'язових волокнах (і в еритроцитах), а саме АТФ і АДФ, на відміну від самої аденілової кислоти не підлягають в клітинах ферментативному дезамінуванню.

Я.Парнасом і його учнями були вивчені біологічні та хімічні властивості м'язової аденілової кислоти та її похідних, запропонований біологічний метод їх кількісного визначення. Я.Парнас був організатором і науковим керівником хіміко-фармацевтичного інституту Львівського університету, а також діючого і зараз Львівського фармацевтичного заводу, деканом медичного та хіміко-фармацевтичного факультетів, директором Львівського медичного інституту. У Львові він згуртував великий колектив молодих талановитих учнів, в результаті

дослідницької роботи якого Львівський інститут медичної хімії займав одне з перших місць серед провідних світових центрів біохімії. Колективом було видано понад 300 наукових праць. Я. Парнас є автором близько 170 наукових робіт, в тому числі 5 підручників.

З 1944 по 1973 рр. кафедрою керував професор Богдан Антонович Собчук. Свою наукову діяльність він почав під керівництвом Я.Парнаса, досліджуючи обмін вуглеводів в тканині м'язів і дріжджах. Колективом кафедри під керівництвом Б.А.Собчука проводилися дослідження особливостей обміну вуглеводів у раковій клітині (ефект Кребтрі), а також синтез та вивчення специфічної дії на пухлини ксантоптерину і побічних продуктів цього синтезу – йодоптерину та порфіроптерину; проводилися дослідження обміну йоду та функції щитоподібної залози. Було розроблено та впроваджено в клініку новий метод визначення йоду. Досліджувався вплив токсичної дії оксиду вуглецю (чадного газу) на гемоглобін і міоглобін. Б.А.Собчук є автором близько 70 наукових робіт.

З 1974 по 1995 рр. кафедрою завідував проф. Михайло Петрович Шлемкевич. Під його керівництвом на кафедрі біохімії вивчали проблему ендемічного зобу на біохімічному та гістологічному рівнях. У тісній співпраці з кафедрою онкології вивчався механізм та індивідуальна чутливість резистентних ракових пухлин шлунка людини при застосуванні хіміотерапії, зокрема 5-фторурацилу.

З 1995 по 1998 рр. кафедрою завідував академік УАННП, професор Михайло Федорович Тимочко. Основним напрямком наукових досліджень у цей період було вивчення фундаментальних основ формування адаптаційно-компенсаторних процесів за умов різних експериментальних впливів, характеру змін кисеньзалежних реакцій і метаболічних основ підтримання кисневого гомеостазу при різних функціональних станах, а також вирішення широкого кола питань практичної медицини. Досліджувалася роль енергетичного обміну в патогенезі хронічних захворювань печінки, серцево-судинної системи, проводилося визначення ступеня ризику в абдомінальній, ендокринній та серцево-судинній хірургії, рівня інтоксикації у онкологічних хворих. Професор М.Тимочко є співавтором пріоритетного відкриття, зареєстрованого Міжнародною інформаційною інтелектуальною палатою реєстрації нововведень (1997р.) “Механізм життєзабезпечення високорезистентних до гіпоксії індивідів в експериментальних умовах”. М.Ф.Тимочко є автором близько 450 наукових робіт.

З 1998 по 2021 рр. кафедрою завідував академік УАН, професор Склярів О.Я. На кафедрі проводилися дослідження по вивченню впливу стресу на цитопротективні та ульцерогенні механізми слизової оболонки органів травної системи, метаболічні та іонно-транспортні процеси, вплив екзоєкологічних факторів на ендоекологічний стан внутрішнього середовища, дослідження ролі прозапальних систем організму (ЦОГ-2/ПГ, 5-ЛОГ/ЛТ, iNOS/NO) у патогенезі захворювань травного тракту (виразкова хвороба шлунка, ульцерогенний коліт, гострий панкреатит тощо) та їх взаємозв'язок із процесами ліпопероксидації у клітинах. На кафедрі вивчались механізми впливу антиоксидантних вітамінів аскорбінової кислоти, токоферолу та коротколанцюгових пептидів (мет- і лей-

енкефалінів та тимогексину), похідних 4-тіазолідинонів, 1,4-нафтохінону на процеси цитопротекції та ульцерогенезу у слизових оболонках органів травлення. Професор Скляр О.Я. автор близько 500 наукових робіт, а також навчальних посібників і підручників. За багаторічну науково-педагогічну роботу та значний внесок у розвиток практичної медицини двічі нагороджений грамотою МОЗ України, подякою департаменту охорони здоров'я Львівської облдержадміністрації, подякою мера м. Львова. Соросівський доцент (1997); академік Української академії наук (2004); заслужений професор ЛНМУ (2012); член Польської академії наук, кількох Європейських наукових асоціацій. Кафедра тісно співпрацювала з кафедрою клінічної аналітики Люблінського медичного університету (Польща). У рамках співпраці проведено 8 міжнародних Львівсько - Люблінських конференцій з експериментальної та клінічної біохімії. За успішну реалізацію україно-польських наукових проєктів професор Скляр О.Я. нагороджений медаллю Люблінського медичного університету та медаллю мера міста Любліна.

З 2021 року кафедру біохімії очолює к.мед.н., д.б.н., професор Кобилінська Леся Іванівна. Предметом її досліджень є доставка протипухлинних ліків за допомогою наночастинок і полімерних нанорозмірних носіїв, їхня токсичність і метаболічний вплив. Під керівництвом проф. Кобилінської Л. І. кафедра біохімії проводить дослідження системних біохімічних змін викликаних впливом Covid 19 на організм людини у пацієнтів групи високого ризику, які мають найпоширеніші метаболічні порушення (цукровий діабет II типу), серцево-судинні захворювання, ожиріння тощо, при інфікуванні SARS-CoV-2.

Пріоритетом проф. Кобилінської Л. І. є навчальний процес. Кафедра зосереджується на медичній біохімії, ролі біохімічних процесів при різних метаболічних станах людини для пояснення складних порушень метаболізму при серцево-судинних і нейродегенеративних захворюваннях, які на сьогодні є глобальними проблемами громадського здоров'я. Поряд із науковою діяльністю завідувачка значну увагу приділяє науковій і виховній роботі зі студентами.

Професор Кобилінська Л. І. є автором 170 наукових праць з різних напрямів біохімії, серед яких підручник «Клінічна біохімія»; посібники «Практикум з біологічної хімії», «Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення», «Біохімічні показники в нормі і при патології», «Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі», «Практикум з клінічної біохімії»; монографії «Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних умовах», «Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування», «Протипухлинні перспективи сірковмісних гетероциклів», «Biomedical Nanomaterials. Design, Imaging, Applications, and Environmental Impacts».

Характеристика фізико-хімічних методів дослідження

У біохімії широкого застосування набули діаліз, центрифугування, оптичні та електрохімічні методи, різні види хроматографії, радіоімунні дослідження тощо.

Центрифугування. Суть процесу центрифугування полягає у розділенні неоднорідних систем (суспензій, емульсій) у полі дії доцентрових сил. Під дією цих сил суспензії розділяються на тверду фазу – осад і рідку – центрифугат, який називають також супернатантом, або надосадовою рідиною. Значну роздільну здатність має так зване центрифугування в градієнті густини. У цьому разі частинки речовини в процесі центрифугування розділяються вздовж градієнта у вигляді дискретних зон або полюсів.

Залежно від фактора розділення (характеризує відношення прискорення доцентрових сил до прискорення сили тяжіння) центрифуги умовно поділяють на звичайні (G – до 3500) і ультрацентрифуги (G – понад 3500, відцентрове прискорення $G = n^2 \cdot R$, де n – кутова швидкість (об./хв); R – радіус ротора (см)). Звичайні центрифуги використовують з метою препаративного центрифугування. Ультрацентрифуги дають змогу розвинути доцентрове прискорення поля до 300000 G . Вони використовуються з аналітичною метою, для визначення молекулярної маси речовин та виділення їх окремих фракцій з розчинів.

До **оптичних методів** дослідження належать: фотоелектроколориметричні, спектрофотометричні, флюоресцентний та ін.

Серед сучасних методів дослідження перевагу віддають **спектральному аналізу**. Він належить до фізико-хімічних методів якісного й кількісного визначення атомного та молекулярного складу речовин. Ці методи ґрунтуються на дослідженні спектрів, що поглинаються або випромінюються аналізованими речовинами. В основу цих методів покладено принцип вимірювання зміни інтенсивності світлового потоку. Залежно від довжини хвилі змінюється характер випромінювання, тому електромагнітний спектр поділено на зони: γ - та космічні промені з довжиною хвилі 0,1 – 9 нм, ультрафіолетова зона – 100 – 380 нм, видима зона – 380 – 760 нм, інфрачервона зона – 760 – 1100 нм.

Серед спектральних методів дослідження виділяють абсорбційні та іммерсійні. Абсорбційна спектроскопія полягає у вимірюванні поглинання світла, що проходить крізь досліджуваний розчин унаслідок абсорбції його речовиною, яку визначають. Кожна речовина поглинає світло певної довжини хвилі, отже, абсорбція світла вибіркова.

Фотометричні методи оптичного фізико-хімічного аналізу поділяють на дві групи: абсорбційну та емісійну фотометрію.

Абсорбційна фотометрія – це метод, що ґрунтується на встановленні ступеня послаблення монохроматичного світлового потоку внаслідок вибіркового поглинання світла розчиненою речовиною. Основним законом фотометрії є закон Ламберта - Бера, що формулюється таким чином: логарифм відношення інтенсивності світлового потоку, що проходить через розчин до інтенсивності світлового потоку, що виходить з розчину, прямо пропорційний концентрації речовини і товщині поглинального шару.

До методів абсорбційної фотометрії належать спектрофотометрія і нефелометрія.

Спектрофотометрія, або в ширшому розумінні колориметрія – це визначення інтенсивності забарвлення розчину досліджуваної речовини відносно інтенсивності забарвлення еталонного розчину з точно відомою концентрацією.

Фотоколориметрія – це вимірювання поглинання видимої частини спектра забарвленими розчинами.

Власне спектрофотометрія – це вимірювання поглинання (і пропускання) прозорих розчинів в ультрафіолетовій, видимій та інфрачервоній зонах спектра (220 - 1100 нм).

Прилади, якими вимірюють світлопоглинання речовин, називаються абсорціометрами. До них належать фотоелектроколориметри і спектрофотометри. Фотоелектроколориметри дають змогу проводити вимірювання у видимій частині спектра. За допомогою спектрофотометрів проводять вимірювання в широкому діапазоні хвиль від ультрафіолетового до інфрачервоного (210 – 1100 нм) і досліджують забарвлені та безбарвні розчини у вузькій частині спектра, в зоні максимального поглинання монохроматичного потоку світла.

В основі абсорбційної спектроскопії – загальні принципи здатності речовин поглинати світлову енергію за законом Ламберта – Бера. Під час вимірювання інтенсивності поглинання світлового потоку користуються величиною, яка називається оптичною густиною розчину й позначається буквою A :

$A = k \times c \times d$, де c – концентрація речовини (моль/л), d – товщина шару кювети (см), k – молярний коефіцієнт поглинання (екстинкція). Цей коефіцієнт поглинання відповідає оптичній густині 1 М розчину речовини за товщини шару кювети в 1 см.

Оптична густина розчину досліджуваної речовини прямопропорційна концентрації даної речовини, що дає можливість розраховувати концентрації речовин в досліджуваних розчинах за пропорцією, або калібрувальними графіками з використанням відомих (стандартних) концентрацій речовин та відповідних оптичних густин.

Нефелометрія – це метод аналізу, пов'язаний з оцінкою ступеня помутніння досліджуваного розчину. Інтенсивність розсіювання залежить від розмірів частинок і кількості розчиненої речовини.

Емісійна фотометрія – ґрунтується на визначенні енергії, яка випромінюється досліджуваною речовиною в енергетично збудженому стані. До методів емісійної фотометрії відносять флюориметрію і полум'яну фотометрію.

Флюориметрія базується на ефекті флюоресценції, що дає енергетично збуджена досліджувана речовина під впливом короткохвильового опромінення.

Полум'яна фотометрія полягає у використанні як енергетичного агента, що забезпечує стан збудження розчину досліджуваної речовини, полум'я газової горілки. Йони металів забарвлюють полум'я відповідно до характерних для них спектрів випромінювання. Щоб виділити випромінювання окремих

йонів, застосовують спеціальні світлофільтри, після чого виконують всі необхідні вимірювання.

Люмінесцентний аналіз, в основі якого лежить флюоресценція, набув широкого застосування. Люмінесценцією це явище холодного світіння деяких речовин, спричинене зміною електронного стану молекул або атомів. Вимірювання інтенсивності флюоресценції залежить від концентрації речовин, що дає змогу проводити кількісне визначення речовин на спеціальних приладах – флюориметрах. У ході цих досліджень як джерело збудження використовують ультрафіолетове випромінювання.

Електрофорез – розділення заряджених частинок в електричному полі. Різна молекулярна маса зарядів речовин визначає різну швидкість пересування, що дає змогу їх диференціювати. Швидкість руху іонів збільшується з посиленням електрофоретичного заряду, сили електричного поля, але зменшується зі збільшенням радіуса частинок, що рухаються, і збільшенням в'язкості середовища. На швидкість руху заряджених частинок впливає температура навколишнього середовища, з підвищенням якої наростає швидкість руху іонів.

Використовують такі методи електрофорезу: фронтальний, зональний, ізоелектричне фокусування, імуноелектрофорез.

Фронтальний електрофорез – розділення речовин у гомогенному розчині без стабілізації зон розподілу. Зональні методи електрофорезу дають змогу отримувати стабільні зони розподілу й класифікуються залежно від роздільного середовища. Для цього типу електрофорезу як середовище використовують порошки та інші пористі матеріали (крохмаль, целюлоза, полівінілхлорид), гелі (крохмальний, агаровий, поліакриламідний), смуги паперу та інших волокнистих матеріалів.

Зональний електрофорез залежно від джерела живлення і камери поділяється на горизонтальний і вертикальний (диск-електрофорез).

Імуноелектрофорез належить до найчутливіших і найсучасніших методів імунологічного аналізу. За допомогою цього методу можна визначити кількість компонентів суміші, а також ідентифікувати ці компоненти за їхньою електрофоретичною рухливістю, імунологічною специфічністю, а іноді – за хімічною природою, а також виявити речовини, здатні давати реакцію преципітації з антитілами, тобто переважно білки і вуглеводи.

Метод імуноелектрофорезу дає змогу дуже точно встановити компоненти складних білкових сумішей за їх імунологічною специфічністю та електрофоретичною рухливістю.

Хроматографія – це метод розділення, аналізу та фізико-хімічного дослідження речовин. Ґрунтується на розділенні досліджуваної речовини між двома фазами – рухомою (елюент) і нерухомою. Для розділення й кількісного визначення білків і амінокислот, нуклеїнових кислот, вуглеводів, ліпідів та інших метаболітів використовують різні види хроматографічного аналізу. Найважливіші з них:

- адсорбційна хроматографія, що базується на різній здатності окремих сполук адсорбуватися на тих чи тих сорбентах;

- іонообмінна, що базується на різній здатності речовин, що розділяють, до іонного обміну з тим чи тим іоном;
- розподільна, що ґрунтується на різній розчинності розділюваних речовин, у двох рідинах, що частково змішуються;
- дифузна, що ґрунтується на розділенні речовин за швидкістю дифузії всередину сорбента (гель-фільтраційна хроматографія, при якій розділення речовин ґрунтується на механічному явищі молекулярного просіювання);
- хроматографія за спорідненістю (афінна хроматографія) – високоспецифічний метод розділення різних сполук, що базується на використанні нерозчинних форм біологічно активних речовин, споріднених з розділюваними речовинами.

У ході газової хроматографії розділення суміші речовин здійснюють в атмосфері газу. Адсорбційну, іонообмінну, розподільну, дифузну хроматографію можна проводити в колонках і на площині (на папері і в тонких шарах).

Гель-фільтрація дає змогу розділяти речовини залежно від їх молекулярної маси й форми молекул. Цей метод базується на здатності молекул різних розмірів і форм дифундувати в гелі з різною швидкістю. Для гель-фільтрації найчастіше застосовують декстранові гелі, які отримали назву сефадексів.

Полярографічний метод ґрунтується на принципі визначення сили струму під час окисно-відновних реакцій на зовнішній поверхні робочого електроду. На момент проходження струму в процесі електровідновлення або електроокиснення на полярограмах з'являються ділянки з силою струму пропорційною концентрації реагентів. Зміна висоти полярограм дає уявлення про концентрацію речовини.

Завдяки дослідженню біологічних об'єктів полярографічним методом виявляють катіони, аніони, амінокислоти, вітаміни, вуглеводи та інші речовини. Особливе місце займає полярографічний метод у дослідженні білків і ферментів: дає відомості про деякі функціональні групи білків (-SH, -NH₂, імідазольну групу), каталітичну активність ферментів тощо.

Використання **манометричного** (вимірювання тиску газів або рідин) і **радіоізотопного** (використання ізотопів в якості міток) методів дає змогу провести дослідження як на рівні цілого організму, так і на рівні клітини.

Імуноферментний аналіз (ІФА) – метод кількісного визначення речовин з дуже низькою концентрацією за утворенням антитіл. Основою цього методу є реакція “антиген – антитіло”, тобто, специфічне зв'язування антитіла з певною речовиною.

Для кількісного аналізу застосовують переважно два види ІФА. Першим етапом здійснення аналізу виступає зв'язування моноспецифічних антитіл на поверхні твердої фази. Далі реалізується реакція конкурентного або непрямого типу. Антиген, мічений ферментом, конкурує з неміченим досліджуваним антигеном за антитіла на твердій фазі. В іншому варіанті біологічні рідини реагують з іммобілізованими на твердій фазі антитілами, після чого решту суміші видаляють і в реакцію вводять мічені ферментом антитіла, які зв'язуються вже іммобілізованим антигеном.

Зразки сироватки крові, що містять досліджувану речовину поміщають у лунки планшету для мікротитрування із сорбованими на стінках антитілами, здатними специфічно зв'язувати цю речовину, наприклад гормон. Одночасно до інкубаційної суміші додають невелику кількість гормону, хімічно зв'язаного з ферментом, так званий кон'югат. Кон'югат і гормон, який визначають, конкурують між собою за зв'язування з обмеженою кількістю сорбованих антитіл. Після реалізації зв'язування антигенів незв'язані молекули відмивають.

Для встановлення кількості зв'язаного кон'югованого антигену в лунки вносять субстратний буфер і пофарбовані продукти ферментативної реакції виявляють фотометрично. Чим більше гормону в тестованій пробі, тим менше кон'югату буде зв'язуватися з антитілами. Кількісна оцінка здійснюється з урахуванням калібрувальної кривої, побудованої за стандартними зразками з відомою концентрацією.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – це високоспецифічний метод експрес-діагностики, що дозволяє множити певні нуклеотидні послідовності до утворення необмеженого числа копій генів в таких кількостях, які можна виявити методом молекулярної гібридизації за допомогою електрофорезу. ПЛР базується на багатократному повторюванні циклів синтезу (ампліфікації) специфічної ділянки ДНК-мішені з дезоксинуклеозидтрифосфатів у присутності термостабільної ДНК-полімерази, відповідного сольового буфера та олігонуклеотидних затравок – праймерів, що визначають кордони ампліфікованої ділянки ДНК-мішені. Для діагностики інфекційного захворювання підбираються системи праймерів, комплементарних специфічним для збудника ділянкам генів, які дозволяють ампліфікувати фрагмент, що має для кожної системи праймерів свою довжину.

Методи таргетної доставки ліків за допомогою наночастинок. Нанотехнології – використання нанорозмірних структур і пристроїв для відстежування, виправлення, конструювання та контролю над біологічними системами людини на молекулярному рівні. Наночастинка – ізольований твердофазний об'єкт, який має чітко виражену межу з навколишнім середовищем, розміри якого становлять від 1 до 100 нм.

Ідея застосування наночастинок для підвищення ефективності впливу фармакологічних засобів діагностики і терапії заснована на тому факті, що *речовини у наноформі мають властивості, відмінні від властивостей речовин у макродисперсній формі*. Зокрема, висока питома поверхня наноматеріалів призводить до того, що поверхневі явища (адсорбція-десорбція, адгезія) починають переважати у процесах їх взаємодії з макромолекулами і біологічними об'єктами. Наслідком цього є те, що навіть невисокі концентрації наночастинок, які не мають значного токсичного ефекту, можуть суттєво впливати на живі організми.

Деякі наноструктури, як біогенного (вірусні частинки, капсиди), так і небіогенного походження мають форму контейнера, що обумовлює їх застосування як засобів доставки терапевтичних чи діагностичних компонентів (у тому числі й інших наночастинок) до цільових клітин або органів. Специфічність доставки наноструктур до цільових клітин визначається

використанням специфічних антитіл, рецепторів або лігандів. Наномедицина може зробити величезний стрибок у лікуванні захворювань.

За хімічним походженням виділяють такі наночастинки:

неорганічні: кераміка, метали (Fe, Mg, Zn, Ti, Cu, Ag), сплави (Cu-Ta, Cu-V, Cu-W). Металеві наночастинки займають особливе місце серед наноматеріалів: золото, срібло, мідь, а також магнітних матеріалів: залізо, нікель, кобальт та виготовлені із них сплави;

органічні: полімери (хітозан), біологічні наноструктури (целосоми), вуглецеві наноматеріали (фулерени, нанотрубки, нановолокна, наноспіралі);

неорганічно-органічні: металоорганічні (PbS, CdS, ZnS), металополімерні наноструктури.

Класифікують наночастинки також залежно **від речовини, форми кластерів та типу зв'язку**. Ця класифікація включає такі групи наночастинок: **ліпосоми** – маленькі одношарові везикули-шари, великі одношарові везикули, багатошарові везикули, структурні компоненти клітин; **наноемульсії; полімерні наночастинки** – наносфери, нанокапсули, дендримери, полімер-білкові кон'югати; **керамічні наночастинки** – кремнієві сполуки; **металічні наночастинки** – заліза, магнію, міді, титану, цинку, срібла; **нанооболонки** – золото; **карбонові наночастинки** – фулерени, нанотрубки, нанодіаманти, нановолокна, наноспіралі; **квантові мітки** – CdSe, ZnS; нанокапсули.

Вуглецеві нанотрубки – це штучно отримана структура, що являє собою сукупність атомів у вигляді трубок з порожниною всередині довжиною до 100 нм і діаметром 1–2 нм. Карбонові нанотрубки мають простір для розміщення інших речовин, наприклад, лікарських засобів, а їх відкриті кінці можуть служити воротами для входу та виходу інших медикаментів. Саме завдяки цій властивості вони можуть слугувати ідеальним переносником ліків. Вуглецеві нанотрубки можуть легко проникати до судинного русла через органи дихання, що використовується при порушеннях серцевого ритму та при судинних захворюваннях. Особливу цінність мають собою нанотрубки як переносники ДНК, РНК — молекулярні біосенсори. Завдяки цим біосенсорам стануть можливими швидко діагностика генетичних хвороб, раку на ранніх стадіях, автоімунних захворювань та ін. Завдяки своїй міцності нанотрубки можуть замінити мікрокапіляри, перспективним є створення такої комбінації нанотрубок з різноманітними полімерами, яка б за властивостями відповідала м'яким тканинам людини, що дозволить проводити трансплантацію тканин без ризику відторгнення.

Фулерени — це алотропна модифікація карбону у вигляді пологих сферичних утворень. Класичною структурою вважають фулерени що являють собою сферичну структуру і містять 60 атомів вуглецю (C₆₀), на поверхні якої шестичленні кільця пов'язані між собою п'ятичленими циклами.

Нанокапсули або коллоїдосоми – наночастинки, які складаються з полімерної, ліпідної або іншої оболонки, яка оточує її внутрішню порожнину або вміст. Зазвичай нанокапсули являють собою сферичні порожні частинки, оболонка яких утворена полімерами або фосфоліпідами (в цьому випадку вони називаються ліпосомами або наносомами), а всередині знаходиться низькомолекулярна речовина. Оболонка нанокапсул може бути виготовлена

також з інших матеріалів, наприклад, гідроксиапатиту або силікату кальцію, а також певним чином організованих молекул ДНК. Нанокapsули повинні бути хімічно стабільні, біоактивні, біосумісні з організмом, захищати капсульовану речовину від небажаного впливу. Розміри нанокapsул зазвичай не виходять за межі 100 нм, а мікрокapsул – 600 мкм. Нанокapsули мають високу проникаючу здатність і можуть проходити навіть гемато-енцефалічний бар'єр. Нанокapsули застосовують для контрольованого введення інкапсульованих біологічно активних речовин: лікарських препаратів (у тому числі нерозчинних у воді або нестабільних), пептидів і білків (що мають функції гормонів та цитокінів), а також генетичних конструкцій, що несуть гени ферментів, гормонів та цитокінів. Діапазон капсульованих речовин широкий - від засобів протипухлинної терапії та морфогенетичних білків кісткової тканини до засобів косметології. Для цільової доставки поверхня нанокapsул може бути модифікована специфічними антигенами, рецепторами або лігандами. Перспективними також є підходи доставки нанокapsул всередині еритроцитів та бактерій.

Магнітні наночастинки, які використовуються у терапевтичних цілях, можуть складатися з феромагнітних чи суперпарамагнітних матеріалів. За допомогою використання наночастинки і магнітно-резонансної томографії ми можемо бачити, куди дісталися ліки, де вони накопичуються. У такому випадку наноліки поєднують у собі лікувальну і діагностичну роль. Їхня основна перевага – це можливість безконтактного управління їх переміщенням у організмі із застосуванням зовнішнього магнітного поля. Найбільш широке застосування у медицині знаходять наночастинки на основі оксидів заліза (магнетит, маггеміт).

Загальні принципи клініко-біохімічної оцінки результатів досліджень

До способів розрахунку результатів дослідження, які використовують у клінічній біохімії, можна віднести застосування умовних одиниць, розрахунки за стандартним (еталонним розчином), калібрувальним графіком, коефіцієнтом перерахунку. Умовні одиниці використовуються поряд із системними одиницями переважно в традиційних методиках.

Стандартні розчини обробляють одночасно із серією досліджуваного біоматеріалу і перебувають у тих самих умовах, що й останній. Еталонні розчини повинні містити точно визначену концентрацію певної речовини. Результати дослідження розраховують за пропорцією: за трьома відомими величинами встановлюється четверта, досліджувана:

$$\frac{A_{\text{ст}}}{A_{\text{дос}}} = \frac{C_{\text{ст}}}{C_x}, \quad C_x = A_{\text{дос}} \cdot C_{\text{ст}} / A_{\text{ст}}$$

де $A_{\text{ст}}$ – оптична густина стандартного розчину;

$A_{\text{дос}}$ – оптична густина досліджуваної проби;

$C_{\text{ст}}$ – відома концентрація стандартного розчину;

C_x – досліджувана концентрація проби.

Калібрувальні графіки будують для кожного фотометра, використовуючи серію стандартних розчинів. Такі розчини різняться за концентрацією речовини у порядку наростання.

Розрахунок за допомогою коефіцієнта перерахунку найпростіший.

Розрахунки виконують за формулою: $k \times A_{\text{дос}}$

де C – концентрація досліджуваного компонента;

k – коефіцієнт перерахунку;

A – оптична густина досліджуваної реакційної суміші.

Коефіцієнт перерахунку – величина специфічна для кожного окремого тесту.

Помилки, що трапляються під час проведення лабораторних досліджень

У ході лабораторного дослідження можна припуститися помилок. До складу остаточного результату кожного визначення входять остаточно дійсна вартість (дійсні величини) та певні помилки. Оцінка достовірності результату та його клінічна оцінка потребують знання видів помилок. Загалом під час діагностичних досліджень трапляються помилки, які можна класифікувати так:

1) помилка перед проведенням дослідження; 2) аналітична лабораторна помилка; 3) інтерпретаційна помилка.

Помилка перед проведенням дослідження охоплює групу факторів, які можуть впливати на остаточний результат досліджень, доки матеріал аналізують у лабораторії. Ці фактори пов'язані з підготовкою хворого до дослідження, із заборою та зберіганням матеріалу до початку аналізу.

Вплив уживаних ліків завжди треба брати до уваги під час інтерпретації результату. Вирішуючи питання впливу лікарських засобів на результат дослідження, необхідно передусім з'ясувати існування двох основних механізмів інтерференції.

Перший механізм полягає в інтерференції ліків або їх продуктів з ідентифікаторами або методами визначення. Насамперед, це фізико-хімічний та біохімічний вплив. Прикладами фізико-хімічної взаємодії є можливість зміни відносної густини сечі за умови застосування більшої кількості декстрану або вплив тетрацикліну на визначення концентрації глюкози. Прикладом біохімічного впливу може бути вплив лікарських засобів з відновними властивостями на завищені результати визначення вмісту креатиніну. Ці впливи, тобто фізико-хімічна та біохімічна інтерференція, спричинені переважно дефіцитом специфічних методик.

Другий механізм базується на фармакологічній дії препаратів, незалежно від запланованого лікування, на складові або процеси системи, які призводять до змін, не пов'язаних із захворюванням.

Інтерференція, спричинена фармакологічною дією ліків, має дуже важливе значення. Її не можна залишати поза увагою. Істотне значення має також кількість медикаментів та індивідуальна чутливість організму, а також спосіб їх застосування.

Виключення помилки, пов'язаної з впливом ліків, вимагає проведення досліджень перед лікуванням або в процесі лікування з вибором найкращого методу забору матеріалу. Вважають, що інтерференція лікарських засобів буде найменш вираженою за найнижчої їх концентрації в організмі.

Незалежно від того чи відбувається обмеження впливу ліків, цей фактор треба взяти до уваги під час інтерпретації результату, а саме непередбачуваного результату.

Аналітична (лабораторна) помилка. Ця помилка пов'язана з ходом дослідження біологічного матеріалу в лабораторії. Систематична помилка (точності) відтворює різницю між величиною отриманою і дійсною. Джерелом систематичної помилки виступають властивості методу або способи його реалізації, які є причиною того, що визначений показник не відповідає дійсній величині, тобто, вона зумовлена особливостями методу або лабораторією (дослідником).

Прикладом систематичної помилки методу може бути визначення концентрації глюкози за методом Хагедорна-Єнсена, що ґрунтується на відновних властивостях глюкози. Інші наявні в крові речовини з відновними властивостями також беруть участь у реакції. Тому результат визначення рівня глюкози цим методом завищений.

Систематична помилка в лабораторії полягає в тому, що в процесі дослідження виявляють неточність, яка постійно повторюється. Вона може стосуватися кожного етапу процесу (продукування ідентифікаторів, приготування та визначення стандарту) або може бути пов'язана з лабораторним устаткуванням.

Випадкова помилка (повторюваності) забезпечується різницею між результатами вимірювання одного й того ж самого зразка на тому самому лабораторному устаткуванні й тим самим методом, спричиненою змінами умов під час виконання вимірів. Джерело випадкової помилки пов'язане зі взаємодією багатьох непередбачуваних факторів і тих випадків, які змінюють умови визначення. Саме ця зміна зумовлює різницю результатів кількох визначень одного й того ж самого зразка в тому самому матеріалі.

Мірою випадкової помилки є акуратність (точність). Найчастіше її відхилення приймають за стандарт або визначають у відсотках як коефіцієнт зміни. Під час аналітичного процесу, який охоплює багато дій і методів та значну кількість визначень, може порушитися перебіг одного з етапів процесу або однієї з дій. Це формує помилку, що називається тривіальною. Частота помилок важлива під час обчислення показника. Вважається, що одна помилка на 2000 значень становить абсолютний мінімум.

Помилка інтерпретації результату. Використання поодинокого результату лабораторного аналізу в діагностичному процесі або моніторинг під час терапії можуть бути джерелом численних і зумовлених різними факторами помилок.

Помилка I типу: на основі результату дослідження роблять висновки про наявність патології, у здорової людини.

Помилка II типу: на основі результату дослідження дійсно хворого вважають здоровим.

Щоб уникнути таких помилок або зменшити їх кількість, треба пам'ятати, що є фізіологічні коливання клініко-біохімічних показників (інколи вони є значущими), які інтерферують із можливістю клінічної інтерпретації отриманого результату. Такі зміни можуть бути циклічними – годинними,

денними, сезонними. Це викликає необхідність проведення додаткових досліджень. Крім того, слід враховувати, що значення клініко-біохімічних показників можуть коливатися за рахунок змін внутрішнього середовища організму, зокрема при вживанні лікарських речовин.

Кожний етап процесу від моменту початку дослідження до моменту отримання і використання результату може бути джерелом помилки. Встановлення причин помилок допомагає обмежувати їх до мінімуму. Одночасно врахування помилок є умовою правильної інтерпретації результату і, таким чином, правильного використання отриманої інформації з метою виявлення, профілактики і лікування захворювань.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Визначення біохімії як науки та її місця серед інших медико-біологічних дисциплін. Об'єкти вивчення та завдання біохімії. Розділи біохімії та її значення для вивчення профільних дисциплін.

- Дати визначення біохімії як науки;
- Обґрунтувати на конкретних прикладах роль біохімії серед інших медико – біологічних наук;
- Назвати об'єкти вивчення біохімії;
- Перерахувати завдання біохімії у цілому та конкретних галузей: статичної, динамічної, функціональної, клінічної біохімії.

2. Історія розвитку біохімічних досліджень в Україні та світі. Внесок вчених кафедри біохімії Львівського національного медичного університету в розвиток біологічної хімії.

(Використати матеріал “Практикуму з біологічної хімії” та навчально – методичного посібника для практичних занять з біологічної хімії до теми 1, сайт кафедри біохімії ЛНМУ імені Данила Галицького www.meduniv.lviv.ua/kafedry/kafedra-biologichnoyi-himiyi/).

3. Основні методи біохімічних досліджень.

- Описати методи біохімічних досліджень за такою схемою:

Назва методу	Принцип методу	Застосування
Оптичні методи в біохімії		
Фотоелектроколориметрія		
Спектрометрія		
Флюоресцентний аналіз		
Спектрофотометрія		
Електрофорез		
Горизонтальний		
Диск - електрофорез		
Ізоелектричне фокусування		
імуноелектрофорез		

Хроматографія		
Афінна		
Іонообмінна		
Тонкошарова		
Рідинна		
Газова		
Гель - хроматографія		
Імуноферментні		
Гетерогенні ІФА/ELISA		
Гомогенні ІФА/ЕМІТ		
Електрохімічні		
Полярографія		
Інші		
Радіоізотопний		
Манометричний		
Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)		
Оптичні методи в біохімії		
Фотоелектроколориметрія		
Спектрометрія		

4. Методи таргетної доставки ліків за допомогою наночастинок. Нанотехнології.

- представити класифікацію наночастинок за хімічною будовою;
- подати їх класифікацію в залежності (від речовини, форми кластерів та типу зв'язку);
- Дати визначення нанотехнологіям.

5. Загальні принципи оцінки результатів наукових досліджень. Помилки, що трапляються під час проведення лабораторних досліджень.

- характеризувати та представити способи розрахунку результатів наукових досліджень;
- представити та характеризувати види помилок, що зустрічаються під час проведення лабораторних досліджень:
Аналітична (лабораторна) помилка – це...
Випадкова помилка (повторюваності) – це...
Помилка інтерпретації результату – це...

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Чоловік 40 років скаржиться на різку загальну слабкість, біль у м'язах та суглобах, підвищення температури тіла до 38,6 °С. У крові помірна анемія, прискорена ШОЕ, лейкоцитоз, у сечі помірна протеїнурія, мікрогематурія. Для підтвердження діагнозу хворому призначено протеїнограму білків сироватки крові. Який метод можна використати для розділення білків?

- А. Полярографію
- В. Імуноелектрофорез

- C. Імуноферментний аналіз
- D. Хроматографію
- E. ІЧ-спектрофотометрію

2. Тест-система для експрес-діагностики венеричних захворювань дає можливість виявити антиген збудника. Який метод дослідження найдоцільніше використати для цього?

- A. Спектрофлюориметрію
- B. Адсорбційну хроматографію
- C. Імуноелектрофорез
- D. Імуноферментний аналіз
- E. Поляриметрію

3. При гістологічному дослідженні щитоподібної залози спостерігають дифузну інфільтрацію тканини лімфоцитами, посилене розростання сполучної тканини. Для встановлення діагнозу визначають рівень тиреоїдних гормонів у сироватці крові. Який метод використовують при цьому:

- A. Хроматографію
- B. Електрофорез
- C. Імуноферментний
- D. Біуретовий
- E. Спектрофотометрію

4. У клініці для парентерального білкового харчування використовують фармпрепарати гідролізату білків. Повноцінність гідролізатів визначається за наявністю незамінних амінокислот. Вкажіть, яким методом можна розділити суміш амінокислот?

- A. Хроматографією
- B. Імуноелектрофорезом
- C. Поляррографією
- D. ІЧ спектроскопією
- E. Імуноферментним аналізом

5. Важлива роль в організмі належить трипептиду глутатіону, який складається із залишку глютамінової кислоти, цистеїну та гліцину (γ -глутамілцистеїнілгліцин). Глутатіон бере участь в окисно-відновних реакціях, знешкодженні різноманітних пероксидів, ксенобіотиків, продуктів клітинного метаболізму. Яким методом можна визначити наявність SH-групи в глутатіоні?

- A. Поляррографією
- B. Електрофорезом
- C. Фотоелектроколориметрією
- D. Гель-фільтрацією
- E. Хроматографією

Ситуаційні задачі

1. У сечі спостерігається позитивна реакція з сульфосаліциловою кислотою. Кількісно виявлено 0,253 % білка. Про що це свідчить? До яких наслідків в організмі може призвести такий стан?

2. На частку альбумінів сироватки крові здорової людини припадає 56 % вмісту загального білка, який дорівнює 65-85 г/л. Визначте білковий коефіцієнт і поясніть його можливі відхилення при патології.

Практична робота

Дослід 1. Визначення оптичної густини (А) розчину, що містить різну кількість фосфору.

Принцип методу. Кожна речовина має свій спектр поглинання з максимумом при певній довжині хвилі. Тому концентрації розчинів різних речовин вимірюють при довжині хвилі, що відповідає максимуму поглинання.

Фосфати в розчині сульфатної кислоти утворюють з молібдатами фосфатно-молібденові комплекси, які відновлюються до молібденової сині. Кількість фосфатів визначають колориметрично (за інтенсивністю забарвлення) за реакцією утворення комплексної фосфатно-молібденової кислоти та її відновлення до молібденової синьки.

Матеріальне забезпечення: стандартний розчин фосфору 0,32 ммоль/л, молібденовий реактив, пробірки, піпетки, ФЕК.

Хід роботи. У п'ять пробірок додають розчини у кількостях, наведених нижче в таблиці:

№ з/п	Назва реактиву	№ пробірки				
		1	2	3	4	5
1	Стандартний розчин фосфору, 0,32 ммоль/л	-	0,5	1,0	2,0	3,0
2	Дистильована вода, мл	5,0	4,5	4,0	3,0	2,0
3	Молібденовий реактив, мл	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
4	Концентрація фосфору, мкмоль/мл	0	0,16	0,32	0,64	0,96
5	Оптична густина (А)					

Розчини змішують і не раніше, ніж через 2 хв, але не пізніше, ніж через 5 хв, вимірюють величину оптичної густини на ФЕКу, використовуючи червоний світлофільтр. За результатами вимірювань будують графік залежності оптичної густини від концентрації фосфору в ммоль/мл.

Зробити висновок. Пояснити вплив концентрацій речовин на величину оптичної густини.

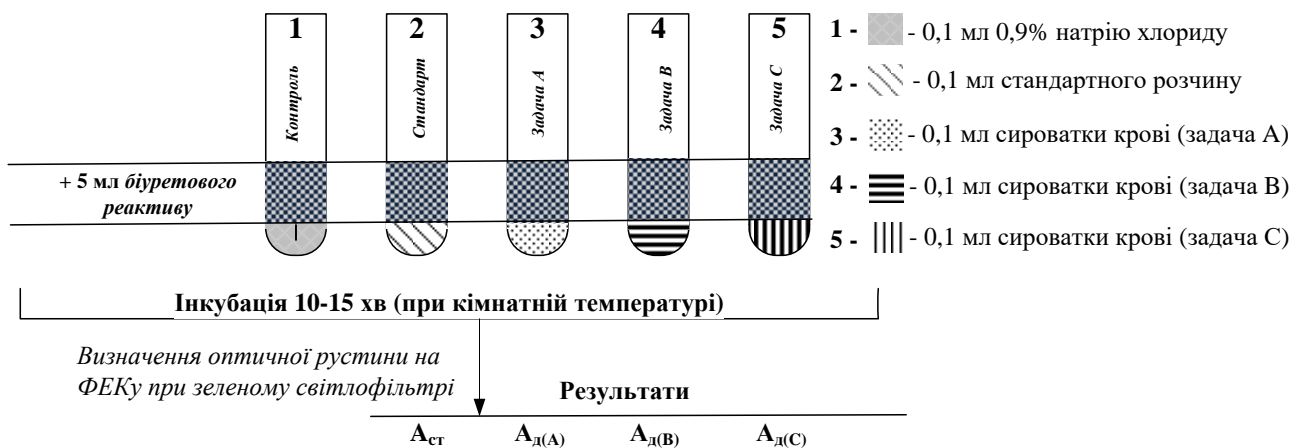
Дослід 2. Кількісне визначення білка в досліджуваному розчині шляхом вимірювання оптичної густини колориметричним методом (біуретова реакція).

Принцип методу. Біуретова реакція характерна для сполук, що містять у своєму складі не менше двох пептидних зв'язків. Такі сполуки в лужному середовищі реагують із міді сульфатом (мідним купоросом), при цьому утворюються сполуки, забарвлені у рожево-фіолетовий колір. В утворенні цього комплексу беруть участь пептидні зв'язки в енольній формі. Біуретова

реакція служить підтвердженням наявності пептидних зв'язків у білках та пептидах. Реакція дістала свою назву від біурету (похідне від сечовини).

Матеріальне забезпечення: сироватка крові, калій-натрій виннокислий, міді сульфат, 0,9 % розчин NaCl, 10 % розчин NaOH, мірні пробірки, піпетки на 1; 2 і 10 мл, ФЕК, біуретовий реактив: 0,15 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,6 г калію - натрію виннокислого і 50 мл H_2O . Суміш перемішують і додають 30 мл 10 % розчину NaOH, 0,1 г калію йодиду і доводять водою до об'єму 100 мл (зберігають у холодильнику в запарафінованому посуді).

Хід роботи. У першу пробірку вносять 0,1 мл 0,9 % розчину натрію хлориду (контроль), у другу – 0,1 мл стандартного розчину білка (50 г/л), у третю, четверту і п'яту пробірки – по 0,1 мл досліджуваного розчину білка (задачі). У кожен пробірку додають по 5 мл біуретового реактиву, перемішують і через 30 хвилин визначають оптичну густину за допомогою ФЕКу в кюветах завтовшки 10 мм при зеленому світлофільтрі ($\lambda = 500 - 560$ нм) проти контрольного розчину.



Розрахунок проводять за формулою: $X = (C \times A_d) / A_{ст}$,

де: X – концентрація речовин у дослідній пробі, г/л;

C – концентрація речовин у стандартному розчині;

A_d – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{ст}$ – оптична густина стандартного розчину білка.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок. Вказати на властивості білків утворювати в лужному середовищі з CuSO_4 комплекс рожево-фіолетового забарвлення.

Кількісно загальний білок можна визначити в сироватці або плазмі крові за допомогою тестового набору реактивів напівавтоматичним біохімічним аналізатором „Stat Fax 1904 plus”

Значення для фармації та клініки. Для кількісного визначення білків у біологічному матеріалі найчастіше застосовують фотоколориметричні та спектрофотометричні методи, у деяких випадках – фотонелометричні методи, а також визначення білка за вмістом загального нітрогену (азотометрія).

У клініко-біохімічних лабораторіях для встановлення діагнозу захворювання проводять визначення концентрації білків у біологічних рідинах організму (крові, сечі, спинномозковій рідині, ексудатах). У нормі вміст

загального білка у сироватці крові становить у дорослих 65 – 85 г/л (6,5 – 8,5 %), у дітей до 6 років 56 – 85 г/л (5,6 – 8,5 %). Гіпопротеїнемії – зниження вмісту загального білка у крові. Вони виникають внаслідок: гальмування синтезу білків у печінці (голодування, кахексія); порушення всмоктування, ураження печінки (цироз, пухлини, токсичне ураження); синдроми втрати білка (нефротичний синдром, гломерулонефрит, амілоїдоз, системний червоний вовчак); кишкові втрати білка (хвороба Крона); ексудативні синдроми втрати білка (масивні набряки, запалення легенів, плеври); катаболічні стани (сепсис, гарячка, травми); кровотечі.

Гіперпротеїнемії – підвищення рівня загального білка у крові. Виникають внаслідок: 1. Хронічних запальних станів, ревматоїдного артриту, колагенозів, бронхоектазів. 2. Внаслідок зневоднення і втрати частини внутрішньо судинної рідини. 3. Появи патологічних білків при мієломній хворобі (білок Бенс - Джонса).

У медичній практиці використовуються гідролізати білків, амінокислоти. Їх застосовують шляхом парентерального введення, що забезпечує харчування організму білком, а також позитивний азотистий баланс у хворих після значної втрати білків (опіках) та у пацієнтів після операцій на органах травної системи. У клінічній практиці застосовують наступні препарати: гідролізат казеїну, желатиноль, амінокровін (гідролізат крові людини), протамін сульфат, альбумін, нефрамін (розчин амінокислот для парентерального харчування), який також містить іони калію, фосфору та магнію. Церебролізін, який містить низькомолекулярні біологічно активні пептиди, які проникають через гематоенцефалічний бар'єр і діють на нервові клітини. Цей препарат стимулює диференціацію нейронів, активує процеси розумової діяльності. Застосовують його при ішемічному інсульті, черепно – мозковій травмі, затримці розумового розвитку у дітей, деменціях різного генезу, хворобі Альцгеймера, а також різних формах вегетативної дистонії.

Вміст амінокислот у нормі в крові людини складає 3,5 – 6,5 г/л. Знижується концентрація амінокислот у сироватці крові у разі білкового голодування, гарячки, ревматоїдного артриту, нефротичного синдрому, гіперфункції кори надниркових залоз, хворобі Хартнупа. Підвищується концентрація амінокислот у сироватці крові при цукровому діабеті, спадковій непереносимості фруктози, важких ураженнях печінки, деяких видах аміноацидемій (фенілкетонурія).

Амінокислоти знайшли самостійне застосування в якості лікарських засобів.

Глутамінова кислота стимулює процеси окислення в організмі, сприяє знешкодженню та виведенню з організму аміаку, активує синтез ацетилхоліну і АТФ, є медіатором, стимулюючим передачу збудження в синапсах ЦНС. Застосовується головним чином при лікуванні захворювань центральної нервової системи: епілепсії, реактивних станів, що протікають з явищами виснаження і депресії, церебральних паралічів, хвороби Дауна, тощо.

Метіонін - незамінна амінокислота, необхідна для підтримки зростання і азотистого балансу організму, має ліпотропні дією, підвищує антитоксичну

функцію печінки. Застосовують метіонін для лікування і попередження захворювань і токсичних уражень печінки, а також при хронічному алкоголізмі, цукровому діабеті, атеросклерозі, тощо.

Орнітин знижує концентрацію аміаку в плазмі крові, сприяє нормалізації кислотно-лужної рівноваги в організмі. Призначають для лікування гепатиту, цирозу печінки, печінкової енцефалопатії, печінкової коми, уражень печінки алкогольного генезу.

Гістидин - незамінна амінокислота, в організмі піддається декарбоксілюванню з утворенням гістаміну. Гістидину гідрохлорид запропонований для лікування виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки, а також атеросклерозу.

Гліцин - центральний нейромедіатор гальмівного типу, надає заспокійливу дію, покращує метаболічні процеси в тканинах мозку. Рекомендований як засіб, що послаблює потяг до алкоголю, зменшує явище абстиненції у хворих на хронічний алкоголізм.

Цистеїн бере участь в обміні речовин кришталика ока і запропонований для затримки розвитку катаракти і просвітління кришталика при початкових формах катаракти.

Таурин сприяє поліпшенню енергетичних процесів в організмі, в ЦНС грає роль гальмівного нейромедіатора, має протисудомну активність. Однією з характерних особливостей таурину є його здатність стимулювати репаративні процеси при дистрофічних порушеннях сітківки ока, травматичних ураженнях тканин ока.

Цитрулін – амінокислота, яка бере участь в біосинтезі сечовини в орнітіновому циклі. Сприяє нормалізації обміну речовин і активації неспецифічних захисних факторів організму. Застосовується для симптоматичної терапії функціональної астенії (при перевтомі, втоми, в післяопераційному періоді, у спортсменів, тощо.).

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Який метод найчастіше використовують для кількісного визначення білків у біологічному матеріалі?
2. Для яких сполук характерна позитивна біуретова реакція?
3. Загальний вміст білка у крові людини становить 100 г/л. Чи відповідає це нормі? Як називається такий стан?
4. Загальний вміст білка у крові людини становить 45 г/л. Як називається такий стан та які причини його виникнення?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Історія розвитку біохімії в Україні (наукові дослідження Я.О. Парнаса, О.В. Палладіна, І.Я. Горбачевського, Р.В. Чаговця, І.Д. Головацького, С. В. Комісаренка).
2. Роль вчених кафедри біохімії ЛНМУ імені Данила Галицького у дослідженні метаболізму вуглеводів.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 3-74.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: підручник. Кн. 2 / За ред. чл.-кор. НАМН України, проф. Ю.І. Губського, проф. І.В. Ніженковської. – К.: ВСВ Медицина, 2016. – с. 15 – 18.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 9-28, 228-233.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Х.: Основа: Видавництво НФАУ, 2000. – С. 4 – 80, 346 – 348.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т. П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 11 – 66.
6. Губський Ю.І. Біологічна хімія. – Київ; Вінниця: Нова книга, 2007. – С. 9 – 11; 18 – 41.
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – с. 4 – 41.
8. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 3-14; 71-88.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 431.
2. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 289.
3. Кучеренко М.Є., Бабенюк Ю.Д., Войціцький В.М. Сучасні методи біохімічних досліджень. К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 424 с.

Наукова фахова:

1. Незгода І.І., Науменко О.М., Бух Я., Князева В.І. Сучасні підходи до діагностики ротавірусної інфекції у дітей. / Здоров'я дитини. - 2014, №3 (54). - С. 134- 137.
2. А.С.Сверстюк, Т.В.Бігуняк, Б.О.Перевізнак. Огляд методів та моделей полімеразно-ланцюгової реакції. / Медична інформація та інженерія. – 2014, №3. – с. 97-100.
3. Czyżowska A., Barbasz A. A review: zinc oxide nanoparticles - friends or enemies?// Int. J. Environ. Health Res. – 2022. – №32(4). – P. 885-901.
4. Pilcher CD, Joaki G, Hoffman IF et al. Amplified transmission of HIV-1: comparison of HIV-1 concentrations in semen and blood during acute and chronic infection. AIDS. 2007, 21 (13). 1723-1730. <http://www.ncbi.nih.gov/pubmed/17690570/>
5. Zhang A., Sun H., Wang P., Han Y., Wang X. Modern analytical techniques in metabolomics analysis.// Analyst. – 2012. – №137(2). – P.293-300.

Тема № 2. Ферменти: будова, фізико-хімічні властивості, класифікація та механізм дії білків-ферментів. Методи виявлення ферментів у біологічних об'єктах

Мета заняття: Засвоїти принципи організації та загальні властивості ферментів. Оволодіти методом визначення активності амілази слини та вивчити специфічність дії окремих ферментів.

Мотивація теми: Ферменти – це біологічні каталізатори білкової природи, які забезпечують прискорення і координацію численних метаболічних процесів в живих організмах. Існують тисячі ферментів, які каталізують окремі хімічні перетворення або групи споріднених реакцій. Ферменти розрізняються за своєю будовою, наявністю небілкових компонентів, локалізацією, різними фізико-хімічними та каталітичними властивостями. Активність ферментів може змінюватись в широких межах в залежності від численних внутрішніх та зовнішніх факторів.

Конкретні завдання:

- *Трактувати біохімічні закономірності будови та функціонування різних класів ферментів.*
- *Пояснювати хімічну природу ферментів та їх властивості як біокаталізаторів.*
- *Аналізувати гіпотези механізму дії ферментів та стадії ферментативного каталізу.*
- *Засвоїти принципи визначення активності ферментів у біологічних рідинах.*

Теоретичні питання

1. Класифікація білків. Характеристика простих та складних білків.
2. Функції білків-ферментів.
3. Хімічна природа ферментів та властивості їх як біокаталізаторів.
4. Структурна організація ферментів.
5. Будова простих і складних ферментів. Кофактори, коферменти і простетичні групи: визначення, класифікація, приклади. Роль іонів металів (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , тощо) у функціонуванні ферментів.
6. Загальні властивості та специфічність дії ферментів.
7. Сучасна класифікація та номенклатура ферментів.
8. Гіпотези механізму дії ферментів. Сучасні уявлення про механізм дії ферментів. Стадії ферментативного каталізу.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Класифікація білків. Характеристика простих та складних білків.

- Заповнити таблицю:

Класифікація простих білків	Основні властивості	Функції	Приклади

- Заповнити таблицю:

Класифікація складних білків	Основні властивості	Функції	Приклади

2. Функції білків-ферментів.

- Дати визначення:
Ферменти – це...
- Перелічити та пояснити функції білків-ферментів.

3. Хімічна природа ферментів та властивості їх як біокаталізаторів.

- Пояснити хімічну природу ферментів.
- Навести спільні та відмінні риси між ферментами та неорганічними каталізаторами.
- Назвати властивості ферментів як біокаталізаторів.

4. Структурна організація ферментів.

- Пояснити рівні структурної організації ферментів, за допомогою яких зв'язків утворюються ці структури.

5. Будова простих і складних ферментів. Кофактори, коферменти і простетичні групи: визначення, класифікація, приклади. Роль іонів металів (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , тощо) у функціонуванні ферментів.

- Дати визначення ключовим словам:
Прості ферменти – це...
Складні ферменти – це...
Апофермент – це...
Простетична група – це...
Кофактор – це...
- Пояснити відмінності між коферментом та простетичною групою, навести приклади, металовмісні ферменти.
- Представити сучасну класифікацію коферментів.
- Будова ферментів:
Активний центр – це...
Регуляторний (алостеричний) центр – це...
- Описати будову активного центру.
- Навести приклади ролі іонів Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , тощо у реалізації функції ферментів як кофакторів.

6. Загальні властивості та специфічність дії ферментів.

- Пояснити що таке специфічність дії ферментів та її значення.
- В конспекті дати характеристику абсолютній, відносній та стереоспецифічності, навести приклади до кожного виду специфічності.
- В конспекті представити та пояснити фізико-хімічні властивості ферментів:

Властивості ферментів	Пояснення
Електрохімічні	
Амфотерні	
Оптичні	
Розчинність	
Осадження	
Денатурація	
Взаємодія з лігандами	

7. Сучасна класифікація та номенклатура ферментів.

- В конспекті пояснити як утворюється систематична та тривіальна назви ферментів, навести приклади.
- В конспекті зазначити, який принцип покладений в основу класифікації ферментів, написати класифікацію, навести приклади до кожного класу ферментів.

Номер класу	Назва класу	Тип реакції	Приклади
1	Оксидоредуктази		
2	Трансферази		
3	Гідролази		
4	Ліази		
5	Ізомерази		
6	Лігази		

8. Гіпотези механізму дії ферментів. Сучасні уявлення про механізм дії ферментів. Стадії ферментативного каталізу.

- В конспекті обґрунтувати гіпотези механізму дії ферментів.
- Пояснити механізм та етапи утворення фермент-субстратного комплексу.
- Схематично навести стадії ферментативного каталізу, пояснити смисл констант.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Ферменти широко використовуються у фармації в якості лікарських препаратів. Яка основна відмінність ферментів від небіологічних каталізаторів?
 - А. Висока гомогенність
 - В. Висока дисперсність
 - С. Мала універсальність
 - Д. Висока специфічність дії та селективність
 - Е. Висока універсальність
2. У слині міститься фермент, здатний руйнувати α -1,4-глікозидні зв'язки в молекулі крохмалю. Назвіть цей фермент.
 - А. α -Амілаза
 - В. Фосфатаза
 - С. Фруктофуранозидаза

- D. β -Галактозидаза
- E. Лізоцим

3. Дегідрогенази – це ферменти, які відщеплюють атоми гідрогену від субстрату. До якого класу ферментів відноситься лактатдегідрогеназа? А.

Оксидоредуктази

- B. Ізомерази
- C. Трансферази
- D. Гідролази
- E. Ліпази

4. У експериментальних тварин з раціону харчування вилучили ліпоєву кислоту, при цьому у них спостерігалось інгібування піруватдегідрогеназного комплексу. Чим являється ліпоєва кислота для цього фермента?

- A. Коферментом
- B. Субстратом
- C. Інгібітором
- D. Аlostеричним регулятором
- E. Продуктом

5. У дванадцятипалій кишці під впливом ферментів підшлункової залози відбувається травлення різноманітних компонентів їжі. Які з перерахованих нижче ферментів гідролізують О-глікозидні зв'язки вуглеводів?

- A. α -Амілаза
- B. Карбоксипептидаза
- C. Ліпаза
- D. Трипсин
- E. Уреаза

Ситуаційні задачі

1. Одна таблетка препарату ацидин – пепсину, який призначають при гіпоацидних станах, містить 0,5 мг пепсину. Пепсин є одним з протеолітичних ферментів, що діють на першому етапі розщеплення білків, до якого класу ферментів він належить?
2. Фермент ацетилхолінестераза, що розщеплює нейромедіатор ацетилхолін містить два активних центри. Один впізнає холін, другий зв'язує ацетильну групу. На якому рівні структурної організації ферменту формується активний центр? Яка його будова?

Практична робота

Дослід 1. Дослідження впливу рН середовища на активність амілази слини.

Принцип методу. Метод ґрунтується на здатності крохмалю при взаємодії з йодом утворювати синє забарвлення за умов оптимального для амілази рН

середовища. Продукт розщеплення крохмалю – мальтоза – з йодом забарвлення не дає і її можна виявити за допомогою проби Тромера.

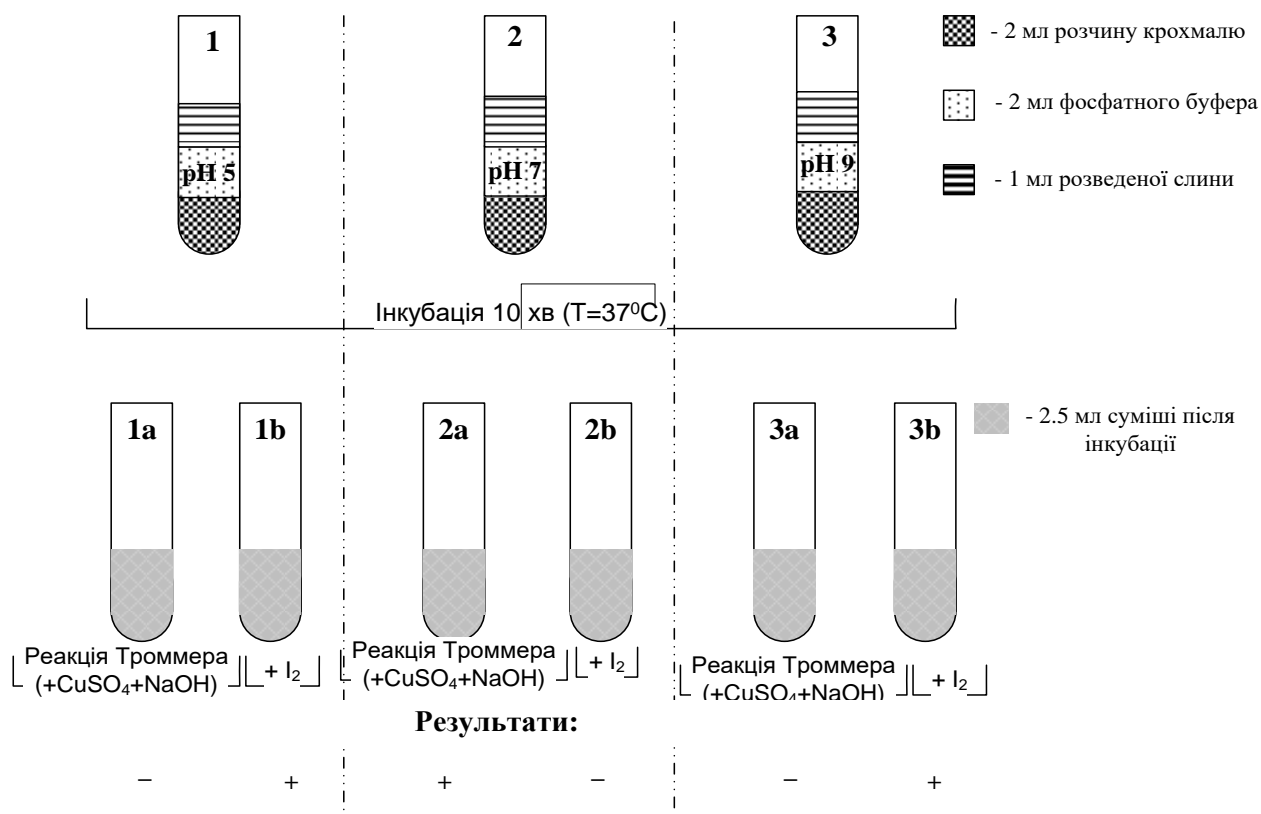
Матеріальне забезпечення: 0,5 % р-н крохмалю, 0,1 % розчин I_2 в KI , 10% р-н $NaOH$, 5 % р-н $CuSO_4$, розведена слина, газовий пальник, водяна баня, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи. У три пробірки вносять по 2 мл 0,5 %-го р-ну крохмалю. У першу додають 2 мл фосфатного буферу рН 5,0, у другу – рН 7, а в третю – рН 9. В кожну з пробірок вносять по 1 мл розведеної слини і поміщають їх у водяну баню на 15 хв при температурі $37^\circ C$.

Після інкубації вміст кожної пробірки ділять порівну. До перших фракцій додають по 3-5 краплі р-ну I_2 в KI і спостерігають за зміною забарвлення. З фракціями, що залишилися проводять пробу Тромера.

Для проведення проби Тромера до вмісту пробірки з реактивною сумішшю додають рівний об'єм 10 % розчину $NaOH$ і 5-7 крапель 5 % розчину $CuSO_4$. Вміст пробірки перемішують до зникнення помутніння. Верхню частину пробірки обережно нагрівають на відкритому вогні до кипіння, реакція Тромера повинна бути позитивною, що відзначають за появою жовто-червоного осаду.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.



Дослід 2. Вивчення специфічності дії амілази слини та сахарози дріжджів.

Принцип методу. Специфічність дії є однією з найбільш характерних властивостей ферментів і полягає в тому, що кожен фермент діє на певний субстрат чи групу субстратів, які мають подібну структуру. Розрізняють абсолютну,

відносну (групову) та стереохімічну специфічність. Висока специфічність ферментів обумовлена їх білковою природою та структурою активного центру.

Амілаза слини розщеплює крохмаль до дисахариду – мальтози і не діє на дисахарид – сахарозу, сахараза розщеплює сахарозу на глюкозу та фруктозу і не діє на крохмаль. Ступінь гідролізу субстратів оцінюють за результатами реакції Тромера. Мальтоза містить вільну альдегідну групу, а тому утворює забарвлення з реактивом Троммера, а сахароза не містить вільної альдегідної групи, тому не дає реакції.

Матеріальне забезпечення: 1 % р-н крохмалю, препарат сахарази дріжджів, 1 %-го розчин сахарози, 0,1 розчин I_2 в KI, 10 % р-н NaOH, 5 % р-н $CuSO_4$, розведена слина, газовий пальник, водяна баня, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи.

Специфічність амілази: в дві пробірки поміщають по 1 мл розведеної в два рази слини. В пробірку № 1 додають 2 мл 1 %-го розчину крохмалю, в пробірку № 2 – 2 мл 1 %-го розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять в термостат при $t = 37^\circ C$ на 15 хв. Після закінчення інкубації в обох пробірках проводять реакцію Тромера.

Специфічність сахарази дріжджів: в дві пробірки поміщають по 1 мл препарату сахарази дріжджів. В пробірку № 3 додають 2 мл 1 %-го розчину сахарози, в пробірку № 4 – 2 мл 1 %-го розчину крохмалю. Обидві пробірки ставлять в термостат при $t = 37^\circ C$ на 15 хв. Після закінчення інкубації в обох пробірках проводять реакцію Тромера.

Результати проведеного експерименту заносять в таблицю:

№ пробірки	Фермент	Субстрат	Реакція Тромера
1			
2			
3			
4			

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації та клініки. Амілаза синтезується переважно в слинних та підшлунковій залозах. Підвищення активності амілази в крові спостерігається при панкреатиті, перитоніті, тромбозі судин, внаслідок введення в організм ряду фізіологічно активних сполук, зокрема морфіну, кодеїну, кортикотропіну (АКТГ) та кортизолу.

Підвищення активності амілази слинних залоз спостерігається при стоматиті, невралгії лицевого нерва, нирковій недостатності, паркінсонізмі. Зниження активності амілази крові спостерігається при психічних захворюваннях, анацидних порушеннях. Зниження вмісту амілази в слині має місце при гіпосалівації, запаленні слинних залоз, тощо.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Яку реакцію каталізує амілаза слини?
2. Які продукти утворюються в результаті дії амілази слини на крохмаль?
3. При яких патологічних станах змінюється активність амілази?

4. Які існують види специфічності дії ферментів?
5. Який вид специфічності властивий амілазі і сахаразі?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Мультиферментні комплекси, особливості будови та каталізу.
2. Роль вітамінів у механізмі дії складних ферментів.
3. Використання ферментів у біохімічних дослідженнях.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 163-188.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія / Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 23-38.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 29-34, 50-57.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Х.: Основа: Видавництво НФАУ, 2000. – с. 109-129.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – с. 66-71, 74-83, 93-98.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – с. 115-119, 129-134.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – с. 11-16, 25.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – с. 23-54.
9. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 149-153, 154-157, 161.

Додаткова:

1. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 289.
2. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко – діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2003. – 192 с.

Наукова фахова:

1. Авдіюк К. В., Варбанець Л. Д. Мікробні α -амілази: фізико-хімічні властивості, субстратна специфічність та доменна структура // Укр. Біохім. журнал. - 2013. - № 4. - С. 5-19.
2. Копытова Т. В. Окислительная модификация белков и олигопептидов у больных хроническими дерматозами с синдромом эндогенной интоксикации / Т. В. Копытова, О. Н. Дмитриева, Л. Н. Химкина // Фундаментал. исследования. – 2009. – № 6. – С. 25–29.

3. Zeymer C., Hilvert D. Directed Evolution of Protein Catalysts.// Annu. Rev.Biochem. – 2018. - № 20(87). – P.131–157.
4. Silman I. The multiple biological roles of the cholinesterases.// Prog. Biophys. Mol. Biol. – 2021. – №62. – P. 41–56.

Тема № 3. Кінетика ферментативних реакцій. Регуляція та визначення активності ферментів

Мета заняття. Засвоїти основні принципи регуляції метаболічних шляхів. На прикладі амілази та холінестерази вивчити вплив активаторів та інгібіторів на активність ферментів.

Мотивація теми. Знання механізму дії ферментів та кінетики ферментативного каталізу лежить в основі розуміння метаболічних процесів у клітинах, тканинах та органах організму, що важливо для засвоєння перебігу хімічних перетворень і застосування ферментних препаратів, їх інгібіторів у фармації.

Конкретні завдання:

- Пояснювати механізм дії ферментів на основі спорідненості ферменту до субстрату та процесів, що перебігають у фермент-субстратному комплексі.
- Трактувати кінетику ферментативних реакцій.
- Пояснювати застосування інгібіторів та активаторів ферментів при порушеннях обміну речовин.
- Аналізувати вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази та холінестерази.

Теоретичні питання

1. Активація та інгібування ферментів: активатори ферментів; інгібування ферментів (зворотне, незворотне, конкурентне, неконкурентне).
2. Регуляція шляхом зміни каталітичної активності ферментів: алостеричні ферменти; ковалентна модифікація ферментів; протеолітична активація ферментів (обмежений протеоліз); дія регуляторних білків; циклічні нуклеотиди в регуляції ферментативних процесів.
3. Регуляція шляхом зміни кількості ферментів: конститутивні та адаптивні ферменти
4. Основні положення кінетики ферментативного каталізу: залежність швидкості реакції від температури, рН середовища, концентрації субстрату та ферменту; утворення фермент-субстратного комплексу та процес перетворення субстрату; рівняння Міхаеліса-Ментен; смислове значення величини K_m (спорідненість ферменту до субстрату).
5. Одиниці активності ферментів.
6. Особливості застосування інгібіторів ферментів в якості фармацевтичних засобів (прозерин, сульфаніламідні препарати, фторид натрію, фосфакол).

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. **Активация та інгібування ферментів: активатори ферментів; інгібування ферментів (зворотне, незворотне, конкурентне, неконкурентне).**
 - Дати визначення ключовим словам:
Активатори – це...
Інгібітори – це...
 - Пояснити активацию ферментів, навести приклади активаторів.
 - Описати і пояснити зворотне, незворотне, конкурентне, неконкурентне інгібування, навести приклади таких інгібіторів, представити графіки Міхаеліса-Ментен та Лайнуівера–Берка для конкурентного та неконкурентного інгібування.

2. **Регуляція шляхом зміни каталітичної активності ферментів: алостеричні ферменти; ковалентна модифікація ферментів; протеолітична активация ферментів (обмежений протеоліз); дія регуляторних білків; циклічні нуклеотиди в регуляції ферментативних процесів.**
 - Пояснити алостеричну регуляцію та навести приклади алостеричних інгібіторів.
 - *Ретроінгібування – це...* Навести приклад
 - Описати шляхи ковалентної модифікації ферментів та навести приклади.
 - Пояснити обмежений протеоліз, навести приклади.
 - Описати регуляторну дію білків (кальмодуліну, інгібіторів протеїназ, антигемофільного глобуліну А).
 - Пояснити роль циклічних нуклеотидів в регуляції ферментативних процесів

3. **Регуляція шляхом зміни кількості ферментів: конститутивні та адаптивні ферменти.**
 - Дати визначення:
Конститутивні ферменти – це ...
Адаптивні ферменти – це...

4. **Основні положення кінетики ферментативного каталізу: залежність швидкості реакції від температури, рН середовища, концентрації субстрату та ферменту; утворення фермент-субстратного комплексу та процес перетворення субстрату; рівняння Міхаеліса-Ментен; смислове значення величини K_m (спорідненість ферменту до субстрату).**
 - Пояснити і зобразити графічно залежність швидкості реакції від:
 - концентрації субстрату;
 - концентрації ферменту;
 - температури;
 - рН середовища.

- Написати рівняння Міхаеліса-Ментен та письмово пояснити смислове значення константи Міхаеліса.
- Подати рівняння та графік Лайнуівера-Берка, пояснити його значення.

5. Одиниці активності ферментів.

- Дати визначення ключовим словам:

Катал – це...

Міжнародна одиниця – це...

Питома активність – це...

Молярна активність – це...

6. Особливості застосування інгібіторів ферментів в якості фармацевтичних засобів (прозерин, сульфаніламідні препарати, фторид натрію, фосфакол).

- Охарактеризувати біохімічні та фармакологічні механізми дії прозерину
- Охарактеризувати біохімічні та фармакологічні механізми дії сульфаніламідних препаратів
- Охарактеризувати біохімічні та фармакологічні механізми дії фториду натрію
- Охарактеризувати біохімічні та фармакологічні механізми дії фосфаколу

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Перетворення сукцинату в фумарат каталізується сукцинатдегідрогеназою. Який конкурентний інгібітор гальмує активність ферменту?

- A. Щавлевоцтова кислота
- B. Яблучна кислота
- C. Малонова кислота
- D. Фумарова кислота
- E. Піровиноградна кислота

2. Під час операції у хворого після введення препарату, який викликає розслаблення м'язів спостерігається тривала зупинка дихання (більше 5 хв). Недостатність якого з наведених ферментів спостерігалась? Каталаза

- A. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа
- B. Моноамінооксидаза
- C. Ацетилтрансфераза
- D. Ацетилхолінестераза

3. Для лікування певних інфекційних захворювань використовують сульфаніламідні препарати, які гальмують ріст бактерій. Який механізм їх дії? Є структурними аналогами параамінобензойної кислоти, необхідної для синтезу фолієвої кислоти

- A. Алостерично інгібують ферменти бактерій
- B. Беруть участь в окисно – відновних процесах
- C. Інгібують всмоктування фолієвої кислоти

D. Незворотно інгібують синтез фолієвої кислоти, необхідної для нормального функціонування бактерій

4. Хворому в курсі лікування туберкульозу призначили ізоніазид – структурний аналог нікотинаміду і піридоксину. Який тип інгібування за механізмом дії викликає ізоніазид? Конкурентне

- A. Незворотне
- B. Безконкурентне
- C. Алостеричне
- D. Неконкурентне

5. Фармпрепарати, що містять ртуть, миш'як та інші важкі метали інгібують ферменти, які мають сульфгідрильні групи. Яку амінокислоту використовують для реактивації цих ферментів?

- A. Гістидин
- B. Ізолейцин
- C. Цистеїн
- D. Аспарагінову кислоту
- E. Гліцин

Ситуаційні задачі

1. Фосфорорганічні сполуки (високотоксичні отрути нервово-паралітичної дії) гальмують ацетилхолінестеразу шляхом утворення ковалентних зв'язків з ОН-групами серину в активному центрі ферменту. Який тип гальмування є характерним для цього класу сполук?
2. При інкубації гексокінази протягом 12 хвилин при 80°C фермент втратив активність. Яка основна причина інактивації ферменту?
3. Хворому після операції для профілактики активації фібринолізу, що може зумовити кровотечу, призначили препарат контрикал. Поясніть механізм дії препарату. До якого типу інгібіторів він належить?

Практична робота

Дослід 1. Дослідити вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази слини.

Принцип методу. Сполуками, що підвищують активність ферментів – активаторами – є іони багатьох металів, зокрема: Na^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , а також органічні сполуки – проміжні продукти обміну речовин в організмі.

Активатором амілази є хлорид натрію (NaCl), інгібітором – сульфат міді (CuSO_4). Показником впливу цих сполук на активність амілази є ступінь гідролізу крохмалю під дією ферменту в присутності NaCl та CuSO_4 .

Матеріальне забезпечення: 1 % р-н крохмалю, 0,1 %-й розчин йоду в 0,2%-му розчині йодиду калію, 5 % р-н CuSO_4 , 1 %-й розчин NaCl , розведена слина, газовий пальник, водяна баня, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи. Слину розводять в 2 рази. Беруть 3 пробірки. В пробірку № 1 наливають 1 мл води, в пробірку № 2 – 0,8 мл води та 0,2 мл 1% -го розчину

NaCl, в пробірку № 3 – 0,8 мл води та 0,2 мл 1 %-го розчину CuSO₄. У всі три пробірки додають по 1 мл слини. Вміст перемішують і додають по 2 мл 1 %-го розчину крохмалю, знову перемішують і ставлять в термостат чи на водяну баню при t = 37°C на 15 хв.

Далі у всіх пробірках проводять реакцію з йодом (0,1 %-й розчин йоду в 0,2 %-му розчині йодиду калію). Спостерігають зміну забарвлення.

Результати роботи заносять у таблицю:

Вміст пробірок	№ пробірки		
	1	2	3
Вода, мл	1	0,8	0,8
NaCl, 1 %-й розчин, мл	-	0,2	-
CuSO ₄ , 5 %-й розчин, мл	-	-	0,2
Слина (розведення 1:2), мл	1	1	1
Крохмаль, 1 %-й розчин, мл	2	2	2
Забарвлення після додавання йоду			

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації та клініки. Інгібітори ферментів широко використовуються в медицині в якості лікарських засобів, зокрема ацетилсаліцилова кислота (аспірин) – інгібітор циклооксигенази (простагландинсинтази) використовується як протизапальний препарат, трасилол – інгібітор трипсину та контрикал – інгібітор протеїназ (зокрема калікреїнів) використовуються при панкреатиті, аллопуринол – інгібітор ксантиноксидази застосовується при подагрі, тощо.

Дослід 2. Дослідити вплив фосфаколу та іонів кальцію на активність холінестерази.

Принцип методу. Фосфорорганічні сполуки (ФОС, фосфакол) є незворотними інгібіторами холінестерази та ацетилхолінестерази, оскільки ковалентно зв'язуються з активним центром ферменту і гальмують його активність. Препарати ФОС є високотоксичними отрутами для комах (пестициди) та теплокровних тварин. Механізм гальмівної дії полягає у зв'язуванні з ОН-групою серину в активному центрі ферменту.

При проведенні нервового збудження відбувається зростання концентрації іонів Ca²⁺ у нервовому закінченні, що є сигналом для активації виходу ацетилхоліну у синаптичну щілину, взаємодії його з холінорецепторами постсинаптичної мембрани та розщепленням ацетилхолінестеразою. Окрім цього, іони кальцію є потужним активатором холінестерази.

Метод кількісного визначення холінестерази ґрунтується на титруванні лугом оцтової кислоти, що вивільнилась в процесі гідролізу ацетилхоліну.

Кількість лугу, що затратилась на титрування є мірою активності ферменту.

Матеріальне забезпечення: 0,5 % розчин CaCl₂, 0,05 % розчин фосфаколу, 5 % розчин CuSO₄, 2 %-й розчин ацетилхоліну, NaOH 0,1 М, розчин фенолфталеїну, сироватка крові, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи. Три пробірки заповнюють реактивами за таблицею.

Вміст пробірок	№ пробірки		
	1	2	3
Сироватка крові, мл	0,5	0,5	0,5
0,5 % розчин CaCl ₂ , крапель	-	5	-
0,5 % розчин фосфаколу, крап.	-	-	5
Інкубація при кімнатній температурі, 5 хвилин			
2 % розчин ацетилхоліну	1,5	1,5	1,5
Інкубація 10 хвилин			
Фенолфталеїн, крапель	2	2	2
К-сть 0,1 М NaOH, що пішла на титрування, мл			

Зробити висновки.

Значення для фармації та клініки. Холінестераза каталізує реакцію гідролізу нейромедіатора – ацетилхоліну з утворенням холіну та оцтової кислоти. В крові людини міститься два види холінестерази. В сироватці міститься неспецифічна ацилхолінестераза (КФ 3.1.1.8), яка розщеплює не лише ацетилхолін, але й інші ефіри холіну. В еритроцитах міститься специфічна, істинна ацетилхолінестераза, яка розщеплює лише ацетилхолін (КФ 3.1.1.7).

У нормі активність холінестерази в сироватці крові становить 44,4 – 94,4 мккат/л (колориметричним методом за гідролізом ацетилхолінхлориду).

Фізіологічно активні сполуки, що є інгібіторами ацетилхолінестерази, мають важливе фармакологічне та токсикологічне значення, оскільки спричиняють значне підвищення концентрації нейромедіатора як в структурах центральної нервової системи, так і в організмі в цілому.

Зворотні інгібітори ацетилхолінестерази застосовуються в медицині з метою збільшення активності холінергічної імпульсації, порушеної при певних неврологічних захворюваннях, таких як атонія кишківника, сечового міхура. Із зазначеною метою застосовуються препарати: Прозерин, Фізостигмін, Галантамін.

Незворотні інгібітори ацетилхолінестерази є потужними нервовими отрутами, які спричиняють різке збудження нервової системи із судомами, порушенням функції серцево-судинної, гастро-інтестинальної та інших фізіологічних систем організму. Найбільш поширеними незворотними інгібіторами є фосфорорганічні сполуки – ФОС. В сільському господарстві для боротьби зі шкідливими комахами використовують: хлорофос, дихлофос, метафос, карбофос, тощо. Нервово-паралітичними отрутами, що використовуються як бойові отруйні речовини є табун, зарин, зоман, тощо.

Висока чутливість холінестерази до дії фосфорорганічних сполук робить її специфічним біохімічним маркером для виявлення впливу цих отрут на організм людини.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Поясніть механізм перетворення субстрату за умов каталітичної дії ферменту.
2. Що таке активатори? Які речовини можуть бути активаторами ферментів?
3. Назвіть активатори та інгібітори для амілази слини.
4. Що таке незворотні інгібітори? Куди вони приєднуються у молекулі ферменту?
5. Які речовини можуть виступати активаторами та інгібіторами холінестерази?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Особливості використання протеолітичних ферментів у фармації.
2. Активатори та інгібітори ферментів, як фармацевтичні препарати.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 188-208.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія / Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 38-55.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 57-69.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Х.: Основа: Видавництво НФАУ, 2000. – с. 129-135, 137-148.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – с. 83-93, 98-100.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – с. 134-147.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – с. 22-37.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – с. 23-55.
9. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – с. 157-159, 161-162.

Додаткова:

1. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко – діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2003. – 192 с.
2. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 289.

Наукова фахова:

1. Дмухальська Е. Б. Вплив важких металів, фосфоорганічних пестицидів і пептиду на активність ферментів глутатіонової системи / Е. Б. Дмухальська, Я. И. Гонский // Медична та клінічна хімія.- 2016.- Т. 18, № 1. – С. 70-74.
2. Кібірев В. К., Осадчук Т. В. Структура та властивості інгібіторів протеїнконвертаз / В. К. Кібірев, Т. В. Осадчук // Укр. біохім. журн. – 2012.- Т. 84, № 2.- С. 5-29.
3. Orhan I.E. Enzyme Inhibitors as the Attractive Targets for the Treatment of Various Diseases.// Curr. Med. Chem. – 2019. – №26(18). – P.3206 – 3207.

Тема № 4. Регуляція ферментативних процесів та аналіз механізмів виникнення ензимопатій. Використання ферментів як фармпрепаратів

Мета заняття. Засвоїти основні принципи порушення функціонування ферментів у клітині та використання ферментів як лікарських засобів у медицині та фармації. На прикладі пептидаз панкреатину і амілази показати каталітичну роль ферментів у хімічних перетвореннях.

Мотивація теми. Ферменти є біокаталізаторами з мінливою активністю, яка змінюється при певних регулюючих впливах. У клінічній практиці ферменти застосовують як фармпрепарати, а визначення їх активності у крові та сечі необхідно для діагностики патологічних станів.

Конкретні завдання:

- *Характеризувати основи ензимопатологій, ензимодіагностики, ензимотерапії;*
- *Пояснювати застосування ферментних препаратів та інгібіторів ферментів як фармацевтичних препаратів при певних патологічних станах;*
- *Пояснювати зміни перебігу ферментативних процесів та накопичення проміжних продуктів метаболізму при вроджених (спадкових) та набутих вадах метаболізму – ензимопатіях;*
- *Аналізувати зміни активності індикаторних ферментів плазми крові при патологіях певних органів та тканин.*

Теоретичні питання

1. Поліферментні системи: особливості структури, складу та функції в тканинах людини.
2. Імобілізовані ферменти та їх застосування у промисловій фармації.
3. Ізоферменти, множинні молекулярні форми ферментів. Ізоферменти в ензимодіагностиці.
4. Ензимодіагностика, ензимопатії та ензимотерапія.
5. Зміни активності ферментів плазми та сироватки крові як діагностичні (маркерні) показники розвитку патологічних процесів.
6. Вроджені (спадкові) та набуті вади метаболізму, їх клініко-лабораторна діагностика.

7. Використання інгібіторів ферментів в якості лікарських засобів: ацетилсаліцилова кислота, алопуринол, сульфаніламідні препарати.
8. Ензимотерапія – використання ферментів в якості лікарських засобів при захворюваннях травної системи, гнійно-некротичних процесах, як фібринолітичні препарати, препарати ферментів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Поліферментні системи: особливості структури, складу та функції в тканинах людини.**
 - Дати визначення:
Мультиферментні комплекси - ...
Ферментативні ансамблі - ...
Поліфункціональні ферменти - ...
 - Навести приклади.

- 2. Імобілізовані ферменти та їх застосування у промисловій фармації.**
 - Дати визначення:
Імобілізовані ферменти – це ...
 - Пояснити застосування імобілізованих ферментів у фармації.

- 3. Ізоферменти, множинні молекулярні форми ферментів. Ізоферменти в ензимодіагностиці.**
 - Дати визначення:
Ізоферменти – це ...
 - Описати будову, локалізацію та значення для діагностики ізоферментів лактатдегідрогенази.
 - В конспекті описати будову, локалізацію та значення для діагностики ізоферментів креатинфосфокінази

- 4. Ензимодіагностика, ензимопатії та ензимотерапія.**
 - Дати визначення ключовим словам:
Ензимодіагностика - ...
Ензимопатії – це ...
Ензимотерапія - ...

- 5. Зміни активності ферментів плазми та сироватки крові як діагностичні (маркерні) показники розвитку патологічних процесів.**
 - В конспекті пояснити зміни маркерних ферментів крові при інфаркті міокарда, зобразити графік змін цих ферментів у динаміці захворювання.
 - Пояснити зміну активності діагностичних ферментів при захворюваннях печінки.
 - Описати зміни активності маркерних ферментів при захворюваннях підшлункової залози.

- Пояснити, як змінюється активність відповідних ферментів при захворюваннях м'язової тканини.

6. Вроджені (спадкові) та набуті вади метаболізму, їх клініко-лабораторна діагностика.

- Пояснити чому виникають вроджені та набуті вади метаболізму.
- Навести приклади спадкових ензимопатій обміну вуглеводів, їх клініко-лабораторна діагностика.
- Навести приклади спадкових ензимопатій обміну ліпідів, їх клініко-лабораторна діагностика.
- Навести приклади спадкових ензимопатій обміну амінокислот, їх клініко-лабораторна діагностика.

7. Використання інгібіторів ферментів в якості лікарських засобів: ацетилсаліцилова кислота, аллопуринол, сульфаніламідні препарати.

- Заповнити таблицю:

Лікарський засіб	Ензим мішень	Механізм дії	Показання для застосування
Аллопуринол			
Ацетилсаліцилова кислота			
Трасилол			
Сульфаніламідні препарати			

8. Ензимотерапія – використання ферментів в якості лікарських засобів при захворюваннях травної системи, гнійно-некротичних процесах, як фібринолітичні препарати, препарати ферментів.

- Навести приклади використання ферментів як лікарських засобів при:
 - захворюваннях травної системи
 - гнійно-некротичних процесах
 - як фібринолітичні препарати
 - препаратів ферментів

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. При обстеженні хворого виявлено підвищення в крові активності ЛДГ. Це характерно для хвороб серця, печінки, нирок. Яке додаткове біохімічне обстеження треба зробити для диференціальної діагностики?

- Визначення цукру крові
- Рівень ацетонових тіл
- Визначення ізоферментів ЛДГ
- Визначення рівня холестерину
- Активність амілази крові

2. Який фермент використовується як фармпрепарат для лікування гнійних ран?

- A. Каталаза
- B. Лужна фосфатаза
- C. Трипсин
- D. Кисла фосфатаза
- E. Аргіназа

3. Хворому з непереносимістю антибіотиків для лікування пневмонії призначений сульфален. Через декілька днів у хворого розвинувся гемоліз еритроцитів. Недостатність якого фермента в організмі хворого сприяла розвитку цього побічного ефекту?

- A. Глюкозо-6-фосфатдегідрогенази
- B. Уридиндифосфатглюкуронової трансферази
- C. Холінестерази
- D. N-ацетилтрансферази
- E. Ацетальдегіддегідрогенази

4. При вживанні свіжого молока у дитини спостерігаються розлади шлунково-кишкового тракту, тоді як вживання інших вуглеводмісних продуктів не викликає подібних порушень. Генетично детерміновану відсутність якого ферменту можна передбачити в даному випадку?

- A. Лактази
- B. Глікогенсинтетази
- C. Гексокинази
- D. Фосфоглюкомутази
- E. Глюкозо-6-фосфатізомерази

5. У відділення реанімації надійшов чоловік 47-ми років з діагнозом інфаркт міокарда. Яка з фракцій лактатдегідрогенази (ЛДГ) буде переважати в сироватці крові впродовж перших двох діб захворювання?

- A. ЛДГ₁
- B. ЛДГ₂
- C. ЛДГ₃
- D. ЛДГ₄
- E. ЛДГ₅

Ситуаційні задачі

1. Який фермент впливає на сполучну тканину, розсмоктуючи рубці, гематоми, ексудати і трансудати у плевральній та черевній порожнинах. Укажіть механізм дії даного ферменту.
2. У хворої діагностували обструкцію позапечінкових жовчних шляхів. Активність яких сироваткових ферментів слід визначити для прогнозу розвитку та оцінки тяжкості захворювання?
3. Для лікування деяких форм лейкозів успішно застосовують аспаргіназу. Який механізм та особливості дії цього препарату?

Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення активності амілази сечі за методом Вольгемута.

Принцип методу. Метод Вольгемута ґрунтується на здатності амілази розщеплювати (гідролізувати) крохмаль. В ході роботи виявляють мінімальну кількість ферменту, здатного повністю розщеплювати 1 мл 0,1 %-го розчину крохмалю. Цю кількість ферменту приймають за одиницю амілазної активності.

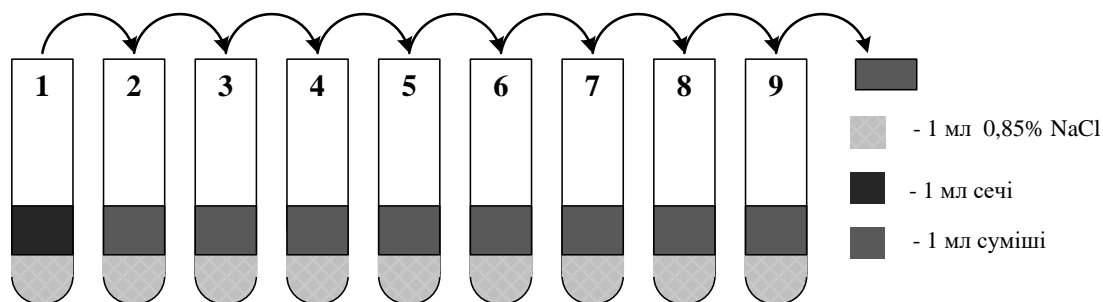
Амілазна активність виражається в кількості мл 0,1 %-го розчину крохмалю, яку може розщепити (гідролізувати) 1 мл нерозведеної сечі при температурі 45°C протягом 15 хв.

Матеріальне забезпечення: сеча, 0,1 % р-н крохмалю, 0,1 % розчин I₂ в 0,2 % розчині KI, 0,85 % р-н NaCl, газовий пальник, водяна баня, штатив з пробірками, піпетки.

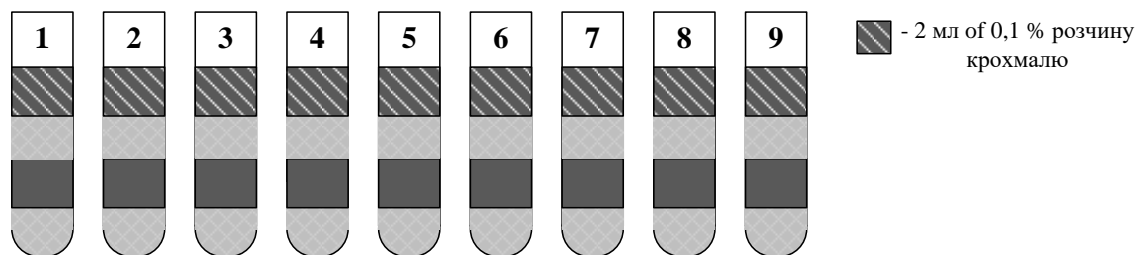
Хід роботи. У дев'ять пронумерованих пробірок вносять з бюретки по 1 мл 0,85 % р-н NaCl. У першу пробірку додають 1 мл сечі. Вміст добре перемішують і 1 мл отриманого розчину переносять з першої пробірки до другої, з неї – в третю, таким чином у кожній наступній пробірці вміст ферменту в два рази менше, ніж у попередній. З останньої пробірки 1 мл суміші виливають для зрівняння об'єму. Потім в усі пробірки додають ще по 1 мл 0,85% р-н NaCl та по 2 мл 0,1%-го розчину крохмалю, перемішують та ставлять пробірки у водяну баню (чи) при 45°C на 15 хв.

Після інкубації пробірки виймають та охолоджують для зупинки дії ферменту. В кожну пробірку додають по 2 краплі розчину йоду (0,1%-ний розчин йоду в 0,2 %-му розчині йодиду калію), перемішують та спостерігають за зміною забарвлення. Рідина в пробірках може забарвлюватися у жовтий, червоний та синій колір. Жовтий колір свідчить про повне розщеплення крохмалю. Результати спостережень вносять в таблицю, позначаючи синє, червоне та жовте забарвлення літерами "С", "Ч", "Ж". Відмічають останню пробірку з розчином жовтого кольору та проводять розрахунок амілазної активності

сечі:термостат



Внести 1 мл 0,85 % NaCl до кожної пробірки. У першу пробірку додати 1 мл сечі, перемішати і 1 мл отриманого розчину перенести до другої до другої, з неї – в третю і т.д.



Інкубація упродовж 15 хв (T=45°C)

+ I₂

Результати:

Жовтий Жовтий Жовтий Жовтий Синій Синій Синій Синій Синій

Показник	№ пробірки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Розведення сечі	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
К-сть 0,1 %-го розчину крохмалю, мл	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Забарвлення після додавання йоду									
Остання пробірка з р-ном жовтого кольору									

Для розрахунку активності амілази необхідно знати розведення сечі в останній пробірці, де відбувся повний гідроліз крохмалю.

Наприклад, остання пробірка з розчином жовтого кольору виявляється четвертою, в якій сеча розведена у 16 разів. Складають пропорцію та розраховують активність амілази:

1/16 мл сечі розщеплює 2 мл 0,1 %-го розчину крохмалю;

1мл сечі розщеплює - X мл 0,1 %-го розчину крохмалю,

Звідки:

$$X = \frac{1 \times 2}{\frac{1}{16}} = \frac{2 \times 16}{1} = 32 \text{ мл}$$

А отже: А (амілазна активність) = 32 одиниці.

Зробити висновки з проведених досліджень.

Значення для фармації та клініки. Метод Вольгемута широко використовується в клінічній практиці для визначення амілазної активності в крові та сечі. У нормі активність амілази сечі коливається в межах 16-18 одиниць. При гострих панкреатитах активність амілази сечі та сироватки крові зростає в 10-30 разів, особливо протягом першої доби захворювання, потім поступово повертається до норми.

Дослід 2. Кількісне визначення активності пептидаз панкреатину.

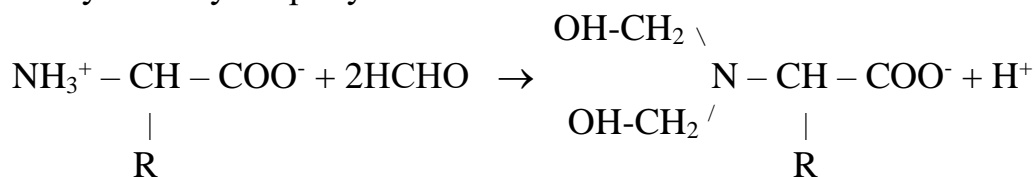
Принцип методу. Метод ґрунтується на здатності пептидаз гідролізувати пептидні зв'язки, що приводить до зростання кількості вільних аміно- та карбоксильних груп. Після блокування аміногруп формаліном, карбоксильні групи підвищують кислотність середовища, приріст якого визначається титруванням лугом за методом Зернсена в присутності індикатора фенолфталеїну.

Матеріальне забезпечення: 6 % розчин казеїну, фосфатний буфер рН 7,6, панкреатин, фенолфталеїн, 0,2 н розчин NaOH, 0,02н розчин NaOH, формольна суміш рН 8,3, штатив з пробірками, піпетки, колбочки для титрування, бюретка, водяна баня, термометр, газовий пальник.

Хід роботи. У дві пробірки відмірюють по 5 мл 6 % розчину казеїну і по 2 мл фосфатного буферу рН 7,6. В одну з пробірок додають 0,5 г панкреатину, старанно перемішують і ставлять у водяну баню при температурі 37⁰С разом з контрольною пробіркою.

Через 30 хв пробірки знімають з бані, охолоджують, їх вміст переливають у колбочки для титрування, додають в кожну по 2-3 краплі фенолфталеїну і підлучнюють з піпетки 0,2 н розчином NaOH до утворення блідорожевого забарвлення (рН-8,3).

При такому рН кількість аміногруп у розчині дорівнює кількості карбоксильних груп. Далі в обидві колбочки додають по 5 мл формольної суміші (рН-8,3). Формалін зв'язує аміногрупи, а карбоксильні групи зсувають рН розчину в кислу сторону.



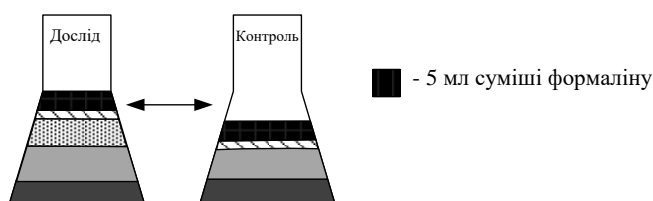
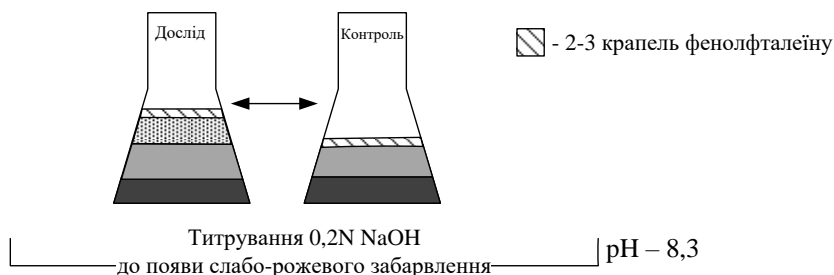
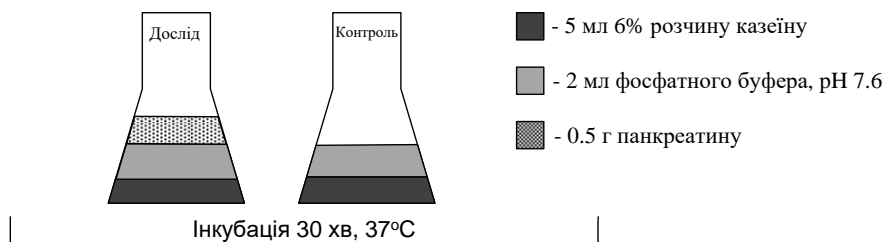
Розчин знебарвлюється. Обидві проби титрують із бюретки 0,02 н розчином NaOH до утворення слабо-рожевого забарвлення (рН 8,3) і додають ще декілька крапель 0,02 н розчину NaOH до яскраво червоного кольору (рН 9,1).

Вираховують різницю між даними титрування досліджуваного і контрольного розчинів. Активність пептидаз виражають в умовних одиницях. Одна умовна одиниця відповідає 1 мл 0,02 н розчину NaOH, затраченого додатково на титрування дослідної проби.

Приклад розрахунку:

- Кількість 0,02 н NaOH, що пішла на титрування гідролізату казеїну мл.

- Кількість 0,02 N NaOH, що пішла на титрування контрольного розчину мл.
- Різниця у кількості 0,02 N NaOH між дослідним і контр. розчином мл.



+ декілька крапель 0,02N NaOH до яскраво-червоного кольору

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. У нормі активність пептидаз сироватки крові становить 0,2-1,7 мкмоль/мл год. Збільшення вмісту пептидаз у сироватці крові та зростання їх активності спостерігається при гострому панкреатиті, виразковій хворобі, обширних опіках, гострому гепатиті. Зниження активності пептидаз може спостерігатися при емфіземі легень, цирозі печінки.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. До якого класу ферментів відносять пептидази? Яку реакцію вони каналізують?
2. На чому ґрунтується метод кількісного визначення активності пептидаз панкреатину?
3. У чому полягає принцип методу визначення діастази в сечі?
4. Про що свідчить підвищена активність діастази в сечі?
5. В підшлунковій залозі знаходяться ферменти: амілаза, пептидази та ліпази. Які з цих ферментів за певних умов можуть викликати автоліз органу і чому?
6. У хворого гнійна рана. Чи можна для її лікування використовувати ферменти? Які саме? На чому заснована їх лікувальна дія?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Використання ізоферментів в ензимодіагностиці.

2. Використання ферментів та їх інгібіторів в якості фармацевтичних препаратів

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 214-224.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія / Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 30-33, 56-64.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 43-46, 70-77.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Х.: Основа: Видавництво НФАУ, 2000. – с. 148- 160.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – с. 101-102.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – с. 119-121, 457-458.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – с. 16-17, 19, 86-146.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – с. 23-55.
9. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохіміч-ними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – с. 153-154, 162-170.

Додаткова:

1. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко – діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2003. – 192 с.
2. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 289 с.

Наукова фахова:

1. Раєцька Я. Б. Активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів при злякисному рості карциноми Герена за умов введення антиоксидантного препарату / Я. Б. Раєцька, Т. В. Іщук, О. О. Моргаєнко, Л. І. Остапченко // Медична хімія.- 2013.- Т. 15, № 4. – С. 41-44.
2. Басараб, І. М. Зміни активності маркерних ензимів у крові та органах тварин за дії екзогенних чинників [Текст] : автореферат... канд. с.-г. наук, спец.: 03.00.04 - біохімія / Басараб І. М. – Львів : Ін-т біології тварин, 2013. – 20 с.
3. Krishnamurthy S., Lockey R.F., Kolliputi N. Soluble ACE2 as a potential therapy for COVID-19.// Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2021. – №320(3). – P.279 – 281.

Тема № 5. Дослідження функціональної ролі водорозчинних (коферментних) у метаболізмі та реалізації клітинних функцій. Водорозчинні вітаміни як фармпрепарати. Роль кофакторів та коферментних вітамінів у прояві каталітичної активності ферментів

Мета заняття: Засвоїти будову, загальні принципи класифікації, функціональну роль водорозчинних вітамінів. Оволодіти методами якісного та кількісного визначення водорозчинних вітамінів.

Мотивація теми: Водорозчинні вітаміни беруть участь в обміні речовин у якості коферментів і активаторів, багатьох ферментативних і неферментативних процесів. Порушення надходження, засвоєння та обміну вітамінів знижує інтенсивність енергетичного та пластичного обмінів, що супроводжується порушенням функцій низки органів та тканин, зниженням імунітету до вірусних та інфекційних захворювань, втратою організмом здатності адаптуватись до різних несприятливих факторів.

Конкретні завдання:

- *Трактувати роль водорозчинних вітамінів та їх коферментних форм як компонентів харчування у метаболічних і структурно-функціональних процесах.*
- *Пояснювати застосування вітамінів при патологіях системи гомеостазу.*
- *Оцінювати роль водорозчинних вітамінів в обміні речовин, пояснювати походження гіпо- та гіпервітамінозів, їх попередження та лікування.*

Теоретичні питання

1. Вітаміни як компоненти харчування, їх сучасна класифікація. Роль та значення водорозчинних і жиророзчинних вітамінів у біохімічних процесах.
2. Вітаміни В₁ і В₂, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині. Коферментні форми: ТМФ, ТДФ, ТТФ, ФМН і ФАД та їх роль у функціонуванні ферментів. Антивітаміни.
3. Будова, властивості вітаміну Н та пантотенової кислоти. Роль коферментів карбоксибіотину і КоASH в обмінних процесах. Основні джерела, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині. Антивітаміни.
4. Антианемічні вітаміни (В₁₂, фолієва кислота), їх будова, участь коферментів у обміні речовин, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині. Кобаламіни та ТГФК як коферментні форми. Антивітаміни.
5. Вітаміни В₆ та РР, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині. Коферментні форми: ПАЛФ і ПАМФ НАД⁺/ НАДН, НАДФ⁺/ НАДФН та їх роль у функціонуванні ферментів. Антивітаміни.
6. Вітаміни С і Р, їх будова, біологічна роль, участь у обміні речовин, джерела для людини, добова потреба. Функціональний зв'язок між вітаміном Р та вітаміном С (синергічна дія вітамінів). Прояви недостатності в організмі

людини, застосування у медицині, Ліпоєва кислота. Участь в хімічних реакціях ліпоєвих коферментів та аскорбінової кислоти.

7. Застосування водорозчинних вітамінів як лікарських засобів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Вітаміни як компоненти харчування, їх сучасна класифікація. Роль та значення водорозчинних і жиророзчинних вітамінів у біохімічних процесах.

- Представити загальну класифікацію вітамінів їх роль та значення у біохімічних процесах.
- Представити роль та значення водорозчинних і жиророзчинних вітамінів у біохімічних процесах.

2. Вітаміни В₁ і В₂, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині. Коферментні форми: ТМФ, ТДФ, ТТФ, ФМН і ФАД та їх роль у функціонуванні ферментів. Антивітаміни.

- У конспекті зазначити будову вітамінів В₁ і В₂, коферментну роль, джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу. Антивітаміни.

3. Будова, властивості вітаміну Н та пантотенової кислоти. Роль коферментів карбоксибіотину і КоASH в обмінних процесах. Основні джерела, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині. Антивітаміни.

- У конспекті зазначити будову вітамінів Н та пантотенової кислоти, коферментну роль, джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу. Антивітаміни.

4. Антианемічні вітаміни (В₁₂, фолієва кислота), їх будова, участь коферментів у обміні речовин, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині. Кобаламіни та ТГФК як коферментні форми. Антивітаміни.

- У конспекті зазначити будову фолієвої кислоти, коферментну роль (вітаміну В₁₂, фолієвої кислоти), джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу. Антивітаміни.

5. Вітаміни В₆ та РР, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині. Коферментні форми: ПАЛФ і ПАМФ НАД⁺/ НАДН, НАДФ⁺/ НАДФН та їх роль у функціонуванні ферментів. Антивітаміни.

- У конспекті зазначити будову вітамінів В₆ та РР, коферментну роль, джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу. Антивітаміни.

6. Вітаміни С і Р, їх будова, біологічна роль, участь у обміні речовин, джерела для людини, добова потреба. Функціональний зв'язок між вітаміном Р та вітаміном С (синергічна дія вітамінів). Прояви недостатності в організмі людини, застосування у медицині, Ліпоєва кислота. Участь в хімічних реакціях ліпоєвих коферментів та аскорбінової кислоти.

- Написати структуру вітамінів С та Р, біологічну роль, участь у обміні речовин, джерела для людини, добову потребу. Функціональний зв'язок між вітаміном Р та вітаміном С (синергічна дія вітамінів). Прояви недостатності в організмі людини, застосування у фармації та медицині.
- Написати структуру ліпоєвої кислоти. Вказати участь в хімічних реакціях ліпоєвих коферментів та аскорбінової кислоти.

7. Застосування водорозчинних вітамінів як лікарських засобів.

- У вигляді таблиці навести приклади використання водорозчинних вітамінів як фармпрепаратів:

Назві вітаміну	Лікарський засіб	Покази для застосування (ознаки гіпо- та авітамінозу)

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Біохімічні функції водорозчинних вітамінів реалізуються за рахунок перетворення їх на коферментні форми. На яку з приведених коферментних форм перетворюється вітамін РР?

- A. ФМН
- B. ФАД
- C. ПАЛФ
- D. НАД
- E. ТПФ

2. У пацієнта спостерігається біль вздовж великих нервових стовбурів і підвищений вміст пірувату в крові. Перетворення якого вітаміну на активну коферментну форму порушене?

- A. С
- B. В₁
- C. В₆
- D. К
- E. РР

3. В організмі людини більшість вітамінів зазнають певних перетворень. Який вітамін бере участь в утворенні коферменту ацетилювання (CoA-SH)?

- A. Тіамін
- B. Рибофлавін
- C. Пантотенова кислота
- D. Нікотинамід
- E. Фолієва кислота

4. Вкажіть, який з перерахованих вітамінів входить до складу коферментів дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот:

- A. Біотин
- B. Рутин
- C. Пантотенова кислота
- D. Аскорбінова кислота
- E. Нікотинамід

5. У пацієнта, який впродовж тривалого часу харчувався виключно кукурудзою, виявлено дерматит, діарею, деменцію. З недостатністю якого вітаміну пов'язані дані порушення?

- A. Вітаміну B₁
- B. Вітаміну B₂
- C. Вітаміну B₈
- D. Вітаміну B₉
- E. Вітаміну PP

Ситуаційні задачі

1. За добу у людини з сечею виділяється 10 мг вітаміну C. Чи забезпечений організм цим вітаміном?
2. У хворого діагностований гастрит з послабленою секрецією хлоридної кислоти. Який авітаміноз може виникнути у цьому випадку? Чому?
3. У хворого із сечею виділяється підвищена кількість пірвіноградної кислоти. Про нестачу яких вітамінів в організмі це свідчить?
4. У пацієнта спостерігається різке підвищення кровоточивості ясен. Які вітаміни слід призначити у цій ситуації?

Практична робота

Дослід 1. Феррихлоридна проба на піридоксин.

Принцип методу. При додаванні до розчину піридоксину розчину хлорного заліза утворюється комплексна сполука типу заліза феноляту, яка має характерний червоний колір.

Матеріальне забезпечення: водний розчин піридоксину, 5 % розчин FeCl₃, пробірки.

Хід роботи: До 5 крапель водного розчину піридоксину додають 1 краплю 5 %-го розчину FeCl₃ і збовтують. Рідина забарвлюється в червоний колір.

Пояснити отриманий результат і зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. У нормі вміст даного вітаміну в крові людини становить 0,6 мкмоль/л, сироватці – 0,4 мкмоль/л. Основною

метаболічно активною формою вітаміну В₆ є фосфорний ефір піридоксалу – піридоксаль-5-фосфат (ПАЛФ). Обмежену біологічну дію виявляє піридоксамін-5-фосфат (ПАМФ), який бере участь тільки в реакціях переамінування. Дані коферменти входять до ряду ферментів, які каталізують наступні реакції: транспорт амінокислот через клітинні мембрани; реакціях переамінування, декарбоксілування, десульфування, знешкодженні біогенних амінів, синтезі гемопротеїнів та сфінголіпідів. При нестачі даного вітаміну розвивається неврастенічний синдром, еритема тильної частини кистей рук, шиї, грудної клітки, гіперкератоз, сухість та блідість губ, можливий біль у м'язах по ходу нервів.

Дослід 2. Відновлення $K_3Fe(CN)_6$ аскорбіновою кислотою.

Принцип методу. Аскорбінова кислота відновлює $K_3Fe(CN)_6$ до $K_4Fe(CN)_6$. Остання, реагуючи з $FeCl_3$, утворює берлінську лазур – сполуку синього кольору.

Матеріальне забезпечення: 5 % розчин $K_3Fe(CN)_6$, 1 % розчин $FeCl_3$, 1 % витяжка з шипшини, дистильована вода, пробірки.

Хід роботи: У дві пробірки додають по одній краплі 5 %-го розчину $K_3Fe(CN)_6$ і 1 %-го розчину $FeCl_3$. В одну з пробірок до зелено-бурої рідини, яка утворилася, додають 5 – 10 крапель 1 % витяжки з шипшини, в другу – 5 – 10 крапель дистильованої води. Рідина в першій пробірці забарвлюється в зелено-синій колір і випадає синій осад берлінської лазури. При обережному нашаруванні дистильованої води, осад на дні пробірки стає виразнішим. В другій пробірці зелено-бура рідина забарвлення не змінює.

Пояснити отримані результати і зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. У нормі у крові дорослої людини вміст аскорбінової кислоти становить 39,7 – 113,6 мкмоль/л.

Аскорбінова кислота і продукти її розпаду виводяться з організму із сечею. У здорової людини за добу із сечею виводиться 20 – 35 мг або 113,55 – 170,33 мкмоль вітаміну С. Підвищений розпад аскорбінової кислоти зустрічається при гіпоацидному гастриті, виразковій хворобі, ентериті. Виділення вітаміну С нижче від норми свідчить про С-гіповітаміноз. Авітаміноз С призводить до виникнення захворювання – скорбуту, супроводжується синюшністю губ, нігтів, кровоточивістю ясен, блідістю і сухістю шкіри, точковими підшкірними крововиливами, розхитуванням і випадінням зубів, болями в суглобах, повільним загоєнням ран.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. У чому полягає принцип якісного методу визначення вітаміну В₆?
2. У чому полягає принцип якісного методу визначення вітаміну С?
3. Про що свідчить зниження концентрації вітаміну С у сечі?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Історія відкриття вітамінів. Розвиток вітамінології в Україні.
2. Екзо- і ендogenous гіпо- та авітамінози, їх причини та наслідки. Гіпервітамінози: можливі причини та наслідки.

Література

Основна:

1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн. 1. Біоорганічна хімія (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Б.С. Зіменковського, І.В. Ніженковської. Вид.: ВСВ "Медицина", 2016. – 272 с.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда та ін.]. – К. : ВСВ «Медицина», 2016. – С. 65 – 77, 370 - 379
3. Скляр О. Я. Біологічна хімія / Скляр О. Я., Фартушок Н. В., Бондарчук Т. І. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 34 – 42, 419 – 440.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Губський Ю. І. – Київ - Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – С. 399 – 411.
5. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі. Навчальний посібник / [Т. І. Бондарчук, Н. М. Гринчишин, Д. О. Климишин та ін.] ; за ред. О. Я. Склярова.– Львів: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 244 – 263.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології / [Д. П. Бойків, Т. І. Бондарчук, О. Л. Іванків та ін.]. – Київ: Медицина, 2007. – 320 с.
2. Клінічна біохімія / [Д. П. Бойків, О. Л. Іванків, Л. І. Кобилінська та ін.] ; за ред. Склярова О. Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 116 – 129.

Наукова фахова:

1. Agrawal S. Biotin deficiency enhances the inflammatory response of human dendritic cells / Agrawal S, Agrawal A, Said H.M. // Am J Physiol Cell Physiol. – 2016. – №311(3). – P.386 – 391.
2. Concentrations of Water-Soluble Vitamins in Blood and Urinary Excretion in Patients with Diabetes Mellitus / Iwakawa H, Nakamura Y, Fukui T та ін.]. // Nutr Metab Insights. – 2016. – №9. – P.85 – 92.
3. Development of thiamine and pyridoxine loaded ferulic acid-grafted chitosan microspheres for dietary supplementation / Chatterjee N.S, Anandan R, Navitha M та ін.]. // J. Food Sci. Technol. – 2016. – №53 (1). – P.551 – 560.
4. Bubko I. The role of thiamine in neurodegenerative diseases / Bubko I, Gruber B.M, Anuszevska E.L. // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2015. – №69. – P. 1096 – 1106.
5. Kuroishi T. Regulation of immunological and inflammatory functions by biotin / Kuroishi T. // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2015. – №93 (12). – P. 1091 – 1096.
6. Effect of supplementation of water-soluble vitamins on oxidative stress and blood pressure in prehypertensives / Talikoti P, Bobby Z, Hamide A та ін.]. // Clin. Exp. Hypertens. – 2015. – №37(1). – P. 15 – 18.
7. Said H.M. Water-soluble vitamins.// World Rev. Nutr. Diet. – 2015. - №111. – P. 30 – 37.

Тема № 6. Дослідження функціональної ролі жиророзчинних вітамінів у метаболізмі та реалізації клітинних функцій. Жиророзчинні вітаміни як фармпрепарати

Мета заняття: Засвоїти будову, загальні принципи класифікації, функціональну роль жиророзчинних вітамінів, вітаміноподібних сполук, антивітамінів, біологічно активних добавок. Оволодіти методами якісного та кількісного визначення жиророзчинних вітамінів.

Мотивація теми: Жиророзчинні вітаміни беруть участь в обміні речовин як регулятори багатьох ферментативних і неферментативних процесів.

Порушення засвоєння та надходження вітамінів в організм або патологія їх обміну знижує інтенсивність низки біохімічних процесів, що супроводжується порушенням функцій низки органів, зниженням імунітету, порушенням антиоксидантного статусу організму людини, нормального функціонування клітин епітелію, а також втратою організмом здатності адаптуватись до різних несприятливих факторів.

Конкретні завдання:

- *Трактувати роль жиророзчинних вітамінів та їх попередників як компонентів харчування у метаболічних і структурно – функціональних процесах.*
- *Пояснювати застосування антивітамінів як інгібіторів ферментів при інфекційних захворюваннях та при патологіях системи гомеостазу.*
- *Оцінювати роль жиророзчинних вітамінів в обміні речовин, пояснювати походження гіпо- та гіпервітамінозів, їх попередження та лікування.*
- *Пояснювати роль вітаміноподібних речовин у метаболізмі.*

Теоретичні питання

1. Вітаміни групи D, будова, біологічна роль, механізм дії, добова потреба, джерела для людини, ознаки гіпо- та гіпервітамінозів, авітаміноз.
2. Вітамін А, будова, біологічна роль, механізм дії, добова потреба, джерела для людини, ознаки гіпо-, гіпервітамінозів. Провітаміни.
3. Вітаміни Е, F, будова, біологічна роль, механізм дії, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки гіпо-, гіпервітамінозів, застосування в медицині та фармації.
4. Антигеморагічні вітаміни (K₂, K₃) та їх водорозчинні форми, будова, біологічна роль, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки недостатності, антивітаміни.
5. Застосування жиророзчинних вітамінів як лікарських засобів.
6. Антивітаміни.
7. Вітаміноподібні речовини: визначення, структура та біологічна роль.
8. Сучасні вітамінні препарати та їх профілактичне та лікувальне застосування в медичній та фармацевтичній практиці. Біологічно активні добавки (БАДи).

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Вітаміни групи D: будова, біологічна роль, механізм дії, добова потреба, джерела для людини, ознаки гіпо- та гіпервітамінозів, авітаміноз.

- У конспекті зазначити будову вітамінів групи D, біологічну роль, механізм дії, добову потребу, джерела для людини, ознаки гіпо- та гіпервітамінозів, авітаміноз.

2. Вітамін А: будова, біологічна роль, механізм дії, добова потреба, джерела для людини, ознаки гіпо-, гіпервітамінозів. Провітаміни.

- У конспекті зазначити будову вітаміну А, біологічну роль, механізм дії, добову потребу, джерела для людини, провітаміни, ознаки гіпо- та гіпервітамінозів, авітаміноз.
- Відобразити у вигляді схеми перетворення родопсину в сітківці ока.

3. Вітаміни Е, F, будова, біологічна роль, механізм дії, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки гіпо-, гіпервітамінозів, застосування в медицині та фармації.

- У конспекті зазначити будову вітаміну Е, його біологічну роль, механізм дії, добову потребу, джерела для людини, ознаки гіповітамінозу та авітаміноз.
- У конспекті зазначити будову поліненасичених жирних кислот (лінолевої ($\omega 6$), ліноленової ($\omega 3$), арахідонової), вказати їх біологічну роль, механізм дії, добову потребу, джерела для людини, ознаки гіповітамінозу та авітаміноз.

4. Антигеморагічні вітаміни (K_2 , K_3) та їх водорозчинні форми, будова, біологічна роль, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки недостатності, антивітаміни.

- Відобразити будову вітамінів (K_2 , K_3) та їх водорозчинної форми (вікасол), біологічну роль, механізм дії, добову потребу, джерела для людини, ознаки гіповітамінозу та авітаміноз, застосування в медицині та стоматології.
- Відобразити механізм утворення γ -карбоксихлутаминової кислоти за участі вітаміну К.
- Представити антивітаміни до антигеморагічних вітамінів, пояснити механізм їх дії.

5. Застосування жиророзчинних вітамінів як лікарських засобів.

- У вигляді таблиці навести приклади використання жиророзчинних вітамінів як фармпрепаратів:

Назви вітаміну	Лікарський засіб	Покази для застосування (ознаки гіпо- та авітамінозу)
----------------	------------------	---

--	--	--

6. Антивітаміни.

- Представити та дати характеристику антивітамінам.
- Вказати механізми дії антивітамінів.

7. Вітаміноподібні речовини: визначення, структура та біологічна роль.

- Написати структуру вітаміноподібних речовин (холін, інозитол, оротова кислота, пангамова кислота, убихінон, карнітин, ліпоева кислота, параамінобензойна кислота, S-метилметіонін, тощо), вказати біологічну роль кожного, механізм дії, джерела для людини.

8. Сучасні вітамінні препарати та їх профілактичне та лікувальне застосування в медичній та фармацевтичній практиці. Біологічно активні добавки (БАДи).

- Представити визначення та сучасну класифікацію вітамінних препаратів та біологічно активних добавок. Навести приклади.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У хворого дистрофія скелетної мускулатури. При гіповітамінозі якого вітаміну це спостерігається ?

- A. Вітамін E
- B. Вітамін B₁
- C. Вітамін A
- D. Вітамін D
- E. Вітамін C

2. У чому полягає біохімічна основа дії сульфаніламідних препаратів на бактеріальну флору ?

- A. Активують ферменти ПАБК
- B. Стабілізують конформацію фермента ПАБК
- C. Конкурентно заміщують ПАБК
- D. Коагулюють ферменти ПАБК
- E. Індукують синтез ферментів ПАБК

3. У хворого відзначається сухість слизових оболонок і порушення сутінкового зору. Нестача якого вітаміну призводить до виникнення таких симптомів?

- A. Вітаміну B₆
- B. Вітаміну B₂
- C. Вітаміну A
- D. Вітаміну D
- E. Вітаміну C

4. Вагітній з кількома мимовільними абортами в анамнезі призначено терапію вітамінними препаратами. Який вітамін сприяє виношуванню плода?

- A. Альфа-токоферол
- B. Піридоксальфосфат
- C. Рутин
- D. Тіамін
- E. Ціанокобаламін

5. У дитини першого року життя спостерігається збільшення розмірів голови та живота, запізніле прорізування зубів, порушення структури емалі. Наслідком якого гіповітамінозу є ці зміни?

- A. Гіповітамінозу D
- B. Гіповітамінозу A
- C. Гіповітамінозу B₁
- D. Гіповітамінозу B₂
- E. Гіповітамінозу C

Ситуаційні задачі

1. У групи мисливців, які тривалий період перебували на дрейфуючій станції в районі Північного полюсу, з'явилися такі клінічні прояви: гіперкератоз, алопеція, загальне виснаження організму. Ці симптоми супроводжувались головним болем, втратою апетиту, диспептичними проявами (нудота, блювання). Який гіпервітаміноз розвинувся?

2. У пілотів та водіїв, що працюють в умовах переключення уваги від освітлених приладів до темряви, збільшується добова потреба у вітаміні A. Поясніть біохімічний механізм даного явища.

3. Пацієнт звернувся до лікаря стоматолога зі скаргами на кровоточивість ясен під час гігієни порожнини рота, розхитування кількох зубів верхньої щелепи, неприємний запах з рота. У нього діагностований пародонтит. З лікувальною метою серед іншого лікар призначив аплікації вітаміну A. Активація якого процесу під впливом цього вітаміну спостерігається?

Практична робота

Дослід 1. Реакція з феруму хлоридом на виявлення вітаміну E.

Принцип методу. Спиртовий розчин α -токоферолу окиснюється феруму хлоридом до токоферилхінону з утворенням червоного забарвлення.

Матеріальне забезпечення: токоферол (0,1 % спиртовий розчин), 1 % розчин феруму хлориду, пробірки.

Хід роботи. У суху пробірку вливають 4 – 5 крапель 0,1 % спиртового розчину токоферолу, додають 0,5 мл 1 % феруму хлориду, інтенсивно перемішують, нагрівають на відкритому вогні до зміни кольору. Вміст пробірки набуває червоного забарвлення.

Зробити висновок. Пояснити отриманий результат, вказати на причини появи червоного забарвлення розчину.

Значення для фармації та клініки. Концентрація α -токоферолу в сироватці крові 3500 – 8000 нмоль/л.

За сучасними уявленнями головна функція токоферолів полягає в тому, що вони служать антиоксидантами стосовно ненасичених ліпідів. Завдяки наявності в молекулі α -токоферолу лабільного атома водню він взаємодіє з пероксидними радикалами ліпідів, відновлюючи їх до гідропероксидів і перериваючи, у такий спосіб, ланцюгову реакцію пероксидації.

Більшість проявів недостатності токоферолу залежать від неспроможності цього вітаміну інгібувати аутоокиснення ненасичених жирних кислот, що входять до складу клітинних і субклітинних мембран (гемолітична анемія у недоношених дітей; атрофія сім'яників і безпліддя; розсмоктування плода на ранніх стадіях вагітності; м'язова дистрофія, що супроводжується втратою внутрішньоклітинних азотистих компонентів і білків м'язів. Безпосередня причина м'язової дистрофії – вивільнення лізосомальних гідролаз внаслідок дефекту мембран лізосом).

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Виявлення вітаміну Е реакцією з феруму хлоридом. Поясніть принцип методу.
2. У пацієнтки спостерігається порушення перебігу вагітності, існує загроза викидня. Дефіцит яких вітамінів може спостерігатися за такого стану?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Застосування сучасних БАДів у профілактиці захворювань.

Література

Основна:

1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн. 1. Біоорганічна хімія (ВНЗ IV р. а.) / за ред. Б.С. Зіменковського, І.В. Ніженковської. Вид.: ВСВ "Медицина", 2016. – 272 с.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда та ін.]. – К. : ВСВ «Медицина», 2016. – С. 65 – 77, 370 - 379
3. Скляр О. Я. Біологічна хімія / Скляр О. Я., Фартушок Н. В., Бондарчук Т. І. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 34 – 42, 419 – 440.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Губський Ю. І. – Київ - Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – С. 399 – 411.
5. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі. Навчальний посібник / [Т. І. Бондарчук, Н. М. Гринчишин, Д. О. Климишин та ін.] ; за ред. О. Я. Склярова.– Львів: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 244 – 263.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / [Д. П. Бойків, О. Л. Іванків, Л. І. Кобилінська та ін.] ; за ред. Склярова О. Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 106, 317 - 346.
2. Біохімічні показники в нормі і при патології / [Д. П. Бойків, Т. І. Бондарчук, О. Л. Іванків та ін.]. – Київ: Медицина, 2007. – 320 с.

3. Ангельські С. Клінічна біохімія / С. Ангельські, З. Якубовські, М. Г. Домінічак. – Сопот, 1998. – 451 с.
4. Практикум з біологічної хімії / [Д. П. Бойків, О. Л. Іванків, Л. І. Кобилінська та ін.] ; за ред. Склярова О. Я. – К. : Здоров'я, 2002. – 297 с.

Наукова фахова:

1. Dimova R. Vitamin D in the Spectrum of Prediabetes and Cardiovascular Autonomic Dysfunction / Dimova R, Tankova T, Chakarova N. // J. Nutr. – 2017. – №147 (9). – P. 1607 – 1615.
2. The interrelationship between bile acid and vitamin A homeostasis / Saeed A, Hoekstra M, Hoeke M.O та ін.]. // Biochim Biophys Acta. – 2017. – №1862 (5). – P. 496 – 512.
3. Transporters for the Intestinal Absorption of Cholesterol, Vitamin E, and Vitamin K / Yamanashi Y, Takada T, Kurauchi R та ін.]. // J. Atheroscler. Thromb. – 2017. – №24 (4). – P. 347 – 359.
4. Complexity of vitamin E metabolism / Schmölz L, Birringer M, Lorkowski S, Wallert M. // World J. Biol. Chem. – 2016. – №7 (1). – P. 14 – 43.
5. Rhodes J.M. Perspective: Vitamin D deficiency and COVID - 19 severity - plausibly linked by latitude, ethnicity, impacts on cytokines, ACE 2 and thrombosis/ Rhodes J.M., Subramanian S., Laird E., Griffin G., Kenny R.A.].// J. of Internal Med. – 2021. – №289. – P. 97 – 115.
6. Rawat D. Vitamin D supplementation and COVID - 19 treatment: Asystematic review and meta - analysis /Rawat D., Roy A., Maitra S., Shankar V., Khanna P., Baidya D.K.// Diab. & Metabolic syndr.: Clinic Res. & Reviews – 2021. – №15. – P. 1021 – 1089.

Розділ 2.

Загальні уявлення про обмін речовин та енергії

Тема №. 7. Загальні закономірності обміну речовин та енергії.

Функціонування циклу трикарбонових кислот

Мета заняття. Засвоїти послідовність реакцій та біологічне значення циклу трикарбонових кислот як універсального кінцевого шляху окиснювального катаболізму клітини. Оволодіти методами дослідження функціонування ЦТК мітохондрій та впливу маленової кислоти на перебіг його реакцій.

Мотивація теми. Вивчення особливостей функціонування циклу трикарбонових кислот є важливим для розуміння його амфіболічної природи та визначення його ролі у енергозабезпеченні клітини. Вміння аналізувати роль ЦТК необхідні для розуміння обміну речовин та енергії у клітині.

Конкретні завдання:

- *Трактувати біохімічні закономірності перебігу обміну речовин: катаболічні, анаболічні, амфіболічні шляхи метаболізму;*

- Пояснювати біохімічні механізми регуляції процесів анаболізму та катаболізму;
- Трактувати біохімічні закономірності функціонування циклу трикарбонових кислот, його анаплеротичні реакції та амфіболічну сутність;
- Пояснювати біохімічні механізми регуляції циклу трикарбонових кислот та його ключову роль в обміні речовин та енергії.
- Обґрунтувати застосування деяких метаболітів ЦТК та гідролізатів білків як фармпрепаратів, які покращують енергетичний обмін в організмі.

Теоретичні питання

1. Поняття про обмін речовин та енергії. Характеристика катаболічних, анаболічних та амфіболічних шляхів метаболізму, їх значення.
2. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції; роль АТФ та інших макроергічних фосфатів у їх спряженні.
3. Методи вивчення обміну речовин.
4. Етапи катаболізму біомолекул: білків, вуглеводів, ліпідів; їх характеристика.
5. Цикл трикарбонових кислот (внутрішньоклітинна локалізація ферментів ЦТК; послідовність реакцій ЦТК; характеристика ферментів та коферментів ЦТК; реакції субстратного фосфорилування в ЦТК; вплив алостеричних модуляторів на регуляцію ЦТК; енергетичний баланс циклу трикарбонових кислот).
6. Анаплеротичні та амфіболічні реакції ЦТК.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Поняття про обмін речовин та енергії. Характеристика катаболічних, анаболічних та амфіболічних шляхів метаболізму, їх значення.

- Дати визначення ключовим термінам:

Обмін речовин (метаболізм) - це ...

Катаболізм – це...

Анаболізм – це ...

Метаболічні шляхи – це...

- У таблиці подати порівняльну характеристику катаболізму та анаболізму:

	Катаболізм		Анаболізм
1			
2			
3			
4			

2. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції; роль АТФ та інших макроергічних фосфатів у їх спряженні.

- Дати визначення ключовим термінам:

Екзергонічні біохімічні реакції – це такі реакції, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, необхідної для функціонування живих організмів.

Ендергонічні біохімічні реакції – це ...

Спряження екзергонічних та ендергонічних процесів здійснюється ...

- Вказати три основні принципові відмінності, які відрізняють перетворення і використання енергії у живій та неживій природі.
- Написати структурні формули основних макроергічних сполук – фосфоенолпірувату, АТФ, 1,3-дифосфогліцерату, креатинфосфату та дати їх характеристику.

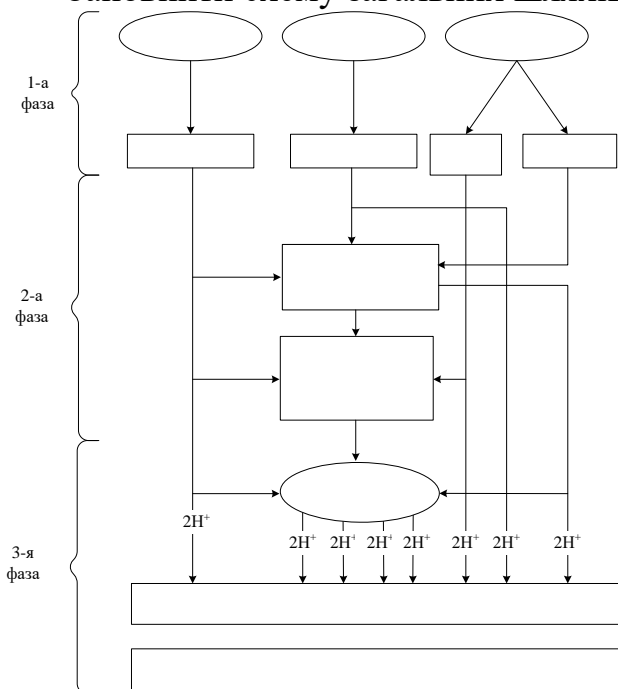
3. Методи вивчення обміну речовин.

- Представити таблицю субклітинних структур, що виділяються за умов фракціонування тканинних гомогенатів методом диференційного центрифугування:

Фактор седиментації	Фракція	Склад фракції
600 g		
10 000 g		
12 -16 000 g		
100 000 g		
супернатант		

4. Етапи катаболізму біомолекул: білків, вуглеводів, ліпідів; їх характеристика.

- Заповнити схему загальних шляхів катаболізму біомолекул:



- Дати характеристику основним стадіям катаболізму.

5. Цикл трикарбонових кислот (внутрішньоклітинна локалізація ферментів ЦТК; послідовність реакцій ЦТК; характеристика ферментів

та коферментів ЦТК; реакції субстратного фосфорилування в ЦТК; вплив алостеричних модуляторів на регуляцію ЦТК; енергетичний баланс циклу трикарбонових кислот).

- Дати визначення ЦТК; вказати на локалізацію цього процесу.
- Написати послідовність реакцій ЦТК із зазначенням назв метаболітів і ферментів (коферментів), модуляторів.
- Вказати реакції субстратного фосфорилування в ЦТК; розрахувати енергетичний баланс ЦТК.
- Вказати значення основних функцій ЦТК: *інтегративної* (метаболічний «колектор», який об'єднує шляхи катаболізму вуглеводів, ліпідів і білків), енергетичної, амфіболічної та гідрогенгенерувальної.

6. Анаплеротичні та амфіболічні реакції ЦТК.

- Дати визначення анаплеротичних та амфіболічних реакцій та навести приклади.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У хворого, що страждає на цукровий діабет, розвинувся кетоацидоз. Біохімічною причиною такого стану є зменшення утилізації ацетил-КоА клітинами внаслідок гальмування:

- A. Циклу трикарбонових кислот
- B. Гліколізу
- C. Пентозофосфатного шляху
- D. Бета-окиснення жирних кислот
- E. Орнітинового циклу

2. До лікарні потрапили люди, що постраждали від землетрусу й упродовж 10 днів перебували без їжі. Дослідження ферментів ЦТК показали різке зниження швидкості цього процесу. Які наслідки це матиме для організму:

- A. Зниження рівня АТФ
- B. Обезводнення
- C. Утворення великої кількості ендогенної води
- D. Посилення біосинтезу білка
- E. Посилення ліпогенезу

3. Ферменти циклу трикарбонових кислот здійснюють окиснення ацетил-КоА, що супроводжується відновленням 3 молекул НАД⁺ та однієї молекули ФАД. Де вони локалізуються?

- A. На плазматичній мембрані
- B. У цитоплазмі
- C. На зовнішній мембрані мітохондрій
- D. У матриксі мітохондрій
- E. На внутрішній мембрані мітохондрій

4. Субстратне фосфорилування – це процес безпосередньої передачі молекули активного фосфату з субстратів, які містять макроергічний зв'язок, на АДФ з утворенням АТФ. Вкажіть, який фермент циклу лимонної кислоти бере участь у реакції субстратного фосфорилування?

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Фумараза
- D. Сукцинілтіокіназа
- E. α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс

5. Цикл трикарбонних кислот – це загальний кінцевий шлях окиснювального катаболізму клітини в аеробних умовах. За виконання яких біологічних функцій відповідає цей метаболічний шлях?

- A. Утворення високоенергетичного водню у вигляді чотирьох відновлених кофакторів
- B. Підтримання в клітині фізіологічної концентрації пірувату
- C. Утворення субстратів для глюконеогенезу
- D. Утворення ендогенної води
- E. Синтез біологічно активних речовин

Ситуаційні задачі

1. Пацієнт А. поступив у стаціонар ендокринологічного відділення зі скаргами на спрагу, підвищений діурез, втрату маси тіла. Після проведення клінічних досліджень встановлено: цукор крові - 16,5 ммоль/л, кетонів тіла - 85 мкмоль/л, глюкозурія. Підтверджено діагноз - цукровий діабет I типу. Серед інших метаболічних змін має місце також зниження швидкості синтезу оксалоацетату. Який метаболічний процес порушується в результаті цього? Які енергетичні втрати будуть спостерігатися при порушенні цього метаболічного процесу. Вказати, які метаболічні шляхи можуть активуватись для компенсації втрати енергії.
2. До лікарні швидкої медичної допомоги доставлені люди, що постраждали від землетрусу й упродовж десяти днів перебували без їжі. Проведено клінічні обстеження, за яких виявлено помітну атрофію м'язів, гіпостатичні набряки, асцит, гіпотермію. При проведенні дослідження ферментів циклу трикарбонних кислот виявлено різке зниження швидкості цього процесу. Пояснити, які наслідки це матиме для організму.

Практична робота

Дослід 1. Дослідження функціонування ЦТК мітохондрій за швидкістю утворення CO_2 та вплив малонової кислоти на цей процес.

Принцип методу. Перетворення ацетил-S-КоА в присутності мітохондрій, що містять ферменти ЦТК, супроводжується виділенням CO_2 . В якості джерела ацетил-S-КоА, що вступає в ЦТК, використовують піровиноградну кислоту (ПВК), яка під дією мультиферментного

піруватдегідрогеназного комплексу мітохондрій піддається окисному декарбоксилуванню з утворенням ацетил-S-КоА. Якщо блокувати ЦТК малонатом (малоною кислотою), то CO_2 не утворюється і бульбашки газу не виділяються. Малонат є класичним конкурентним інгібітором сукцинатдегідрогенази – ферменту ЦТК, оскільки зв'язується з її активним центром та перешкоджає приєднанню субстрату – сукцинату (бурштинової кислоти).

Для зв'язування утвореного CO_2 в інкубаційне середовище додають $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Після закінчення інкубації зв'язаний CO_2 виявляють за виділенням бульбашок газу, що утворюються після додавання до інкубаційного середовища сульфатної кислоти.

Матеріальне забезпечення: фосфатний буфер $\text{pH} = 7,4$, розчин пірувату натрію, малонова кислота, фізіологічний розчин, розчин $\text{Ca}(\text{OH})_2$, суспензія мітохондрій, 0,1 М розчин H_2SO_4 , термостат, штатив із пробірками, піпетки.

Хід роботи. Три пробірки – контрольну, дослідну № 1 та дослідну № 2 заповнюють реактивами за таблицею:

Вміст пробірок	Пробірки		
	Контроль	Дослід №1	Дослід №2
Фосфатний буфер, $\text{pH} = 7,4$, мл	2,0	2,0	2,0
Розчин пірувату натрію, мл	0,5	0,5	0,5
Малонова кислота, мл	-	-	0,5
Фізіологічний розчин, мл	0,5	0,5	-
Розчин $\text{Ca}(\text{OH})_2$, мл	0,5	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій, мл	-	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій після кип'ятіння	0,5 мл	-	-
Інкубація в термостаті: 15 хв при температурі 37°C			
0,1 М розчин H_2SO_4 , мл	1,0	1,0	1,0
Результати: виділення бульбашок CO_2			

Всі пробірки поміщають у термостат на 15 хв при 37°C . Після інкубації в кожену пробірку додають по 1,0 мл 0,1 М розчину H_2SO_4 і спостерігають за вивільненням бульбашок CO_2 . За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Дослід 2. Дослідження функціонування ЦТК мітохондрій за швидкістю утворення атомів водню та вплив малонової кислоти на цей процес.

Принцип методу. При окисненні ацетил-S-КоА в ЦТК вивільняється водень, який відновлює метиленову синьку та перетворює її на безбарвну лейкосполуку. Час, впродовж якого відбувається знебарвлення розчину, є показником інтенсивності перебігу ЦТК у мітохондріях. При блокуванні ЦТК малонатом вивільнення водню не відбувається і метиленова синька не знебарвлюється.

Матеріальне забезпечення: фосфатний буфер рН = 7,4, розчин пірувату натрію, малонова кислота, фізіологічний розчин, розчин метиленової синьки, суспензія мітохондрій, термостат, штатив із пробірками, піпетки.

Хід роботи. Три пробірки – контрольну, дослідну № 1 та дослідну № 2 заповнюють реактивами за таблицею:

Вміст пробірок	Пробірки		
	Контроль	Дослід №1	Дослід №2
Фосфатний буфер, рН = 7,4, мл	2,0	2,0	2,0
Розчин пірувату натрію, мл	0,5	0,5	0,5
Малонова кислота, мл	-	-	0,5
Фізіологічний розчин, мл	0,5	0,5	-
Суспензія мітохондрій, мл	-	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій після кип'ятіння	0,5 мл	-	-
Розчин метиленової синьки, мл	0,5	0,5	0,5
Інкубація в термостаті при температурі 37°C			
Час знебарвлення розчину, хв			

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації та клініки. Багато речовин, у тому числі і фармацевтичні засоби, можуть змінювати енергетику клітин, інтенсивність окиснювального фосфорилування – утворення АТФ. Їх можна поділити на активатори та інгібітори енергетичного обміну. До активаторів належать метаболіти ЦТК (цитратна, яблучна, бурштинова), препарати гідролізатів білків (амінокровін, амікіни) та низка інших сполук (глюкоза, амінокислоти тощо), тому вони знайшли застосування у якості фармацевтичних засобів як такі, що покращують енергетичний обмін у тканинах організму.

Цитратну кислоту у вигляді солі (цитрат натрію) використовують в якості препарату, який запобігає згортанню крові.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. В інкубаційне середовище, де були сукцинатдегідрогеназа і бурштинова кислота, додали малонову кислоту. Як зміниться активність ферменту? Яким чином можна позбутись негативного впливу малонової кислоти? Намалуйте графік залежності активності сукцинатдегідрогенази від концентрації субстрату без малонової кислоти та за її присутності.
2. Які речовини (активатори та інгібітори) можна застосовувати для дослідження функціонування циклу трикарбонових кислот?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Внутрішньоклітинна локалізація метаболічних шляхів, компартментизація метаболічних процесів у клітині.
2. Найважливіші метаболіти шляхів обміну білків, вуглеводів, ліпідів (піруват, ацетил-S-КоА); їх роль в інтеграції метаболізму клітини.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 228-244, 323-327.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія /Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 77-81, 84-93.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 79-95.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін.. Біологічна хімія: підруч.– Харків: Основа, 2000.- С. 173-180, 257-265.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С 244-248.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – С. 148-156, 175-181.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – С. 53-56.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 55-73.
9. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 14-21, 216-221.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярова – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
2. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія: навч. помібник / Склярів О. Я., Сольські Я., Великий М. М. та ін. Львів: Кварт. 2008. С. 31 – 32.
3. Девід Л. Нельсон, Майкл М. Кокс. Основи біохімії за Ленінджером. Львів: БаК, 2015. – С. 506 – 510, 622 – 653.
4. Клінічна біохімія: підручник / за ред. О. Я. Склярова. Київ: Медицина, 2006. С. 13 – 15.
5. 6. Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics / Swanson T. A., Kim S. I., Glucksman M. J., Lieberman M. A. 5-th edition. Chicago; Baitimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. 380 p.
6. Harper's Biochemistry / Murray R., Bender D., Botham K. M. et al. 29th edition. London; Toronto: McGraw Hill Professional, 2012. 818 p.
7. Nelson D. L., Cox M. M. Lehninger Principles of Biochemistry. 5-th edition. New York: W. H. Freeman Comp., 2005. 1010 p.
8. Satyanarayana U., Chakrapani U. Biochemistry. 4d ed. Kolkata: Books and Allied ltd, 2014. 799 p.

Наукова фахова:

1. Кучерявченко М.А., Зайцева О.В., Жуков В.И., Книгавко В. Г. Состояние биоэнергетического обмена в организме белых крыс в условиях длительного воздействия субтоксических доз лапроксидов/ Проблемы экологии та медицини. - 2014. – Т.18, № 1-2. – С.44 – 46.
2. Schroeder M.A., Atherton H.J., Ball D.R. Real-time assessment of Krebs cycle metabolism using hyperpolarized ^{13}C magnetic resonance spectroscopy/ FASEB J. – 2009. - Vol. 23(8). – P. 2529–2538.
3. Meitinger T. Mutations in MDH2, Encoding a Krebs Cycle Enzyme, Cause Early-Onset Severe Encephalopathy/Am J Hum Genet. – 2017. – Vol.5, №100(1). – P. 151-159.
4. Comim C.M., Hoepers A., Ventura L. Activity of Krebs cycle enzymes in mdx mice/ Muscle Nerve. – 2016. – Vol.53(1). – P. 91-95.
5. Ryan D.G., O'Neill L.A.J. Krebs Cycle Reborn in Macrophage Immunometabolism //Annu. Rev. Immunol. – 2020. – №26(38). – P.289 – 313.

Тема № 8. Молекулярні основи біоенергетики. Ферменти біологічного окиснення; молекулярна організація ланцюга біологічного окиснення. Окисне фосфорилювання, його регуляція. Інгібітори та роз'єднувачі дихання і окисного фосфорилювання дихального ланцюга мітохондрій

Мета заняття. Засвоїти основні принципи організації дихального ланцюга мітохондрій. Знати роль окисно-відновних ферментів у тканинному диханні. Засвоїти основні принципи хеміосмотичної теорії Мітчела. Дослідити вплив інгібіторів транспорту електронів на прикладі пероксидази. Оволодіти методом дослідження дії фенолоксидази.

Мотивація теми. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилювання пояснює молекулярні механізми генерації АТФ в ході біологічного окиснення. Окисно-відновні ферменти забезпечують перебіг реакцій, пов'язаних з перенесенням електронів та протонів і лежать в основі утворення макроергічних сполук. Дослідження їх функціонування важливе для глибокого розуміння механізмів тканинного дихання і його ролі при різних функціональних станах організму, а також з метою його корекції фармацевтичними препаратами.

Конкретні завдання:

- Пояснювати процеси біологічного окиснення субстратів у клітинах і запасання енергії, що вивільняється, у вигляді макроергічних зв'язків АТФ.
- Аналізувати реакції біологічного окиснення та їх роль в забезпеченні фундаментальних біохімічних процесів.
- Аналізувати структурно-функціональні особливості функціонування дихального ланцюга, що забезпечують ефективний синтез АТФ.
- Пояснювати структурну організацію ланцюга транспорту електронів та його молекулярних комплексів.
- Пояснювати механізми спряження біологічного окиснення та окисного фосфорилювання – синтезу АТФ;

- Пояснювати основні засади хеміосмотичної теорії окисного фосфорилування;
- Аналізувати дію інгібіторів і роз'єднувачів окисного фосфорилування природного та синтетичного походження, їх фізіологічне значення.
- Пояснювати використання фармацевтичних препаратів – інгібіторів тканинного дихання та роз'єднувачів окисного фосфорилування.

Теоретичні питання

1. Реакції біологічного окислення; типи реакцій (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні) та їх біологічне значення. Тканинне дихання.
2. Піридинзалежні дегідрогенази. Будова НАД⁺ і НАДФ⁺. Їх значення у реакціях окиснення та відновлення.
3. Флавінзалежні дегідрогенази. Будова ФАД і ФМН. Їх роль у реакціях окиснення та відновлення.
4. Убіхінон, будова та його роль у реакціях окиснення та відновлення.
5. Цитохроми та їх роль у тканинному диханні. Будова їх простетичної групи.
6. Послідовність компонентів дихального ланцюга мітохондрій. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій.
7. Окисне фосфорилування: пункти спряження транспорту електронів і фосфорилування, коефіцієнт окисного фосфорилування.
8. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування, АТФ-синтетаза мітохондрій.
9. Інгібітори транспорту електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій.
10. Роз'єднувачі транспорту електронів та окисного фосфорилування в дихальному ланцюгу мітохондрій. Вільне окиснення. Фармацевтичні препарати.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Реакції біологічного окислення; типи реакцій (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні) та їх біологічне значення. Тканинне дихання.**
 - Дати визначення :
 - Біологічне окиснення - це...*
 - Окиснення – це...*
 - Відновлення – це...*
 - Відновлювальний еквівалент – це ...*
 - Представити реакції біологічного окиснення із зазначенням назв реакцій і ферментів
 - 1) Три класи реакцій біологічного окислення (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні);
 - 2) вказати механізм їх дії, привести приклади.
 - Зазначити принципові особливості біологічного окиснення та його функції.

2. Піридинзалежні дегідрогенази. Будова НАД⁺ і НАДФ⁺. Їх значення у реакціях окиснення та відновлення.

- Написати структурні формули НАД⁺ і НАДФ⁺, вказати окиснену і відновлену форми активних структур та пояснити механізм перенесення відновлювальних еквівалентів.
- Вказати на зв'язок між білковою (апоферментом) та небілковою частиною у складі дегідрогеназ та навести приклади метаболічних процесів, в яких вони беруть участь.

3. Флавінзалежні дегідрогенази. Будова ФАД і ФМН. Їх роль у реакціях окиснення та відновлення.

- Написати структурні формули ФАД і ФМН, вказати окиснену і відновлену форми активних структур та пояснити механізм перенесення відновлювальних еквівалентів.
- Вказати на зв'язок між білковою (апоферментом) та небілковою частиною у складі дегідрогеназ та навести приклади метаболічних процесів, в яких вони беруть участь.

4. Убіхінон, будова та його роль у реакціях окиснення та відновлення.

- Написати структурну формулу убіхінону (коензиму Q), вказати окиснену і відновлену форми активної структури та пояснити механізм перенесення відновлювальних еквівалентів.
- Вказати на зв'язок між білковою (апоферментом) та небілковою частиною у складі убіхінону та навести приклади метаболічних процесів, в яких бере участь цей хінон.
- Вказати застосування фармпрепарату убіхінону для корекції енергетичного обміну та відновлення заблокованих ферментних систем.

5. Цитохроми та їх роль у тканинному диханні. Будова їх простетичної групи.

- Написати структурну формулу простетичної групи цитохромів, вказати окиснену і відновлену форми активної структури та пояснити механізм перенесення електронів
- Вказати на зв'язок між білковою (апоферментом) та небілковою частиною у складі цитохромів, вказати класи (групи) цитохромів та охарактеризувати їх особливості.
- Пояснити використання фармацевтичних препаратів цитохрому с для покращення тканинного дихання при патологічних станах.

6. Послідовність компонентів дихального ланцюга мітохондрій. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій.

- Дати визначення
Дихальний ланцюг - це...

- Представити схему організації компонентів дихального ланцюга мітохондрій
- Описати будову чотирьох комплексів дихального ланцюга внутрішніх мембран мітохондрій та вказати їх функції.

7. Окисне фосфорилування: пункти спряження транспорту електронів і фосфорилування, коефіцієнт окисного фосфорилування.

- Дати визначення:
Субстратне фосфорилування - це...
Окисне фосфорилування – це..
Спряження дихання та окисного фосфорилування – це ...
- Представити схему локалізації трьох пунктів спряження транспорту електронів та фосфорилування
- Дати визначення коефіцієнта окисного фосфорилування та вказати його значення при окисненні різних субстратів у мітохондріях.

8. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування, АТФ-синтаза мітохондрій.

- Назвати основний постулат хеміосмотичної теорії окисного фосфорилування.
- Вказати найважливіші засади хеміосмотичної теорії П.Мітчела.
- Представити схему локалізації трьох пунктів спряження транспорту електронів та фосфорилування.
- Описати будову та принцип дії АТФ-синтази.

9. Інгібітори транспорту електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій.

- Представити схему дихального ланцюга мітохондрій зі зазначенням пунктів дії:
 а) інгібіторів транспорту електронів (вказати основні сполуки).
 б) інгібіторів окисного фосфорилування (вказати основні сполуки).

10. Роз'єднувачі транспорту електронів та окисного фосфорилування в дихальному ланцюгу мітохондрій. Вільне окиснення. Фармацевтичні препарати.

- Представити схему дихального ланцюга мітохондрій зі зазначенням пунктів дії роз'єднувачів транспорту електронів та окисного фосфорилування (вказати основні сполуки).
- Пояснити застосування фармацевтичних препаратів – інгібіторів тканинного дихання та роз'єднувачів окисного фосфорилування.
Вільне окиснення – це...

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Ферменти дихального ланцюга здійснюють окиснення біологічних субстратів та транспортування відновлюваних еквівалентів на кисень з утворенням молекули води. Де вони локалізуються?

- A. На плазматичній мембрані
- B. У цитоплазмі
- C. У матриксі мітохондрій
- D. На зовнішній мембрані мітохондрій
- E. На внутрішній мембрані мітохондрій

2. Послідовність передавання електронів від одного компонента дихального ланцюга мітохондрій до іншого визначається їх стандартними редокс-потенціалами. У якого з компонентів дихального ланцюга мітохондрій величина редокс-потенціалу є найменшою?

- A. НАДН±Н⁺
- B. ФАДН₂
- C. Цитохрому b
- D. Цитохрому c₁
- E. Цитохрому

3. Спряження тканинного дихання з окисним фосфорилуванням відбувається за наявності електрохімічного градієнту іонів Н⁺ між матриксом та міжмембранним простором. Яка з перерахованих речовин може роз'єднувати процеси дихання та фосфорилування?

- A. Динітрофенол
- B. Ціаніди
- C. Глюкоза
- D. Соматотропін
- E. Ротенон

4. Синильна кислота та ціаніди належать до найсильніших отрут. Залежно від дози смерть настає через декілька секунд чи хвилин. Пригнічення активності якого ферменту є причиною смерті?

- A. АТФ-синтази
- B. Ацетилхолінестерази
- C. Каталази
- D. Метгемоглобінредуктази
- E. Цитохромоксидази

Ситуаційні задачі

1. Пацієнту, який надійшов у кардіологічне відділення з діагнозом - ішемічна хвороба серця, в складі комплексної терапії призначено лікарський препарат убіхінон - антиоксидант, який проявляє антигіпоксичну дію, сприяє підвищенню толерантності до фізичних навантажень, відновленню працездатності і підтримки енергетичного стану. Поясніть механізми, на підставі яких базується використання цього препарату .

2. Амітал – фармацевтичний препарат, який застосовують у фармакології як снодійний засіб. Охарактеризуйте механізм його дії на процеси тканинного дихання.

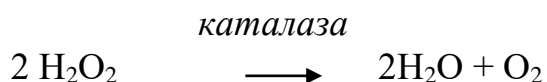
3. Деякі фармацевтичні засоби, які використовують для схуднення, за своєю дією є роз'єднувачами біологічного окиснення і фосфорилування. Обґрунтуйте їх терапевтичну дію.

4. У новонароджених, на відміну від дорослих, міститься деяка кількість бурого жиру. Поясніть таку особливість будови організмів різного віку, якщо відомо, що бурий жир містить велику кількість мітохондрій, а вихід АТФ у ньому в перерахунку на атом поглинутого кисню становить менше одиниці.

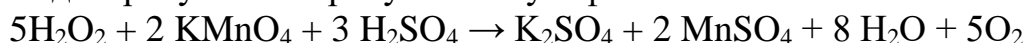
Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення активності каталази в крові.

Принцип методу. Каталаза – фермент класу оксидоредуктаз, що каталізує розщеплення гідрогену пероксиду на воду і кисень:

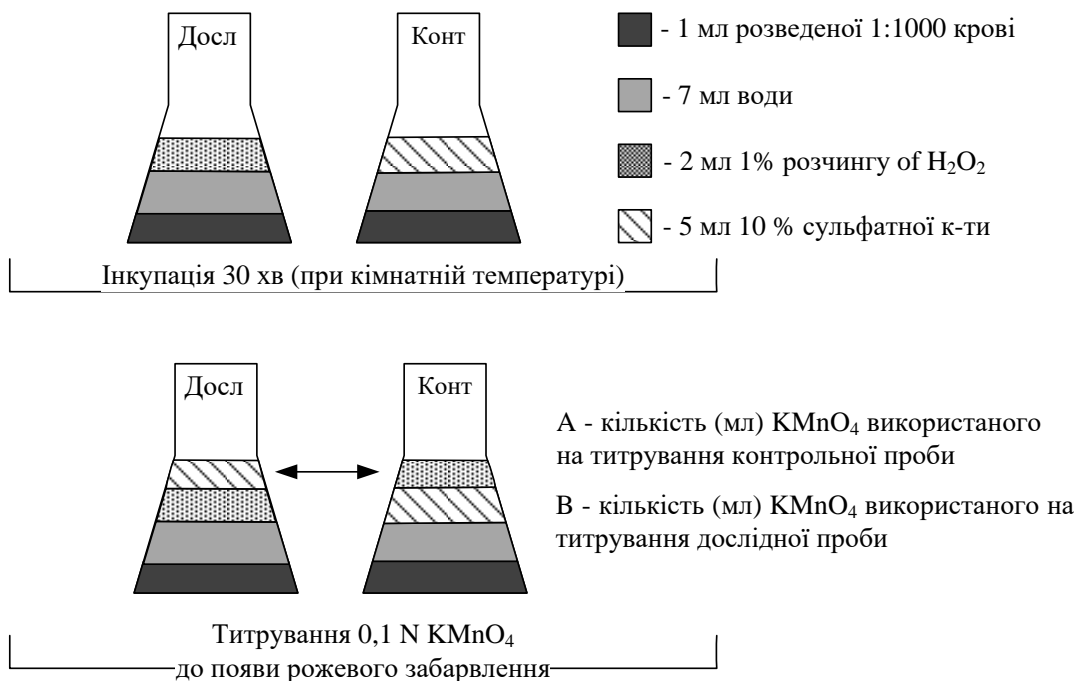


Метод кількісного визначення активності каталази базується на визначенні кількості гідрогену пероксиду, перетвореного ферментом за певний проміжок часу. Гідроген пероксиду розкладається каталазою, а його надлишок відтитрують за присутності сульфатної кислоти:



Матеріальне забезпечення: розведена кров (1:1000), дистильована вода, 1%-ний розчин H_2O_2 , 10 % розчин сульфатної кислоти, 0,1 н розчин KMnO_4 , колбочки, піпетки, бюретка.

Хід роботи. Розведену кров (1:1000) наливають по 1 мл у дві колбочки, додають по 7 мл дистильованої воли, в дослідну пробу додають 2 мл 1 % H_2O_2 , а в контрольну – 5 мл 10 % розчину сульфатної кислоти. Дія каталази в кислому середовищі припиняється (у контрольній пробі), оскільки її рН оптимум – 7,4. Колбочки залишають на 30 хв. при кімнатній температурі. Потім до дослідної проби додають 5 мл 10 % розчину H_2SO_4 , а до контрольної – 2 мл 1 % р-ну H_2O_2 . Вміст колбочок титрують 0,1н р-ном KMnO_4 до появи стійкого рожевого забарвлення.



Каталазне число (Кч) розраховують за формулою:

$$Кч = (A - B) \times 1,7$$

А – кількість мл 0,1 н р-ну КМnО₄, яка пішла на титрування контрольної проби;

В – кількість в мл 0,1 н р-ну КМnО₄, яка пішла на титрування дослідної проби.

У нормі каталазне число становить 10-15 одиниць.

Каталазне число – це кількість гідрогену пероксиду (мг), що розкладається в 1 мкл досліджуваної крові.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. У нормі інтенсивність процесів ПОЛ регулюється системою антиоксидантного захисту. Найважливішими компонентами антирадикального і антипероксидного захисту є ензими, які каталізують реакції між активованими формами кисню, здійснюють розпад гідропероксидів. Серед цих ензимів важливе місце займає каталаза, біологічна роль якої полягає у захисті організму від шкідливого впливу гідрогену пероксиду, що утворюється при внутрішньоклітинному окисненні різних сполук.

Антиоксидантні реакції у механізмі захисних процесів організму є провідними і найбільш потужними, оскільки вони не тільки запобігають розвитку вільнорадикальних реакцій, але й забезпечують ефективність елімінації кінцевих метаболітів пероксидного окиснення із залученням їх до енергетичного обміну, тим самим підтримуючи високу активність синтетичних процесів, у тому числі ензимів супероксиддисмутази (СОД), каталази та глутатіонпероксидази (ГПО), які відповідно формують другий і третій ступені захисту. Крім запобігання нагромадженню пероксидів, такий антиоксидантний захист стабільно підтримує високу активність окисно-

відновних процесів внаслідок утворення кисню при перетворенні супероксиду в пероксид за участю СОД і гідролізу його каталазою та глутатіонпероксидазою.

В нормі активність каталази в крові людини 25,5-52,2 мкат/л, а каталазне число становить в крові 10-15 одиниць. Однак визначення каталазного числа без одночасного визначення кількості еритроцитів є недоцільним, оскільки кількість фермента є залежною від кількості еритроцитів. Тому в клініці використовують не каталазні числа, а показник каталази, в якому чисельником є каталазне число, а знаменником – кількість еритроцитів в 1 мл крові. Цей показник становить у нормі $2-3 \cdot 10^{-6}$.

Підвищення активності каталази спостерігається при хронічній серцевій недостатності, перціозній анемії та інших макроцитарних анеміях, при введенні в організм кофеїну, алкоголю, ацетонових тіл. Зниження активності цього ензиму спостерігається при злоякісних пухлинах, інфекційних захворюваннях, таких як черевний тиф, скарлатина, малярія, туберкульоз легень.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Який інгібітор використовують для дослідження дії фенолоксидази?
 - A. Малонат
 - B. FeCl_3
 - C. Йодацетамід
 - D. Na_2S
 - E. CuSO_4
2. За яких умов відбувається забарвлення пірокатехіну при окисненні його молекулярним киснем у присутності фенолоксидази:
 - A. За наявності Na_2S
 - B. Після кип'ятіння картопляного соку
 - C. За відсутності пірокатехіну
 - D. У присутності картопляного соку та пірокатехіну
 - E. За відсутності пірокатехіну
3. Який тип ферментів каталізує реакції дегідрування, в яких як акцептор використовується кисень ($\text{SR}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{S} + \text{H}_2\text{O}_2$):
 - A. Аеробні дегідрогенази (оксидази)
 - B. Анаеробні дегідрогенази
 - C. Цитохроми
 - D. Монооксигенази
 - E. Діоксигенази

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Порушення синтезу АТФ в умовах дії на організм людини патогенних факторів хімічного, біологічного та фізичного походження.
2. Активні форми кисню (пероксид гідрогену, супероксидний аніон-радикал,

гідроксильний радикал, синглетний кисень); механізм їх утворення та інактивації.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 245 - 270, 280 - 284.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія /Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 95 - 104.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Скляров, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 96 - 105.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін.. Біологічна хімія: підруч.– Харків: Основа, 2000.- С. 181 - 211.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 256 - 271.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – с. 157 - 167.
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 55 - 74.
8. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 21 - 34.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярова – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
2. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
3. Девід Л. Нельсон, Майкл М. Кокс. Основи біохімії за Ленінджером. Львів: БаК, 2015. С. 512 – 523, 718 – 751.
4. Клінічна біохімія: підручник / за ред. О. Я. Склярова. Київ: Медицина, 2006. 432 с.
5. Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics / Swanson T. A., Kim S. I., Glucksman M. J., Lieberman M. A. 5-th edition. Chicago; Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. 380 p.
6. Harper's Biochemistry / Murray R., Bender D., Botham K. M. et al. 29th edition. London; Toronto: McGraw Hill Professional, 2012. 818 p.
7. Nelson D. L., Cox M. M. Lehninger Principles of Biochemistry. 5-th edition. New York: W. H. Freeman Comp., 2005. 1010 p.
8. Satyanarayana U., Chakrapani U. Biochemistry. 4d ed. Kolkata: Books and Allied ltd, 2014. 799 p.

Наукова фахова:

1. Семенихіна О.М., Струтинська Н.А., Будько А.Ю., та ін. Вплив донора сірководню NaHS на функціональний стан дихального ланцюга мітохондрій серця щурів/ Фізіол. журнал, 2013. – Т.59, № 2. – С. 9 -17.

2. Тарасова К. В., Французова С. Б. □ Вікові особливості енергетичного забезпечення міокарда: активаторів калієвих - АТФ –каналів/ Пробл. старения и долголетия". - 2013. - Т. 22, № 3. – С. 234—248.
3. Hansen S, Birkedal H, Wibrand F. Taurine and regulation of mitochondrial metabolism/ Adv. Exp. Med. Biol. - 2015. – Т. 883(1) . - P.397–405.
4. Guo H., Rubinstein J.L. Structure of ATP synthase under strain during catalysis// Nat. Commun . – 2022. – №13(1). – P.2849 - 2858.
5. Ulker P. Extracellular ATP activates eNOS and increases intracellular NO generation in Red Blood Cells/Ulker P., Özen N., Abdullayeva G., K ksoy S., Yaraş N., Basrali F.// Clin. Hemorheol Microcirc. – 2018. – № 68(1). – P.89 – 101.

Розділ 3.

Метаболізм вуглеводів та його регуляція

Тема № 9 Дослідження гліколізу - анаеробного окиснення вуглеводів

Мета заняття. Знати будову, класифікацію та фізико-хімічні властивості вуглеводів, їх характеристику. Засвоїти механізм травлення та всмоктування вуглеводів у шлунково-кишковому тракті. Засвоїти основні принципи внутрішньоклітинного анаеробного та аеробного окиснення глюкози та біохімічні шляхи їх регуляції. Знати роль ферментів та коферментів для перебігу реакцій гліколізу. Засвоїти особливості перебігу реакцій субстратного фосфорилування та синтезу АТФ. Оволодіти методом визначення вмісту молочної кислоти к крові.

Мотивація теми. Обмін вуглеводів – одна з найважливіших ланок всього обміну речовин як єдиного цілого. Це поняття охоплює весь складний процес перетворення вуглеводів від поступлення їх в організм, травлення та всмоктування до утворення кінцевих продуктів – CO₂ і H₂O. Перетворення вуглеводів у процесах обміну речовин відіграє важливу роль в енергозабезпеченні організму.

Конкретні завдання:

- Пояснювати біохімічні шляхи внутрішньоклітинного анаеробного окиснення глюкози.
- Аналізувати особливості перебігу реакцій субстратного фосфорилування та синтезу АТФ.
- Пояснювати роль коферментів та ферментів у проходженні реакцій гліколізу.
- Аналізувати механізми регуляції анаеробного та аеробного окиснення вуглеводів.
- Пояснювати функціонування човникових механізмів окиснення гліколітичного НАДН(H⁺).

Теоретичні питання

1. Класифікація, структура та біологічне значення окремих класів вуглеводів для організму людини.
2. Травлення та всмоктування вуглеводів в шлунково-кишковому тракті
3. Анаеробний та аеробний шляхи розпаду глюкози: стадії, біологічна роль, локалізація стадій у клітині, енергетичний баланс.
4. Човникові механізми переносу електронів від гліколітичного НАДН(H^+) з цитоплазми до мітохондрії.
5. Регуляція анаеробного та аеробного шляхів окиснення глюкози.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Класифікація, структура та біологічне значення окремих класів вуглеводів для організму людини.

- Представити класифікацію та структуру окремих класів вуглеводів.
- Вказати роль та біологічне значення для організму людини певних моно- та дисахаридів.

1. Травлення та всмоктування вуглеводів в шлунково-кишковому тракті.

- Представити послідовність травлення вуглеводів в усіх відділах ШКТ.
- Вказати специфічність ензимів травлення та оптимальні умови їх дії.
- Описати механізм всмоктування вуглеводів у травному тракті людини.

2. Анаеробний та аеробний шляхи розпаду глюкози: стадії, біологічна роль, локалізація стадій у клітині, енергетичний баланс.

- Вказати біологічну роль та написати реакції перетворення глюкози в аеробному та анаеробному гліколізі.
- Вказати та пояснити ферментативні реакції гліколізу, що проходять з використанням енергії.
- Вказати та пояснити ферментативні реакції субстратного фосфорилування.
- Вказати та пояснити ферментативні реакції гліколітичної оксидоредукції.
- Розрахувати енергетичний баланс анаеробного окиснення глюкози.

3. Човникові механізми переносу електронів від гліколітичного НАДН(H^+) з цитоплазми до мітохондрії.

- Пояснити механізм дії малат-аспартатного човникового механізму гліколітичного НАДН+ H^+ та вказати тканини в яких він працює.
- Пояснити механізм дії гліцеролфосфатного човникового механізму переносу гліколітичного НАДН+ H^+ в мітохондрії та вказати тканини в яких він працює.

4. Регуляція анаеробного та аеробного шляхів окиснення глюкози.

- Дати аналіз механізмів регуляції анаеробного окиснення глюкози (вказати суть ефекту Пастера).
- Пояснити особливості регуляції аеробного окиснення глюкози.

▪ Скористатися матеріалом <https://lifelib.info/biochemistry/bases/12.html>
https://pidruchniki.com/68252/meditsina/nootropni_likarski_zasobi

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Гліколіз – це анаеробний шлях розпаду глюкози, що відбувається за допомогою низки послідовних реакцій. Яку реакцію гліколізу каталізує ензим фосфофруктокіназа?

- A. Утворення глюкозо-6-фосфату
- B. Утворення диоксиацетонфосфату
- C. Утворення фруктозо-1-фосфату
- D. Утворення 1,3-дифосфогліцерату
- E. Утворення фруктозо-1,6-дифосфату

2. Вкажіть реакції гліколізу, що протікають із затратою енергії у вигляді АТФ:

- A. Альдолазна, фосфофруктокіназна
- B. Піруваткіназна, гексокіназна
- C. Гексокіназна, фосфофруктокіназна
- D. Фосфогліцераткіназна, гексокіназна
- E. Піруваткіназна, фосфогліцеромутазна

3. Еритроцит для своєї життєдіяльності потребує енергію у вигляді АТФ. Який процес забезпечує цю клітину необхідною кількістю АТФ?

- A. Анаеробний гліколіз
- B. Аеробне окиснення глюкози
- C. Пентозофосфатний цикл
- D. β -окиснення жирних кислот
- E. Цикл трикарбонових кислот

4. При вживанні печива, цукерок у змішаній слині тимчасово підвищується рівень лактату. Активація якого біохімічного призводить до цього?

- A. Анаеробного гліколізу
- B. Тканинного дихання
- C. Аеробного гліколізу
- D. Глюконеогенезу
- E. Мікросомного окиснення

5. У дріжджоподібних організмах відбувається процес близький до гліколізу – спиртове бродіння, в результаті якого через ряд послідовних стадій із пірувату утворюється:

- A. Лактат
- B. Етанол
- C. Ацетальдегід

- D. Гліцеральдегід
- E. Піруват

Ситуаційні задачі

1. У крові хворого виявлено 5150 мкмоль/л молочної та 250 мкмоль/л піровиноградної кислот. Чи відповідають ці показники нормі? У яких випадках підвищується їх вміст?
2. У спортсмена після змагань вміст молочної кислоти становить 4 ммоль/л. Чи можна вважати це патологією? Поясніть чому?
3. При захворюваннях печінки, дихальної системи, порушеннях кровообігу, анеміях, інших захворюваннях у крові нагромаджується молочна кислота. Що спільного між цими захворюваннями? Чому накопичується молочна кислота?

Практична робота

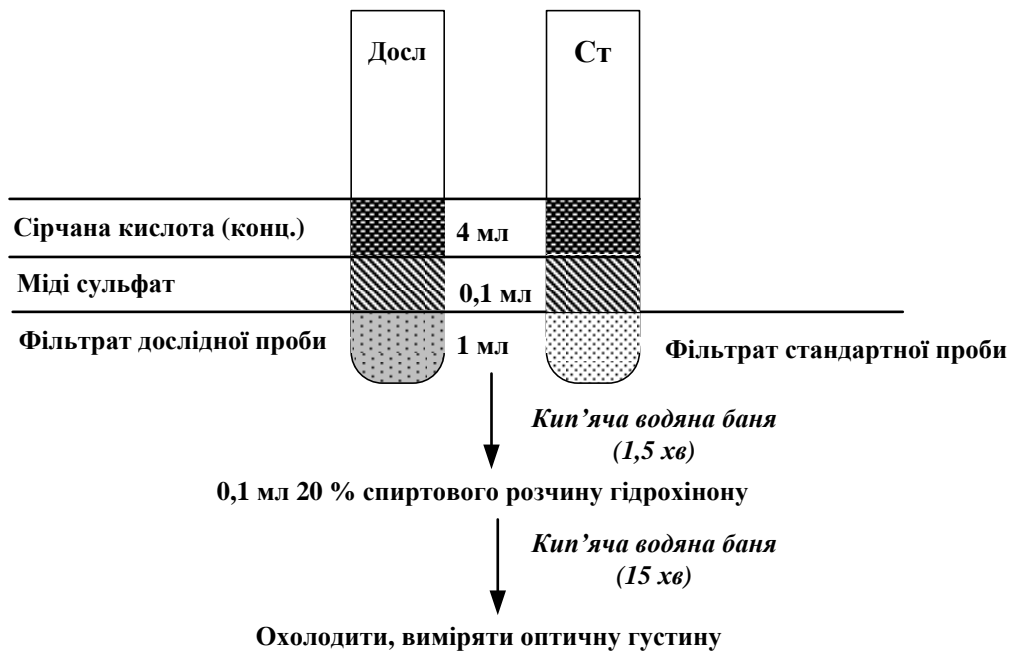
Дослід . Кількісне визначення молочної кислоти в сироватці крові за методом Бюхнера.

Молочна кислота в організмі є кінцевим продуктом гліколізу і глікогенолізу – анаеробних процесів окиснення глюкози та глікогену. Значна кількість молочної кислоти утворюється в м'язах, поступає в кров, переноситься до серцевого м'яза та в печінку, де окиснюється.

Принцип методу. Молочна кислота при нагріванні з концентрованою сульфатною кислотою перетворюється на оцтовий альдегід, який при взаємодії з гідрохіноном утворює сполуку червоно-коричневого кольору. Кількість молочної кислоти визначають колориметрично на ФЕКу при синьому світлофільтрі ($\lambda = 380$ нм).

Матеріальне забезпечення: сироватка крові, 5 % розчин метафосфорної кислоти, 10 % розчин міді сульфату, кальцію гідроксид в порошок, концентрована сульфатна кислота, 20 % розчин гідрохінону, стандартний розчин молочної кислоти, дистильована вода, пробірки з притертими корками на 15 мл, скляні лійки, скляні палички, фільтри, водяна баня, газовий пальник, ФЕК.

Хід роботи. У дві сухі пробірки наливають по 6 мл дистильованої води. Потім в першу додають 1 мл стандартного розчину молочної кислоти, в другу – 1 мл сироватки крові. Для осадження білків вносять у кожен пробірку по 1 мл метафосфорної кислоти, струшують та залишають на кілька хвилин, після чого відфільтровують. До фільтратів додають по 1 мл 10 % розчину міді сульфату та по 0,5 г кальцію гідроксиду. Проби перемішують скляними паличками, через 5 хв відфільтровують. Відміряють по 1 мл фільтрату в пробірки з притертими корками, додають по 0,1 мл 10 % розчину міді сульфату та по 4 мл концентрованої сульфатної кислоти. Пробірки ставлять у киплячу водяну баню на 1,5 хв. Після охолодження додають по 0,1 мл 20 % спиртового розчину гідрохінону, добре перемішують та кип'ятять 15 хв. Пробірки охолоджують та колориметрують при синьому світлофільтрі ($\lambda = 380$ нм).



Розрахунки: Концентрацію молочної кислоти розраховують за формулою:

$$C = \frac{C_{\text{станд}} \times A_{\text{дослід}}}{A_{\text{станд}}}$$

де: C – концентрація молочної кислоти в сироватці крові, ммоль/л.

$C_{\text{станд}}$ – концентрація молочної кислоти в стандартному розчині.

$A_{\text{станд}}$ – оптична густина стандартного розчину молочної кислоти.

$A_{\text{дослід}}$ – оптична густина дослідної проби.

Концентрація молочної кислоти в крові здорової людини: 1 – 2 ммоль/л.

Оцінити отриманий результат. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Збільшення вмісту молочної кислоти може бути пов'язане з виконанням людиною інтенсивної фізичної праці за короткий проміжок часу без достатнього поступлення кисню, при цьому не відбувається повною мірою окисне декарбоксилювання пірувату до ацетил-КоА. Збільшення концентрації молочної кислоти спостерігають при гострому гнійному запальному ураженні тканин, тяжкій анемії, епілепсії, тетанії, правці, гіпоксії, пов'язаній з серцевою та легеневою недостатністю, злоякісних новоутвореннях, захворюваннях печінки (гострих гепатитах, цирозі печінки), цукровому діабеті, нирковій недостатності, гострому септичному ендокардиті, поліомієліті, лейкозах. Для більшості наведених станів (лактатацидоз) збільшується співвідношення лактат / піруват, найчастіше воно становить 10:1.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Пояснити принцип методу визначення кінцевого продукту анаеробного гліколізу – молочної кислоти (метод Бюхнера).

Індивідуальна самостійна робота студентів

1.Метаболічна та гормональна регуляція обміну глюкози (створення схем в електронному варіанті).

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 128-138.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія /Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 128-139.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 118-125, 126-133, 408-411.
4. Вороніна Л.Н., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.Н. та ін. Біологічна хімія.- Харків.: Основа, 2000.- С. 246-255.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 300-308.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – С. 187-188, 190-200, 477.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – С. 38-40.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 74-109.
9. Склярів О.Я., Сергієнко О.О., Фартушок Н.В. та ін. Обмін вуглеводів. Біохімічні та клінічні аспекти. – Львів: Світ, 2004. – 111 с.
- 10.Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 196-199, 204-209.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
2. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 13 – 28.
3. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.

Наукова фахова:

1. Германович В.В. Корекция гипоксических состояний в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы / Дальневосточный медицинский журнал. - 2013, №4. - С. 66-70.
2. Грош Р.М., Долгова М.И., Онищенко П.М. Роль макроэргических фосфатов эритроцитов крови в диагностике жизненно важных функций у

- больных с внемозковыми краниобазальными опухолями /Український нейрохірургічний журнал. - 2011, №4. – С. 67 -70.
3. Patogenetic basis (farmaceutical hepatitis induced by depakin in children Fodymova S.D., Sadovnikova I.V/ Klin.Gastroenterok. - 2009, (8). – P. 30 – 35.
4. Prins M.I. Glucose metabolism in pediatric brain injury/ Child.New Syst. – 2017. - № 33(10). – P. 1711 – 1718.

Тема № 10. Дослідження аеробного окиснення глюкози та альтернативних шляхів обміну моносахаридів

Мета заняття. Знати роль мультиферментного піруватдегідрогеназного комплексу для аеробного перетворення глюкози. Засвоїти значення та послідовність ферментативних реакцій пентозофосфатного шляху окиснення глюкози. Оволодіти особливостями метаболічних шляхів перетворення фруктози і галактози в організмі людини. Оволодіти методом визначення вмісту піривиноградної кислоти сечі.

Мотивація теми. Обмін вуглеводів охоплює весь складний процес перетворення вуглеводів від поступлення їх в організм, травлення та всмоктування в клітині, до утворення кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O .

Етапи катаболізму вуглеводів у клітині включають утворення, в аеробних умовах, пірувату який у вигляді ацетильної групи інтегрується в КоА з утворенням ацетил – КоА, що окиснюється до CO_2 і H_2O в циклі трикарбонових кислот (циклі Кребса).

Серед альтернативних шляхів обміну глюкози важливе місце належить пентозофосфатному (фосфоглюконатному) шляху, важливим продуктом якого є НАДФН, що постачає відновні еквіваленти для реакцій синтезу жирних кислот, стероїдів; та рибозо-5-фосфату необхідного для синтезу нуклеїнових кислот.

Одночасно з глюкозою в клітині катаболізується фруктоза та галактоза, порушення метаболізму яких зумовлюється ензимопатіями (фруктозо-1-фосфатальдолази та галактозо-1-фосфат-уридилтрансферази).

Конкретні завдання:

- Пояснювати механізми перетворення моносахаридів до кінцевих продуктів із звільненням енергії в аеробних умовах.
- Аналізувати структурно-функціональні особливості мультиферментного піруватдегідрогеназного комплексу.
- Пояснювати послідовність ферментативних реакцій та значення пентозофосфатного шляху окиснення глюкози.
- Аналізувати метаболічні шляхи перетворення фруктози і галактози в організмі людини.

Теоретичні питання

1. Характеристика етапів аеробного окиснення глюкози.
2. Окиснювальне декарбоксілювання піривиноградної кислоти:

- будова мультиферментного піруватдегідрогеназного комплексу;
 - механізм реакції окисного декарбоксилування пірувату;
 - роль вітамінів та коферментів у перетворенні пірувату в ацетил-КоА.
3. Енергетична цінність аеробного (повного) окиснення глюкози до CO_2 . Порівняльна характеристика біоенергетики аеробного та анаеробного окиснення глюкози.
 4. Пентозофосфатний шлях (ПФШ) окиснення глюкози:
 - схема реакцій окиснювальної та неокиснювальної стадій ПФШ;
 - роль ферментів та коферментів у перебігу реакцій ПФШ;
 - біологічне значення ПФШ.
 - порушення ПФШ в еритроцитах; ензимопатії глюкозо-6-фосфатдегідрогенази;
 5. Ферментативні реакції перетворення фруктози в організмі людини. Спадкові ензимопатії обміну фруктози.
 6. Ферментативні реакції перетворення галактози в організмі людини. Спадкові ензимопатії обміну галактози.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Характеристика етапів аеробного окиснення глюкози.

- Представити схему шляхів поетапного аеробного перетворення глюкози в організмі.

2. Окиснювальне декарбоксилування піровиноградної кислоти:

- будова мультиферментного піруватдегідрогеназного комплексу;
- механізм реакції окисного декарбоксилування пірувату;
- роль вітамінів та коферментів у перетворенні пірувату в ацетил-КоА.

3. Енергетична цінність аеробного (повного) окиснення глюкози до CO_2 . Порівняльна характеристика біоенергетики аеробного та анаеробного окиснення глюкози.

- Порахувати енергетичний ефект анаеробного окислення глюкози.
- Порахувати енергетичний ефект аеробного окислення глюкози.
- Дати порівняльну характеристику обом процесам.

4. Пентозофосфатний шлях (ПФШ) окиснення глюкози:

- схема реакцій окиснювальної та неокиснювальної стадій ПФШ.
- роль ферментів та коферментів у перебігу реакцій ПФШ.
- біологічне значення ПФШ.
- порушення ПФШ в еритроцитах; ензимопатії глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

5. Ферментативні реакції перетворення фруктози в організмі людини. Спадкові ензимопатії обміну фруктози.

- Написати метаболічні перетворення фруктози, що перебігають в організмі.
- Описати ензимопатії обміну фруктози (непереносимість фруктози, есенціальна фруктозурія), описати клінічні прояви та вказати дефектні ферменти.

6. Ферментативні реакції перетворення галактози в організмі людини. Спадкові ензимопатії обміну галактози.

- Написати метаболічні перетворення галактози, що перебігають в організмі.
- Описати ензимопатії обміну галактози (галактоземія), описати клінічні прояви та вказати дефектні ферменти.
- Скористатися матеріалом <https://lifelib.info/biochemistry/bases/12.html>
https://pidruchniki.com/68252/meditsina/nootropni_likarski_zasobi

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У хлопчика 3 років спостерігається збільшення у розмірах печінки та селезінки, катаракта. У крові – підвищена концентрація глюкози, проте тест толерантності до глюкози - в нормі. Спадкове порушення обміну якої речовини є причиною цього стану?

- A. Глюкози
- B. Галактози
- C. Фруктози
- D. Сахарози
- E. Манози

2. При окисненні в пентозофосфатному циклі 6 молекул глюкози утворюється:

- A. 3 молекули НАДФН₂
- B. 6 молекули НАДФН₂
- C. 9 молекули НАДФН₂
- D. 12 молекули НАДФН₂
- E. 15 молекули НАДФН₂

3. В крові хворого виявлений високий вміст галактози, концентрація глюкози знижена. Відзначається розумова відсталість, помутніння кришталика. Яке захворювання має місце?

- A. Фруктоземія
- B. Лактоземія
- C. Галактоземія
- D. Цукровий діабет
- E. Стероїдний діабет

4. Есенціальна фруктозурія – спадкове захворювання, пов'язане з порушенням обміну фруктози. При цій патології спостерігаються симптоми ураження печінки та нирок. Причиною є відсутність ферменту, що каталізує перетворення фруктози у:

- A. Фруктозо-1-фосфат
- B. Фруктозо-6-фосфат
- C. Фруктозо-1,6-дифосфат
- D. Глюкозо-1-фосфат
- E. Гліцеральдегідфосфат

5. Одним із важливих субстратів окиснення є піруват, який утворюється як проміжний продукт розпаду вуглеводів, білків, амінокислот. Окиснювальне декарбоксілювання пірувату здійснюється за допомогою піруватдегідрогеназного комплексу до складу якого входить:

- A. Піруваткіназа
- B. Лактатдегідрогеназа
- C. Сукцинатдегідрогеназа
- D. Малатдегідрогеназа
- E. Дигідроліпоїлдегідрогеназа

Ситуаційні задачі

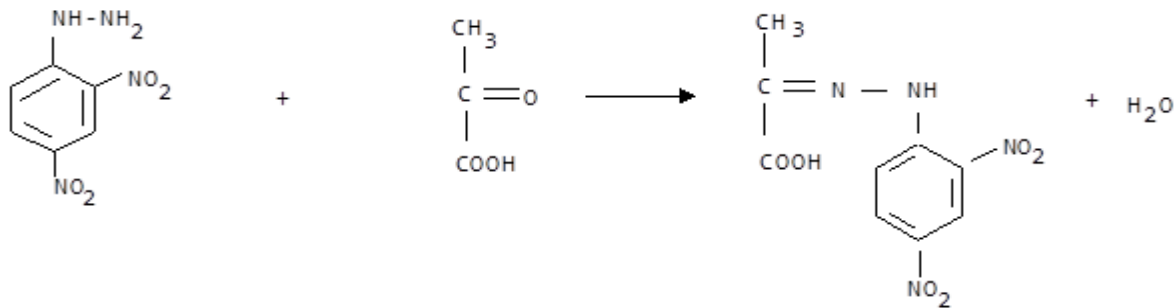
1. Новонароджена дитина відмовляється від їжі, в неї виникає блювання, пронос, а згодом – катаракта. При вилученні з раціону дитини харчових сумішок з вмістом галактози зникають всі прояви хвороби (за винятком катаракти). Поясніть причину.
2. Кокарбоксілазу використовують у медицині як фармзасіб лікування дистрофій міокарда, уражень м'язів та периферичної і ЦНС. Який біохімічний механізм дії фармпрепарату?
3. Застосування сульфаніламідних та протималярійних фармпрепаратів у пацієнтів, іноді, викликає гемоліз еритроцитів. Обґрунтуйте причину його виникнення.

Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення піровиноградної кислоти (ПВК) в сечі колориметричним методом.

Піровиноградна кислота – один з центральних метаболітів вуглеводного обміну. Визначення її кількості в плазмі крові та сечі широко використовується з діагностичною метою в клінічній практиці.

Принцип методу. Піровиноградна кислота (ПВК) з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4 ДНФГ) в лужному середовищі утворює 2,4-динітрофенілгідразони піровиноградної кислоти коричнево-червоного забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації ПВК і визначається колориметрично.

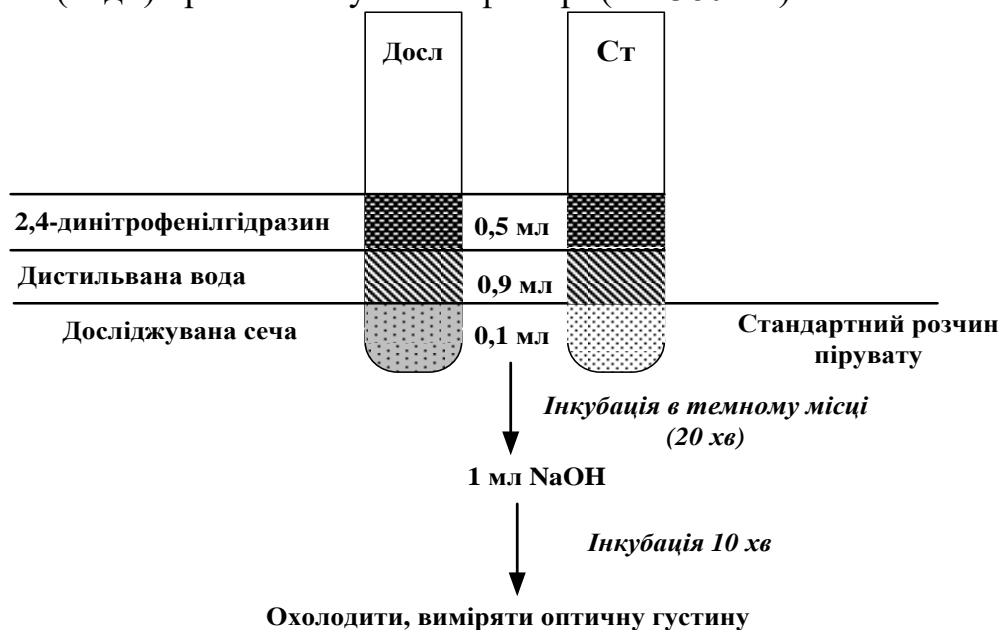


2,4-ДНФГ

ПВК сполука коричнево-червоного кольору

Матеріальне забезпечення: сеча, стандартний розчин пірувату (ПВК) – 625мг в 100 мл води, 0,1 % розчин 2,4-динітрофенілгідрозину в 2 н розчині соляної кислоти, 12 % розчин гідроксиду натрію, дистильована вода, штатив з пробірками, піпетки, ФЕК.

Хід роботи. Беруть 2 пробірки, в одну наливають 0,1мл сечі, в другу – 0,1мл розчину ПВК, а потім в обидві пробірки додають по 0,9 мл дистильованої води. Після цього вносять по 0,5мл 0,1 % р-ну 2,4-динітрофенілгідрозину, змішують і на 20 хв ставлять в темне місце. Пізніше додають по 1 мл 12 % розчину гідроксиду натрію і через 10 хв колориметрують на ФЕКу проти контролю (води) при синьому світлофільтрі ($\lambda = 380 \text{ нм}$).



Розрахунок: концентрацію ПВК вираховують за формулою:

$$C_{\text{досл}} = \frac{C_{\text{станд}} \times A_{\text{досл}} \times V}{A_{\text{станд}} \times a}$$

де:

$C_{\text{досл}}$ – концентрація ПВК у сечі (мг/добу);

$C_{\text{станд}}$ – концентрація стандартного розчину ПВК;

$A_{\text{досл}}$ – оптична густина досліджуваної проби;

$A_{\text{станд}}$ – оптична густина стандарту;

V – добова кількість сечі;

a – 0,1 мл сечі, взятої для аналізу.

Порівняти отриманий результат з нормативними величинами. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. У крові здорової людини міститься 45-115 мкмоль/л ПВК, з сечею за добу виділяється 15-25 мг ПВК. Вміст ПВК у крові (разом з молочною кислотою) підвищується при посиленій м'язовій праці, а також при деяких патологічних станах, що супроводжується судомою (тетанія, епілепсія, правець). Збільшується виділення ПВК з сечею при В₁-вітамінній недостатності, серцевій недостатності, токсикозах, захворюваннях печінки, інсулінозалежному цукровому діабеті, діабетичному кетоацидозі, дихальному алкалозі, уремії, гепатоцеребральній дистрофії, гіперфункції гіпофізарно-адреналової і симпатико-адреналової систем, а також після введення камфори, стрихніну, адреналіну. До збільшення ПВК призводять токсична дія ацетилсаліцилової кислоти, отруєння ртуттю, миш'яком, сурмою.

Вміст ПВК різко підвищується у спинномозковій рідині при травматичних захворюваннях ЦНС, запальних процесах: менінгіті, абсцесі мозку. Під впливом наркозу рівень ПВК у крові дещо знижується. Всі фактори, які зумовлюють збільшення концентрації ПВК, як правило, призводять до зростання рівня молочної кислоти.

Таким чином, основною причиною нагромадження в крові піровиноградної та молочної кислот є порушення їх наступного ферментативного перетворення у звичайні продукти розпаду внаслідок різних причин.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Пояснити принцип визначення вмісту піровиноградної кислоти в біологічній рідині колориметричним методом.
2. При яких патологічних станах збільшується кількість пірувату в сечі?
 - A. Цукровому діабеті
 - B. Гострому панкреатиті
 - C. Інфаркті міокарду
 - D. Гепатитах
 - E. Епілепсії
3. З метою встановлення концентрації піровиноградної кислоти в сечі користуються методом, принцип якого полягає у:
 - A. Відновленні солей важких металів у лужному середовищі
 - B. Визначенні інтенсивності забарвлення сполуки, що утворилася за взаємодії глюкози з ортолуїдином
 - C. Дії ферменту глюкозооксидази, яка окиснює глюкозу до глюконової кислоти киснем повітря
 - D. Відновленні двовалентних іонів міді в одновалентні
 - E. Фотометруванні забарвленого комплексу, що утворився в процесі взаємодії піровиноградної кислоти з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДНФГ) в лужному середовищі.

4. У хворого виявлено 5,15 ммоль/л молочної кислоти та 0,35 ммоль/л піровиноградної кислоти. При яких станах підвищуються їх кількісні величини?
5. Вміст ПВК в сечі складає 45 мг/добу (при нормі 15-25мг/добу). Дати оцінку результатів. Які можливі причини та наслідки такого стану? Який вітамінний фармпрепарат слід призначити для його корекції?
6. У хворих з пониженою активністю глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах спостерігається підвищена чутливість до окиснювачів, а також порушується відновлення метгемоглобіну. Яка причина такого стану?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Причини, прояви вроджених та набутих порушень пентозофосфатного циклу.
2. Причини, прояви та діагностика вроджених порушень обміну фруктози та галактози.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 147-155.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія /Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 81-84, 139-147.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 133-138, 152-161.
4. Вороніна Л.Н., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.Н. та ін. Біологічна хімія.- Харків.: Основа, 2000.- С.277-282.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – с. 310-314, 335-338.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – с. 188-190, 201-211.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – с. 41-43, 45-46.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – с. 74-109.
9. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 215-216.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред.. Склярова О.Я. - Київ: Медицина, 2006. – 432 с.
2. Склярів О.Я., Сергієнко О.О., Фартушок Н.В. та ін. Обмін вуглеводів. Біохімічні та клінічні аспекти. – Львів: Світ, 2004. – 111 с.

3. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
4. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.

Наукова фахова:

1. Шахнович Р.М. Оптимизация энергетического метаболизма у больных ишемической болезнью сердца // Русский медицинский журнал. – 2011, №5. – С. 43 – 46.
2. Карпов Л.М., Анісімов В. Ю. Активність піруватдегідрогеназного комплексу в органах щурів через різні терміни після внутрішньом'язевого введення вітамінів групи В та їх комплексів // Вісник Харківського національного університету ім. Каразіна : серія біологія. -2009, №10. - С. 16 – 20.
3. Eleftheriadis T., Pissas G., Mavropulos V., Stefanidis. G. Comparison of the effect of the aerobic glycolysis inhibitor dichloracetat and the Krebs cycle inhibitor ZW6 cellular and humoral alloimuniti // J. Biomed. Rep. - 2017, №7(5). – P. 439 – 444.

Тема № 11. Катаболізм та біосинтез глікогену. Регуляція обміну глікогену. Біосинтез глюкози – глюконеогенез.

Мета заняття. Знати механізми гормональної регуляції обміну глікогену в м'язах і печінці та засвоїти особливості реакцій синтезу й розпаду глікогену. Оволодіти основними принципами регуляції та особливостями перебігу реакцій глюконеогенезу. Оволодіти якісними реакціями на полісахариди.

Мотивація теми. Глікоген є основною молекулярною формою запасання вуглеводів в організмі людини і тварин, що акумулюється у вигляді внутрішньоклітинних гранул, переважно в печінці та м'язах. В організмі людини існують регуляторні механізми, що контролюють координовані зміни процесів синтезу та розпаду глікогену за умов зміни режимів харчування, переходу організму від стану спокою до активної діяльності.

Конкретні завдання:

- Пояснювати особливості реакцій розпаду та біосинтезу глікогену.
- Аналізувати механізми гормональної регуляції обміну глікогену в м'язах та печінці.
- Пояснювати молекулярно-біологічні основи спадкових ензимопатій обміну глікогену.
- Аналізувати особливості перебігу реакцій глюконеогенезу.
- Пояснювати та вміти трактувати механізми регуляції глюконеогенезу.

Теоретичні питання

1. Будова та біологічна роль полісахаридів. Особливості складу та функцій гомо- і гетерополісахаридів в організмі людини.

2. Глікогенез та глікогеноліз: локалізація, хімізм, ключові ферменти, біологічне значення.
3. Роль адреналіну, глюкагону та інсуліну в гормональній регуляції обміну глікогену.
4. Генетичні порушення метаболізму глікогену (глікогенози та аглікогенози).
5. Загальні уявлення про метаболізм глікозамінгліканів. Генетичні порушення їх обміну. Глікозидози.
6. Глюконеогенез, взаємозв'язок гліколізу та глюконеогенезу (цикл Корі). Глюкозо-лактатний, глюкозо-аланіновий цикли.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Будова та біологічна роль полісахаридів. Особливості складу та функцій гомо- і гетерополісахаридів в організмі людини.**
 - Вказати будову та біологічну роль основних гомо- і гетерополісахаридів в організмі людини.
- 2. Глікогенез та глікогеноліз: локалізація, хімізм, ключові ферменти, біологічне значення.**
 - *Глікогенез – це...*
 - *Глікогеноліз – це...*
 - Вказати місце перебігу синтезу глікогену, представити послідовність ферментативних реакцій цього процесу; місця депонування та особливості його мобілізації в різних органах.
 - Представити реакції глікогенолізу (із зазначенням назв метаболітів і ферментів).
- 3. Роль адреналіну, глюкагону та інсуліну в гормональній регуляції обміну глікогену.**
 - Подати схему АТФ-залежної регуляції активностей глікогенфосфорилази і глікогенсинтетази.
 - Вказати особливості впливу інсуліну, глюкагону та адреналіну на обмін глікогену в м'язах та печінці.
- 4. Генетичні порушення метаболізму глікогену (глікогенози та аглікогенози).**
 - Назвати спадкові порушення синтезу та розпаду глікогену (аглікогенози, глікогенози), дати характеристику, вказати причину виникнення захворювання.
 - Подати класифікацію глікогенозів.
- 5. Загальні уявлення про метаболізм глікозамінгліканів. Генетичні порушення їх обміну. Глікозидози.**
 - Вказати особливості синтезу N-зв'язаних, O-зв'язаних глікопротеїнів.

- В конспекті особливості катаболізму глікозамінгліканів. Дати характеристику синтезу гліколіпідів.
- Описати процес катаболізму глікокон'югатів.
- Дати визначення глікозидозів. Назвати спадкові порушення метаболізму глікокон'югатів, дати характеристику, вказати причину виникнення захворювання.

6. Глюконеогенез, взаємозв'язок гліколізу та глюконеогенезу (цикл Корі). Глюкозо-лактатний, глюкозо-аланіновий цикли.

- Дати визначення:
Глюконеогенез – це...
- Вказати субстрати, що можуть слугувати попередниками синтезу глюкози.
- Написати реакції глюконеогенезу із зазначення їх клітинної локалізації.
- Вказати біологічне значення глюконеогенезу.
- Пояснити взаємозв'язок між гліколізом та глюконеогенезом.
- Дати визначення та описати функціонування глюкозо-лактатного циклу.
- Дати визначення та описати функціонування глюкозо-аланінового циклу.
- Скористатися матеріалом <https://lifelib.info/biochemistry/bases/12.html>
- https://pidruchniki.com/68252/meditsina/nootropni_likarski_zasobi

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Глікоген – полісахарид, що має здатність нагромаджуватися в печінці та м'язах. Процеси синтезу та розпаду глікогену в клітинах регулюються завдяки включенню механізмів фосфорилювання ключових ферментів обміну глікогену:

- A. Глікогенсинтази і глікогенфосфорилази
- B. Глікогенфосфорилази і ліпази
- C. Глікогенсинтази і протеїнкінази
- D. Фосфопротеїнфосфатази і протеїнкінази
- E. Аденілатциклази і ліпази

2. Дитина квола, апатична. Печінка збільшена та при її біопсії виявлено значний надлишок глікогену. Концентрація глюкози в крові нижча від норми. У чому причина наведених порушень?

- A. Знижена активність глікогенфосфорилази в печінці
- B. Знижена активність глікогенсинтази
- C. Знижена активність глюкозо-6-фосфатізомерази
- D. Знижена активність глікокінази
- E. Дефіцит гена, який відповідає за синтез глюкозо-1-фосфатуридилтрансферази

3. При дослідженні крові у хворого виявлена виражена гіпоглюкоземія натще. При дослідженні біоптату печінки виявилось, що в клітинах печінки не

відбувається синтез глікогену. Недостатність якого фермента є причиною захворювання?

- А. Глікогенсинтази
- В. Фосфорилази
- С. Альдолази
- Д. Фруктозодифосфатази
- Е. Піруваткарбоксілази

4. Фосфоролітичний розпад вуглеводів відіграє ключову роль у мобілізації полісахаридів. У результаті дії ензиму фосфорилази глікоген розпадається з утворенням:

- А. Глюкозо-1-фосфату
- В. Глюкозо-1,6-дифосфату
- С. Глюкозо-6-фосфату
- Д. Глюкози
- Е. Фруктозо-6-фосфату

5. У дитини з точковою мутацією генів виявлено відсутність глюкозо-6-фосфатази, гіпоглікемію і гепатомегалію. Вкажіть вид патології, для якої характерні ці ознаки:

- А. Хвороба Аддісона
- В. Хвороба Гірке
- С. Хвороба Паркінсона
- Д. Хвороба Корі
- Е. Хвороба Мак-Ардля

Ситуаційні задачі

1. Відомо, що глікоген, який становить енергетичний запас організму, відкладається про запас у печінці та м'язах, але не створює резерву в такій важливій тканині як мозкова, яка у великій кількості використовує глюкозу. Поясніть, чому глікоген не накопичується у мозку?
2. Які речовини використовуються для синтезу глюкози в організмі за умови тривалого голодування чи виснажливої роботи? Відповідь аргументуйте.
3. Субстратами для глюконеогенезу слугують: лактат, піруват, глюкогенні амінокислоти, гліцерол. Однак лише печінка і нирки здатні синтезувати глюкозу з гліцеролу. Вкажіть причину.

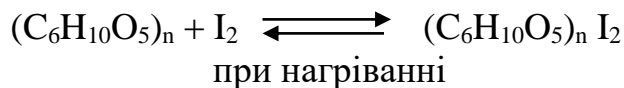
Практична робота

Дослід 1. Реакція на полісахариди.

Принцип методу. При взаємодії крохмалю з йодом утворюються комплексні адсорбційні сполуки, які забарвлюються в синій колір. Синє забарвлення пояснюється адсорбцією йоду крохмалем і утворенням комплексних сполук крохмалю з йодом.

Це можна виразити за допомогою схеми:

на холоді



Матеріальне забезпечення: 1 %-й розчин крохмалю, розчин Люголю (розчин йоду в йодиді калію), штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи. У пробірку вносять 0,5 мл розчину крохмалю та додають 1-2 краплі розчину Люголя. Спостерігають появу синього забарвлення.

Зробити висновок.

Дослід 2. Виявлення глікогену в печінці.

Принцип методу. Глікоген, як і крохмаль, з йодом утворює забарвлені сполуки (крохмаль – темно-синього кольору, глікоген – червоно-бурого).

Матеріальне забезпечення: печінка свіжа або свіжозаморожена, розчин Люголю (розчин йоду в йодиді калію), 1 % розчин ацетатної кислоти, фарфорова ступка, водяна баня, паперові фільтри, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи. 0,5 г свіжозамороженої печінки поміщають у склянку, подрібнюють ножицями, заливають 4 мл кип'яченої дистильованої води, переносять у пробірку та кип'ятять впродовж 2-3 хв (для інактивації ферментів). Пізніше вміст пробірки переливають у фарфорову ступку та розтирають до отримання однорідної маси. Цей гомогенат розводять 1 мл дистильованої води, переносять у пробірку та кип'ятять на водяній бані 20 хв, додаючи воду по краплях по мірі википання рідини.

Для кращого осадження білків киплячу рідину підкислюють 5-10 краплями 1 % розчину ацетатної кислоти.

Осад білка відділяють фільтруванням через змочений водою паперовий фільтр. До фільтрату додають 2-3 краплі розчину Люголя. При наявності у досліджуваному матеріалі глікогену розчин набуває характерного червоно-бурого забарвлення.

Значення для фармації та клініки. Глікоген – полісахарид, який є основним резервом вуглеводів в організмі. Головне депо для глікогену – печінка та м'язи. Норма в крові – 16,2-38,7 мг/л.

Підвищення концентрації глікогену в крові спостерігають при інфекційних захворюваннях, хворобах крові, які супроводжуються лейкоцитозом, новоутвореннях.

Зниження концентрації характерне для дітей з гострими гепатитами. Важливе клінічне значення має цитохімічне визначення рівня глікогену в клітинах крові, кісткового мозку та печінці.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Виявлення глікогену в печінці. Яке біологічне значення має нагромадження глікогену у печінці? В яких тканинах ще накопичується в організмі людини глікоген?

2. У хворого судоми у м'язах при напруженій роботі, а поза тим почуває себе здоровим. При біопсії м'язової тканини виявлено значний надлишок глікогену. Концентрація глюкози в крові нижче норми. Про недостатність якого ферменту слід думати?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Особливості метаболізму вуглеводних компонентів глікокон'югатів та генетичні порушення їх обміну.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 139-144, 146-147.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія / Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 147-158.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 120-122, 138-152.
4. Вороніна Л.Н., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.Н. та ін. Біологічна хімія.- Харків.: Основа, 2000.- С. 271-277.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 292-300, 325-330.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – С. 211-218, 222-231.
7. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – С. 43-45.
8. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 74-109.
9. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 189-193, 199-204, 209-214.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія/За ред.. Склярова О.Я. - Київ: Медицина, 2006. – 432 с.
2. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
3. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.

Наукова фахова:

1. Кулебякин К.Ю., Акопян Ж. А., Кочегура Т. Н., Пеньков Д.Н. Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени // Сахарный диабет. – 2016, №3. – С. 190 – 198.

2. Clinical and laboratory feature of patients with myophosphorylase deficienti (Mc Ardle disease) Miteff F, Potter H.C, Allen J, Teoh H, Roxbourg R, Hutchinson D.O J Clin Neurosci. 2011 Aug; 18(8):1055 – 58.
3. Glucose-6-phosphatase deficiency Troissart M, Piroud M, Boudjemline A, M. Orphanet J Rare Dis. 2011 Maj 20;(6):1172 – 1186.
4. Glycogen metabolism in humans Adeva - Andany M.M, Gonzales – Lucan M. Donapetry – Garcia C. BBA Clin, 2016 Feb 27; 5 : 85 – 100.

Тема № 12. Механізми метаболічної та гормональної регуляції обміну вуглеводів. Порушення обміну вуглеводів

Мета заняття. Знати роль гормонів у регуляції та підтриманні постійного рівня глюкози в крові. Засвоїти особливості порушень обміну вуглеводів, жирів, білків при цукровому діабеті. Ознайомитись з роботою глюкометра.

Мотивація теми. Концентрація глюкози в крові залежить від рівноваги між надходженням її в кров і споживанням тканинами. Оскільки виведення глюкози з організму в нормі є досить незначне, то підтримка постійності її концентрації у відносно вузьких межах за значних коливань надходження з їжею забезпечується процесами обміну в тканинах. Система регуляторних механізмів включає гормони інсулін, глюкагон, адреналін, глюкокортикоїди, а також метаболічні взаємодії між печінкою, м'язами, мозком тощо.

Конкретні завдання:

- *Аналізувати зміни рівня глюкози крові, механізми їх гормональної регуляції (інсулін, глюкагон, адреналін), патологічні прояви порушень обміну глюкози: цукровий діабет, голодування.*
- *Трактувати поняття нормоглікемія, гіпер-, гіпоглікемія, глюкозурія як нормальні та патологічні стани обміну глюкози.*

Теоретичні питання

1. Біохімічні процеси, які забезпечують сталий рівень глюкози в крові. Роль різних шляхів обміну вуглеводів у регуляції рівня глюкози в крові.
2. Роль печінки в обміні вуглеводів.
3. Ендокринна регуляція обміну вуглеводів:
 - інсулін, будова, механізм дії, роль в обміні вуглеводів;
 - адреналін та глюкагон, механізми їх регулюючої дії на обмін вуглеводів;
 - глюкокортикоїди, їх вплив на обмін вуглеводів;
 - соматотропін, особливості впливу на вуглеводний обмін.
4. Характеристика гіпер-, гіпоглікемії та глюкозурії.
5. Інсулінзалежна та інсуліннезалежна форми цукрового діабету. Біохімічні критерії цукрового діабету.
6. Фармпрепарати для лікування цукрового діабету.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Біохімічні процеси, які забезпечують сталий рівень глюкози в крові. Роль різних шляхів обміну вуглеводів у регуляції рівня глюкози в крові.**
- Вказати метаболічні шляхи, що призводять до підвищення рівня глюкози в організмі.
 - Вказати метаболічні шляхи, що призводять до зниження рівня глюкози в організмі.
- 2. Роль печінки в обміні вуглеводів.**
- 3. Ендокринна регуляція обміну вуглеводів:**
- інсулін, будова, механізм дії, роль в обміні вуглеводів;
 - адреналін та глюкагон, механізми їх регулюючої дії на обмін вуглеводів;
 - глюкокортикоїди, їх вплив на обмін вуглеводів;
 - соматотропін, особливості впливу на вуглеводний обмін.
- 4. Характеристика гіпер-, гіпоглікемії та глюкозурії.**
- Дати визначення поняттям:
Гіперглікемія – це...
Гіпоглікемія – це...
Глюкозурія – це...
 - Описати вищевказані метаболічні стани (означивши їх конкретними біохімічними показниками)
- 5. Інсулінзалежна та інсуліннезалежна форми цукрового діабету. Біохімічні критерії цукрового діабету.**
- Дати визначення інсулінзалежному цукровому діабету та вказати причину його виникнення і характерні для нього клініко-біохімічні прояви.
 - Дати визначення інсуліннезалежному цукровому діабету та вказати причину його виникнення та характерні для нього клініко-біохімічні прояви.
 - Характеристика біохімічних порушень при цукровому діабеті:
 1. порушення вуглеводного обміну (гіперглікемія, глюкозурія)
 2. порушення ліпідного обміну (кетонемія, кетонурія)
 3. порушення білкового обміну (гіпопротеїнемія, азотемія, азотурія)
- 6. Фармпрепарати для лікування цукрового діабету.**
- Представити класифікацію пероральних протидіабетичних препаратів.
 - Вказати механізм їх дії.
 - Скористатися матеріалом <https://lifelib.info/biochemistry/bases/12.html>
https://pidruchniki.com/68252/meditsina/nootropni_likarski_zasobi

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Збільшення концентрації глюкози в крові при дії глюкагону пов'язане з активуванням:

- A. Гексокінази
- B. Глюкокінази
- C. Альдолази
- D. Глікогенфосфорилази
- E. Глікогенсинтетази

2. Під час обстеження пацієнта виявлено, що концентрація глюкози в крові становить 4,5 ммоль/л і свідчить про те, що пацієнт:

- A. Практично здоровий
- B. Хворий на цукровий діабет
- C. Має підвищену толерантність до глюкози
- D. Хворий на нецукровий діабет
- E. Хворий на стероїдний діабет

3. Пацієнта доставлено в медичний заклад у коматозному стані. Зі слів супровідників вдалося з'ясувати, що хворий знепритомнів під час тренування на завершальному етапі марафонської дистанції. Яку кому діагностовано?

- A. Гіперглікемічну
- B. Гіпоглікемічну
- C. Ацидотичну
- D. Гіпотиреоїдну
- E. Печінкову

4. Пацієнтка 46 років, скаржиться на сухість у роті, спрагу, часте сечовипускання. При біохімічному дослідженні крові – гіперглікемія. У сечі – глюкоза, кетонові тіла. У хворої, ймовірно, спостерігається:

- A. Аліментарна гіперглікемія
- B. Цукровий діабет
- C. Гострий панкреатит
- D. Нецукровий діабет
- E. Ішемічна хвороба серця

5. До лікаря звернувся пацієнт зі скаргами на постійну спрагу. Виявлена гіперглікемія, поліурія та підвищений вміст 17-кетостероїдів у сечі. Яке захворювання є найбільш ймовірним?

- A. Стероїдний діабет
- B. Інсулінозалежний діабет
- C. Аддісонова хвороба
- D. Глікогеноз I типу
- E. Мікседема

Ситуаційні задачі

1. Хворому на інсулінозалежний цукровий діабет було введено препарат інсуліну. Через деякий час у хворого з'явилися слабкість, дратівливість, посилене потовиділення. Вкажіть основний патогенетичний механізм розвитку гіпоглікемічної коми.
2. У хворого внаслідок голодування виникла кетонемія. Який фармпрепарат слід ввести хворому для швидкого та ефективного її усунення?

Практична робота

Дослід 1. Визначення вмісту глюкози в крові глюкозооксидазним методом, за допомогою глюкометра Акку – Чек актив.

Принцип методу. Окиснення глюкози киснем повітря під дією глюкозооксидази до глюкуронової кислоти з утворенням гідрогену пероксиду, який за, присутності фенолу, утворює з 4-аміноантипірином сполуку червоно-фіолетового кольору інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту глюкози.

Хід роботи. На тест – смужку, яка містить тестове поле наносять кров (1 – 2 мкл). Реагенти тест - смужки містять ензим глюкозооксидазу, що каталізує реакцію окислення глюкози до глюкуронової кислоти. Внаслідок хімічної реакції з іншими реагентами колір тестового поля змінюється. Прилад визначає ступінь зміни кольору і розраховує показник рівня глюкози у крові, що висвітлюється у контрольному вікні.

Ознайомлення з роботою глюкометра. На основі демонстраційного дослідження зробити висновок.

Дослід 2. Побудова цукрової кривої здорової людини та хворої на цукровий діабет.

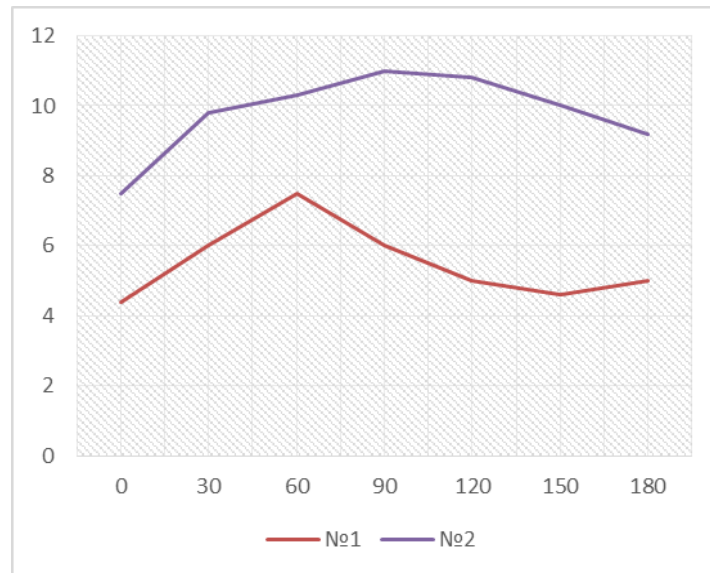
У досліджуваного беруть мікропіпеткою 0,1мл крові натще та дають випити розчин глюкози у воді з розрахунку 1г глюкози на 1кг маси тіла. Потім протягом 3-х годин через кожні пів години повторно забирають кров і визначають в ній рівень цукру за глюкозооксидазним методом. Після прийняття глюкози спостерігається збільшення концентрації цукру в крові, яке досягає максимуму на 60-тій хвилині. Через 120 хвилин рівень цукру може бути нижчий навіть від вихідного рівня. Через 180 хвилин рівень цукру в здорової людини, як правило, нормалізується. На основі отриманих даних необхідно побудувати цукрову криву, відкладаючи на вертикальній осі кількість цукру в ммоль/л, а на горизонтальній – час в хвилинах.

Студенти отримують три заздалегідь приготовані проби, у яких змодельовані різні концентрації цукру в крові та проводять визначення його концентрації.

Дослідження впливу цукрового навантаження на рівень цукру в крові має особливе значення для діагностики прихованих форм діабету, диференціації панкреатичної та ренальної глюкозурії, виявлення порушення глікогенутворюючої функції печінки та впливу інсуліну на обмін вуглеводів.

Нижче приведено два типи цукрових кривих:

№ 1 - здорової людини та №2 хворої на цукровий діабет



Якісне та кількісне визначення цукру в крові та сечі має важливе клініко-діагностичне значення. Фізіологічні гіперглікемії спостерігаються при емоційних стресах, споживанні великої кількості вуглеводів з їжею. Патологічні гіперглікемії найчастіше пов'язані з захворюваннями ендокринної системи. Вони спостерігаються при цукровому діабеті, пухлинах кори наднирників та гіпофізу, важких розладах функції печінки, гіперфункції щитовидної залози, органічних ураженнях нервової системи. Суттєве клініко-діагностичне значення має діагностичний тест на кетоніві тіла в крові та сечі. Наприклад, кетонурія при ІЗЦД (І типу) вказує на загрозу кетоацидозу. Відсутність кетонемії або кетонурії під час коматозних станів дозволяє виключити кетоацедотичну кому, як причину порушення. Необхідно мати на увазі, що й інші метаболічні стани: голодування, алкогольний кетоацидоз, вживання їжі багатой на жири та гарячка можуть призвести до утворення кетонових сполук та появи кетонурії (кетонемії).

Гіпоглікемія спостерігається при аденомі острівцевого апарату підшлункової залози внаслідок підвищеної продукції інсуліну β - клітинами, недостатній функції щитовидної залози, наднирників, гіпофізу. Крім того, гіпоглікемія може бути викликана голодуванням, важкою фізичною працею, передозуванням інсуліну при лікуванні, порушенням всмоктування вуглеводів, захворюванням нирок, які супроводжуються зниженням ниркового порогу для глюкози.

Ізотонічні розчини глюкози служать джерелом рідини і харчового матеріалу, а також сприяють знешкодженню та виведенню отрут із організму. Гіпертонічні розчини підвищують осмотичний тиск крові, сприяють обезводненню тканин, посилюють обмінні процеси, антитоксичну функцію печінки, серцеву діяльність, збільшують діурез, володіють детоксикаційними властивостями. Розчини глюкози широко застосовують при гіпоглікемії, інфекційних захворюваннях, хворобах печінки, декомпенсації серцевої діяльності, набряку легень, токсикоінфекціях, різних інтоксикаціях та інших патологічних станах. Знайшли застосування в медицині також й інші цукри. **Лактулоза** – синтетичний дисахарид, не всмоктується в шлунково-кишковому

тракті при його пероральному введенні. Попадаючи в кишечник, лактулоза стимулює перистальтику і усуває закрепи. Крім того, розщеплюючись у товстій кишці, звільняє іони водню, зв'язує вільний аміак, збільшує дифузію аміаку з крові в кишечник і сприяє виділенню аміаку з організму. Застосовують лактулозу в суміші з галактозою лактозою у вигляді сиропу при хронічних закрепах, а також при печінковій енцефалопатії у хворих з хронічними захворюваннями печінки.

Значення для фармації та клініки. Фізіологічну гіперглікемію спостерігають при емоційних стресах, споживанні великої кількості вуглеводів з їжею. Патологічна гіперглікемія найчастіше пов'язана з захворюваннями ендокринної системи, її спостерігають при цукровому діабеті, пухлинах кори надниркових залоз і гіпофізу, тяжких розладах функції печінки, гіперфункції щитоподібної залози, органічних ураженнях нервової системи.

Гіпоглікемія виникає при аденомі острівцевого апарату підшлункової залози внаслідок підвищеної продукції інсуліну β -клітинами, недостатній функції щитоподібної залози, надниркових залоз, гіпофізу. Крім того, гіпоглікемія може бути викликана голодуванням, тяжкою фізичною працею, передозуванням інсуліну при лікуванні, порушенням всмоктування вуглеводів, захворюваннями нирок, які супроводжуються зниженням ниркового порогу для глюкози.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Концентрація глюкози в крові здорової людини варіює в таких межах:
 - A. 2-4 ммоль/л
 - B. 10-25 ммоль/л
 - C. 3,3-5,5 ммоль/л
 - D. 6-9,5 ммоль/л
 - E. 9-10 ммоль/л
2. Хвору привезено каретою швидкої допомоги. Стан важкий, свідомість затьмарена, адинамія, тахікардія, запах ацетону з рота. Про наявність якої патології це свідчить? Які додаткові обстеження доцільно призначити?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Інсулінорезистентність - як одна з головних патогенетичних ланок у розвитку метаболічного синдрому.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 147-155.
2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія /Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 305, 316-320.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 161-171.

4. Вороніна Л.Н., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.Н. та ін. Біологічна хімія.- Харків.: Основа, 2000.- С.277-282.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 331-335.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – С. 218-221, 422-428, 438-441.
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 74-109.
8. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 223-230.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія/За ред.. Склярова О.Я. - Київ: Медицина, 2006. – 432 с.
2. Скляров О.Я., Сергієнко О.О., Фартушок Н.В. та ін. Обмін вуглеводів. Біохімічні та клінічні аспекти. – Львів: Світ, 2004. – 111 с.
3. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
4. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.

Наукова фахова:

1. Приступок О. Метаболічна терапія хворих на цукровий діабет // Міжнародний ендокринологічний журнал. - 2010, №6. – С. 33 – 36.
2. Ляшук П.М., Сходницький І.В., Ляшук Р.П., Станкова Н.І. Гіпоглікемічний синдром (огляд літератури) //Буковинський медичний вісник. – 2014, т.18 №1 (69). – С. 159 – 163.
3. Buchyur E.O., Glik V. Transition care for patients with type 1 diabetes mellitus from pediatric to adult health care systems // Transl. Pediatr. - 2017 № 4. – P.373 – 382.

Розділ 4.

Метаболізм ліпідів та його регуляція

Тема № 13. Травлення ліпідів. Катаболізм і біосинтез триацилгліцеролів. Внутрішньоклітинний ліполіз та молекулярні механізми його регуляції

Мета заняття: Вивчити процеси травлення ліпідів у ШКТ, біосинтезу триацилгліцеролів та основні шляхи внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів. Вміти визначати вміст фосфоліпідів та оцінювати отримані показники.

Мотивація теми. Ліпіди, як пластичний матеріал, утворюють комплекси з білками (ліпопротеїни), вуглеводами (гліколіпіди), становлять основу структури клітин і тканин. Ліпіди є важливим джерелом енергії. Знання особливостей травлення в ШКТ, основних шляхів внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів за умов нормального функціонування людського організму

та впливу патологічних факторів необхідно студентам медичних ВУЗів для подальшого вивчення патфізіології, фармакології та інших предметів, а також для майбутньої професійної діяльності.

Конкретні завдання:

- *Трактувати біохімічні функції простих і складних ліпідів в організмі: участь в побудові та функціонуванні біологічних мембран клітин, запасна, енергетична функції, використання в якості попередників у біосинтезі біологічно активних сполук ліпідної природи.*
- *Пояснювати особливості метаболізму ліпідів у різних відділах ШКТ в нормі та за умов патології.*
- *Пояснювати основні шляхи внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів.*
- *Пояснювати ферментативні реакції катаболізму та біосинтезу триацилгліцеролів.*
- *Аналізувати основні шляхи метаболізму ліпідів за умов нормального функціонування людського організму та при патології.*
- *Пояснювати гормональну регуляцію обміну ліпідів.*

Теоретичні питання

1. Біологічні функції простих і складних ліпідів в організмі людини (запасна, енергетична, участь в терморегуляції, біосинтетична).
2. Перетравлення ліпідів у травному тракті: ліполітичні ензими підшлункової залози та тонкої кишки, механізм їх дії. Всмоктування продуктів гідролізу ліпідів у тонкій кишці. Порушення перетравлення ліпідів у травному тракті (стеаторея, її види).
3. Участь ліпідів у побудові та функціонуванні біологічних мембран клітин. Рідинно-мозаїчна модель біомембран. Ліпосоми, їх використання в медицині.
4. Циркуляторний транспорт і депонування ліпідів у жировій тканині. Ліпопротеїнліпаза ендотелію.
5. Катаболізм триацилгліцеролів в адипоцитах жирової тканини: послідовність реакцій, механізми регуляції активності тригліцеридліпази.
6. Біосинтез триацилгліцеролів, значення фосфатидної кислоти.
7. Нейрогуморальна регуляція ліполізу за участі адреналіну, норадреналіну, глюкагону та інсуліну.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Біологічні функції простих і складних ліпідів в організмі людини (запасна, енергетична, участь в терморегуляції, біосинтетична).

- Дати характеристику класифікації ліпідів.
- Охарактеризувати біологічні функції простих та складних ліпідів в організмі людини за схемою:

Функція	Характеристика	Навести приклад

2. Перетравлення ліпідів у травному тракті: ліполітичні ензими підшлункової залози та тонкої кишки, механізм їх дії. Всмоктування продуктів гідролізу ліпідів у тонкій кишці. Порушення перетравлення ліпідів у травному тракті (стеаторея, її види).

- Охарактеризувати процес травлення ліпідів за схемою:
 - роль лінгвальної, шлункової ліпази в процесі травлення,
 - характеристика ліполітичних ферментів підшлункової залози та тонкої кишки: назва, рН оптимум, специфічність дії.
- Назвати жовчні кислоти, вказати їх роль у процесі травлення ліпідів, описати механізм ентерогепатичної циркуляції.
- Охарактеризувати особливості всмоктування продуктів гідролізу ліпідів.
- Дати визначення: стеаторея. Назвати причини та прояви різних видів стеатореї. Заповнити таблицю.

Види стеатореї	Причина стеатореї	Прояви стеатореї	Наслідки стеатореї
гепатогенна			
панкреатична			
ентерогенна			

3. Участь ліпідів у побудові та функціонуванні біологічних мембран клітин. Рідинно-мозаїчна модель біомембран. Ліпосоми, їх використання в медицині.

- Дати характеристику структурній організації біомембран, схематично відобразити будову мембрани (рідинно-мозаїчна модель).
- Охарактеризувати основні функції мембран.
- *Ліпосоми – це...* Їх використання в медицині.

4. Циркуляторний транспорт і депонування ліпідів у жировій тканині. Ліпопротеїнліпаза ендотелію.

- В конспекті зазначити етапи циркуляторного транспорту і депонування ліпідів у жировій тканині:
 - розщеплення ліпідів у травному тракту
 - ферменти травлення ліпідів (механізм дії, специфічність дії, оптимальне значення рН)
 - дати характеристику процесу емульгування жирів. Пояснити значення жовчних кислот у процесі травлення ліпідів.
 - всмоктування продуктів гідролізу ентероцитами
 - реестерифікація ВЖК з утворенням триацилгліцеролів
 - формування хіломікронів
 - гідроліз нейтральних жирів ліпопротеїнліпазою ендотелію
 - депонування ліпідів у жировій тканині.

5. Катаболізм триацилгліцеролів в адипоцитах жирової тканини: послідовність реакцій, механізми регуляції активності тригліцеридліпази.

- В конспекті написати послідовність реакцій катаболізму триацилгліцеролів, вказати ензими, що каналізують реакції катаболізму.
- Характеристика ензимів ліполізу.
- Схематично відобразити каскадний механізм регуляції активності тригліцеридліпази адипоцитів.

6. Біосинтез триацилгліцеролів, значення фосфатидної кислоти.

- Написати ферментативні реакції біосинтезу триацилгліцеролів.
- Вказати шляхи синтезу гліцеро-3-фосфату.
- Вказати особливості біосинтезу триацилгліцеролів в адипоцитах.

7. Нейрогуморальна регуляція ліполізу за участі адреналіну, норадреналіну, глюкагону та інсуліну.

- Описати механізми регуляції ліполізу:
 - адреналін, норадреналін, глюкагон
 - інсулін.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Біологічне значення гліколізу зумовлене не тільки тим, що він є джерелом енергії для організму, але також тим, що утворює сполуки, які використовуються для синтезу простих та складних ліпідів. Яка це сполука?

- A. Фосфоенолпіровиноградна кислота
- B. Дигідроксиацетонфосфат
- C. Молочна кислота
- D. Глюконова кислота
- E. Піровиноградна кислота

2. В експерименті у тварин після перев'язки загальної жовчної протоки припиняється надходження жовчі до 12-палої кишки. Гідроліз яких речовин буде порушуватися при цьому?

- A. Жири
- B. Вуглеводи
- C. Білки
- D. Білки та вуглеводи
- E. Жири та вуглеводи

3. При систематичних інтенсивних фізичних навантаженнях вміст жиру в жировій тканині зменшується. Він виходить із клітин у кров у формі:

- A. Глюкози
- B. Кетонових тіл
- C. Ліпопротеїнів
- D. Вільних жирних кислот і гліцерину

Е. Хіломікронів

4. Людині для покращення травлення жирної їжі призначено препарат жовчі. Які компоненти даного препарату зумовлять емульгування жирів?

- А. Жовчні кислоти
- В. Дигліцериди
- С. Холестерин і його ефіри
- Д. Білірубінглюкуроніди
- Е. Жовчні пігменти

5. Взаємодія катехоламінів з β -адренорецепторами підвищує рівень цАМФ у клітинах тканин. Назвіть фермент який каталізує реакцію утворення цАМФ:

- А. Фосфатаза
- В. Фосфодіестераза
- С. Аденілатциклаза
- Д. Гуанілатциклаза
- Е. Креатинкіназа

Ситуаційні задачі

1. Жінка віком 30 років звернулася до лікаря зі скаргами на погане самопочуття внаслідок тривалого голодування. Які наслідки для молодшої людини може мати дієта, у якій відсутні рослинні олії?
2. На прийом до лікаря звернувся чоловік зі скаргами на зниження маси тіла, запах ацетону з рота, що пов'язано із тривалим стресом. Поясніть біохімічний механізм дії катехоламінів на ліпідний обмін.

Практична робота

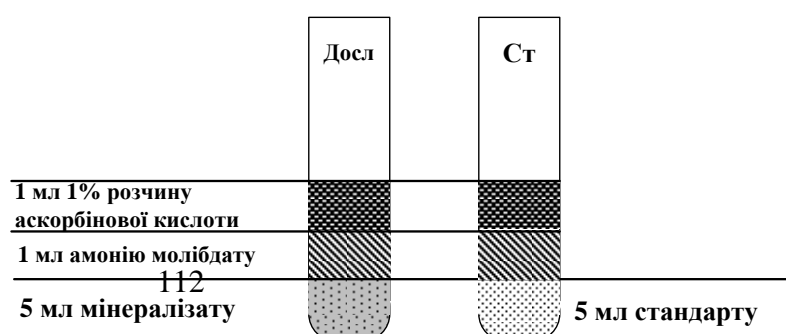
Дослід 1. Кількісне визначення фосфоліпідів у сироватці крові.

Принцип методу. Фосфоліпіди осаджуються трихлорацетатною кислотою (ТХАК) разом з білками крові. В осаді після мінералізації визначають вміст фосфору.

Матеріальне забезпечення: сироватка крові, 10 % розчин ТХАК, 56 % розчин хлорної кислоти, розчин амонію молібденовокислого, 1% розчин аскорбінової кислоти, стандартний розчин KH_2PO_4 (0,05 мг в 1 мл), центрифужні пробірки, центрифуга, водяна баня, ФЕК, піпетки, пробірки, мікропіпетки.

Хід роботи. У центрифужну пробірку наливають 0,2 мл сироватки крові, 2 мл дистильованої води. Додають 3 мл 10 % розчину ТХАК і через 1-2 хвилини центрифугують впродовж 5 хв при 2000-3000 об/хв. Надосадову рідину зливають, не струшуючи пробірку.

До осаду, що містить ліпопротеїни, додають 1 мл 56 % розчину HClO_4 і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20-



30 хв (до знебарвлення розчину).

Після закінчення мінералізації у пробірку наливають 5 мл води, 1 мл молібденовокислого амонію та 1 мл 1 % розчину аскорбінової кислоти і перемішують.

Одночасно реакцію проводять зі стандартним розчином фосфору: до 1 мл стандартного розчину (0,05 мг/мл) додають 5 мл води, 1 мл амонію молібденовокислого та 1 мл 1 % розчину аскорбінової кислоти і перемішують. Через 15-20 хв розчини колориметрують на ФЕКу, використовуючи червоний світлофільтр і кювети на 10 мм проти води.

Розрахунок проводять за формулою:

$$\text{Загальна ліпіди сироватки} = \frac{A_d \times 0,05}{A_{ст} \times 0,2} \times 25 \text{ мг/мл або г/л}$$

де,

A д – оптична густина дослідної проби;

A ст – оптична густина стандартного розчину;

0,05 – вміст фосфору в стандартному розчині (мг/мл);

0,2 – об'єм взятої для дослідів сироватки;

25 – перерахунок на загальні ліпіди.

Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Вміст загальних фосфоліпідів у сироватці крові становить 1,5-3,6 г/л, а лецитину – 0,75-1,2 г/л. Загальну концентрацію фосфоліпідів визначають за вмістом ліпідного фосфору, частка якого 4 % відносно молярної маси фосфоліпідів (0,1-0,15 г/л). Важливим показником є індекс фосфоліпіди/холестерол, який за фізіологічних умов становить 1-1,5. Цей індекс знижується при атеросклерозі, гіпертонічній хворобі, хворобах печінки.

Визначення вмісту ліпідів у крові має важливе діагностичне значення. Підвищення рівня фосфоліпідів у сироватці крові (гіперфосфоліпідемію) спостерігається при важкій формі цукрового діабету (у 2-2,5 разів), нефрозах, застійній жовтяниці тощо. Зниження рівня фосфоліпідів (гіпофосфоліпідемію) спостерігають при атеросклерозі, малокрів'ї, гарячкових станах, аліментарній дистрофії, захворюваннях печінки. Недостатнє надходження з їжею ліпотропних факторів (холіну, етаноламіну, метіоніну, інозиту) або недостатнє їх ендогенне утворення призводить до гальмування синтезу фосфоліпідів і до жирової інфільтрації печінки.

Дослід 2. Вплив жовчі на активність ліпази.

Принцип методу. Активність ліпази оцінюють за утворенням жирних кислот у результаті гідролізу жиру. Їх кількість визначають титруванням лугом у присутності фенолфталеїну. Гідроліз жирів найзручніше спостерігати на прикладі витяжки з підшлункової залози (джерело ліпази) і молока як субстрату, жир якого знаходиться в емульгованому стані і швидко розщеплюється на гліцерин і жирні кислоти. Якщо в пробу долити жовч, то ліпаза активується і гідроліз жиру протікає швидше.

Матеріальне забезпечення: панкреатин, молоко кип'ячене і попередньо розведене 1:1, жовч, 0,5 % спиртовий розчин фенолфталеїну, 0,05 н NaOH, водяна баня або термостат, мікробюретки, піпетки.

Хід роботи. У дві пробірки або колбочки наливають по 10 мл молока та по 0,5 мл панкреатину. В одну пробірку доливають 1 мл води, а в другу – 1 мл жовчі. Вміст пробірок добре перемішують. З кожної пробірки відбирають по 1 мл суміші в інші пробірки, додають 1-2 краплі 0,5 % розчину фенолфталеїну і відразу ж титрують 0,05 н розчином натрію гідроксиду до появи слаборожевого забарвлення, яке не зникає впродовж 30 секунд. Потім ці пробірки із залишком суміші вміщують у водяну баню або термостат при 37°C. Через кожні 10-15 хвилин з них відбирають по 1 мл суміші і проводять титрування, як і попереднього разу. Роблять 4-5 таких визначень. Результати виражають в мл розчину лугу, який затрачається на титрування.

Отримані дані вносять в таблицю і будують криву, відкладаючи по осі абсцис час у хв, а по осі ординат – кількість NaOH в мл, який пішов на титрування.

Умови дослідів	0 хв	15 хв	30 хв	45 хв	60 хв
	Кількість NaOH, мл				
Ліпаза, активована жовчю					
Лпаза без жовчі					

Значення для фармації та клініки. Перетравлювання ліпідів відбувається, в основному, в кишці під дією активної панкреатичної ліпази, тому що в шлунковому соку ліпаза малоактивна. Ліпіди мають бути емульговані. Головним емульгатором ліпідів є жовч, при додаванні якої ліпаза активується і гідроліз жирів відбувається з більшою швидкістю. Оскільки ліпаза є основним ензимом для перетравлення ліпідів, зміни її активності можуть свідчити про порушення певних ланок ліпідного обміну. Дефіцит панкреатичної ліпази викликає панкреатогенну стеаторею, яку спостерігають при хронічному панкреатиті, спадковій гіпоплазії pancreas, спадковому чи набутому дефіциті панкреатичної ліпази, а також при муковісцидозі. Вміст жовчних пігментів у калі при таких станах супроводжується зниженням вмісту вільних жирних кислот і значним приростом нерозщеплених жирів. Причиною порушення емульгування, травлення і всмоктування ліпідів і жиророзчинних вітамінів можуть також бути захворювання печінки, жовчного міхура або жовчних шляхів (жовчокам'яна хвороба).

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Вивчення активності ліпази підшлункової залози. Які сполуки в організмі активують ліпазу? Проілюструйте відповідь результатами практичної роботи.
2. Вказати вміст загальних фосфоліпідів за умов норми:
 - A. 1,52-3,62 г/л
 - B. 0,25-1,25 г/л
 - C. 3,75-5,40 г/л

D. 10,15-12,30 г/л

E. 9,80-15,72 г/л

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Особливості молекулярних механізмів регуляції обміну ліпідів. Роль гормонів у процесах регуляції.
2. Фармацевтичні властивості поліненасичених жирних кислот, джерела, їх значення у харчуванні.
3. Порушення травлення та всмоктування ліпідів. Причини виникнення, симптоми, лікування.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 85-98, 344-351, 358.
2. Біологічна хімія: підручник. (ВНЗ IV р.а.)/ Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін. – Київ: Нова книга, 2021. – 648 с.
3. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. – 3-тє вид., випр. і допов. -Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 736 с.
4. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 172-194.
5. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Харків: Основа. – С. 282-305.
6. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – С. 46.
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 109-141.
8. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 247-251, 262-268.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
2. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. -432 с.
3. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення / За ред. проф. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
4. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
5. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія. Короткий курс. Частина 1. Навчальний посібник. – К.: Біокомполіт, 2019. – 148 с.
6. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. - 76 с.

7. Функціональна біохімія: підручник / Н.О.Сибірня, Г.Я.Гачкова, І.В.Бродяк та ін.; за ред Н.О.Сибірної – Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. – 644 с.

Наукова фахова:

1. Nomura D.K. Lipases and their inhibitors in health and disease / D.K. Nomura, J.E. Casida / Chem. Biol. Interact. – 2016. – Vol. 259. – P. 211-222.
2. Alkaade S. A primer on exocrine pancreatic insufficiency, fat malabsorption, and fatty acid abnormalities / S. Alkaade, A.A. Vareedayah / The American journal of managed care. – 2017. – Vol. 23, Suppl. 12. – P. S203.
3. Особливості ліпідного обміну та рівня лептину у дітей раннього віку з надмірною масою тіла та ожирінням / Токарчук Н.І., Тимчук Є.В., Процюк Т.Л. // Совр. педиатрия.-2010.-№2.-С. 127-129.
4. Гула Н.М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах: [монографія] / Н.М. Гула, В.М. Маргітич. - К.: Наукова думка, 2009. - 336 с.
5. Сибірня Н.О. Основи глікобіології: [монографія] / Н.О. Сибірня, А.І. Шевцова, Г.О. Ушакова, І.В. Бродяк, І.М. Піменецька; за ред. проф. Н.О. Сибірної // – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2015. – 492 с.
6. Ващенко О. В. Індивідуальні та спільні взаємодії компонентів лікарських препаратів з модельними ліпідними мембранами : автореф. дис. ... д-ра фіз.-мат. наук : 03.00.02 / Ващенко Ольга Валеріївна ; Харків. нац. ун-т ім. В. Н. Каразіна. - Харків, 2020. – 40 с.
7. Ковальчук І. М. Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів тканин печінки і міокарда щурів за умов попереднього застосування донора сірководню під впливом малих доз іонізуючого випромінювання [Електронний ресурс] / І. М. Ковальчук, М. Р. Гжегоцький, С. М. Ковальчук // Експериментальна і клінічна медицина. - 2018. - № 2-3. - С. 5-15. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/eikm_2018_2-3_3
8. Пиршев К. О. Особливості структурної організації ліпідів плазматичної мембрани за апоптозу та ериптозу : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.04 / Пиршев Кирило Олександрович ; НАН України, Ін-т біохімії ім. О. В. Палладіна. - Київ, 2019. - 25 с.
9. Строй О. А. Показники ліпідного обміну у дітей та їх взаємозв'язок із забезпеченістю вітаміном D [Електронний ресурс] / О. А. Строй, Л. В. Сліпачук // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2020. - № 2. - С. 178-182. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zkem_2020_2_30
10. Alkaade S. A primer on exocrine pancreatic insufficiency, fat malabsorption, and fatty acid abnormalities / S. Alkaade, A.A. Vareedayah / The American journal of managed care. – 2017. – Vol. 23, Suppl. 12. – P. S203.
11. Venuti E. Bile salt stimulated lipase: Inhibition by phospholipids and relief by phospholipase A₂ / E. Venuti, D. Shishmarev, P.W. Kuchel et al. / Journal of Cystic Fibrosis. – 2017. – P. 1-4.

Тема № 14. Обмін складних ліпідів та кетонових тіл

Мета заняття. Вивчити шляхи обміну складних ліпідів і кетонових тіл за умов норми та при патології. Вміти виявляти кетонові тіла у сечі та інтерпретувати отримані результати.

Мотивація теми. Метаболізм фосфоліпідів – це складний процес, який характеризується великою кількістю попередників синтезу, проміжних продуктів, наявністю альтернативних шляхів біосинтезу. Кетонові тіла є свого роду постачальниками палива для м'язів, мозку, нирок у період голодування і діють, можливо, як частина регуляторного механізму із зворотним зв'язком, запобігаючи мобілізації жирних кислот із жирових депо; їх використовує організм при тривалому фізичному навантаженні, а при цукровому діабеті – всі інсулінзалежні тканини за виключенням печінки. Визначення вмісту кетонових тіл у крові та сечі має важливе значення для діагностики низки патологічних процесів.

Конкретні завдання:

- *Трактувати ферментативні реакції синтезу фосфоліпідів і сфінголіпідів.*
- *Аналізувати основні шляхи метаболізму ліпідів за умов нормального функціонування людського організму та при патології.*
- *Аналізувати метаболізм кетонових тіл.*
- *Пояснювати механізми надмірного зростання вмісту кетонових тіл при цукровому діабеті та голодуванні.*

Теоретичні питання

1. Біосинтез фосфоліпідів, значення фосфатидної кислоти.
2. Метаболізм сфінголіпідів. Генетичні аномалії обміну сфінголіпідів – сфінголіпідози.
3. Метаболізм кетонових тіл:
 - ферментативні реакції біосинтезу кетонових тіл;
 - реакції утилізації кетонових тіл, енергетичне значення;
 - метаболізм кетонових тіл в умовах патології;
 - поняття – кетоацидоз, кетонемія, кетонурія;
 - механізми надмірного зростання вмісту кетонових тіл при цукровому діабеті та голодуванні.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. **Біосинтез фосфоліпідів, значення фосфатидної кислоти.**
 - В конспекті написати ферментативні реакції біосинтезу фосфоліпідів.
 - Намалювати схемою метаболічну карту шляхів синтезу фосфоліпідів.
 - *Ліпотропні фактори – це...*
2. **Метаболізм сфінголіпідів. Генетичні аномалії обміну сфінголіпідів – сфінголіпідози. Лізосомальні хвороби.**
 - Біосинтез сфінголіпідів.
 - Катаболізм сфінголіпідів.

- Генетичні аномалії обміну сфінголіпідів:
 - хвороба Німана-Піка
 - хвороба Тея-Сакса
 - хвороба Гоше
 - гангліозидоз GM1

3. Метаболізм кетонових тіл:

- ферментативні реакції біосинтезу кетонових тіл;
- реакції утилізації кетонових тіл, енергетичне значення;
- метаболізм кетонових тіл в умовах патології;
- механізми надмірного зростання вмісту кетонових тіл при цукровому діабеті та голодуванні;
- дати визначення:
 - кетואцидоз* - ...
 - кетонемія*- ...
 - кетонурія* - ...
- Норми кетонових тіл в крові та сечі, методи їх визначення.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У хворого, що страждає на цукровий діабет, розвинувся кетואцидоз. Біохімічною причиною такого стану є зменшення утилізації ацетил-КоА клітинами внаслідок гальмування:

- A. Гліколізу
- B. Циклу трикарбонних кислот
- C. Пентозофосфатного шляху
- D. Бета-окиснення жирних кислот
- E. Орнітинового циклу

2. У хворого на цукровий діабет виявлено підвищений вміст кетонових тіл у крові. Вкажіть, із якої сполуки синтезуються кетонові тіла?

- A. Лактату
- B. Сукцинату
- C. Глюкози
- D. Малату
- E. Ацетил КоА

3. В отруті змій міститься речовина, яка при потраплянні в організм людини викликає гемоліз еритроцитів. При аналізі крові, було виявлено велику кількість лізолецитину. Вкажіть, який фермент призводить до нагромадження у крові лізолецитину:

- A. Фосфоліпаза A₁
- B. Фосфоліпаза A₂
- C. Фосфоліпаза D
- D. Фосфоліпаза C

Е. Нейрамінідаза

4. Лецитин різного походження як поверхневоактивна сполука використовується для виготовлення харчових продуктів (як емульгатор). До якої групи біомолекул належить лецитин?

- A. Сульфоліпіди
- B. Стериди
- C. Триацилгліцероли
- D. Гліколіпіди
- E. Фосфоліпіди

5. Пацієнту похилого віку з метою попередження розвитку жирової інфільтрації печінки рекомендовано вживати в їжу сир. Яка незамінна амінокислота, необхідна для синтезу фосфоліпідів, є у сирі у великій кількості?

- A. Метіонін
- B. Аргінін
- C. Аланін
- D. Аспартат
- E. Пролін

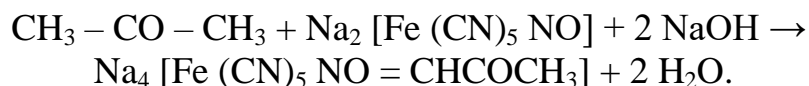
Ситуаційні задачі

1. Жінка віком 22 років доставлена в клініку без свідомості. Страждає на цукровий діабет протягом 8 років. Рівень глюкози в крові – 16,3 ммоль/л, 110 мг кетонових тіл в сечі. Поясніть причину розвитку кетоацидозу при цукровому діабеті.
2. У 11-річної дитини встановлено збільшення розмірів печінки та селезінки, низький вміст лейкоцитів і еритроцитів, ерозія трубчастих кісток та розвиток гематом. В результаті обстеження діагностовано захворювання Гоше. Вкажіть недостатність, якого ензиму призводить до розвитку захворювання і які метаболіти будуть накопичуватись у тканинах пацієнта?

Практична робота

Дослід 1. Якісна реакція на ацетон та ацетоацетатну кислоту (проба Ланге).

Принцип методу. Ацетон та ацетоацетатна кислота з натрію нітропрусидом в лужному середовищі утворюють продукти реакції, забарвлені в червоний колір:



Під дією концентрованої ацетатної кислоти утворюється продукт вишнево-червоного кольору:



Ацетоацетатна кислота (в енольній формі) здатна також утворювати з феруму хлоридом (III) комплексну сполуку вишнево-червоного кольору.

Матеріальне забезпечення: сеча хворого на цукровий діабет і сеча здорової людини, 10 % розчин натрію нітропрусиду (свіжоприготовлений), крижана ацетатна кислота, 10 % розчин NaOH, 50 % розчин амонію сульфату, концентрований розчин аміаку, 10 % розчин феруму хлориду (III), піпетки, пробірки, лійка, фільтрувальний папір.

Хід роботи.

1. Реакція з натрію нітропрусидом (проба Ланге). В 4 пробірки наливають по 0,5 мл досліджуваної сечі, додають по 0,5 мл розчину натрію гідроксиду і 5-7 крапель натрію нітропрусиду. Спостерігають за появою червоного забарвлення, що набуває вишневого відтінку після додавання декількох крапель концентрованої ацетатної кислоти.

2. Реакція з феруму хлоридом (III) (проба Герхарда).

В 4 пробірки наливають по 2,0 мл досліджуваної сечі і додають по краплях 10 % розчин феруму хлориду (III) до припинення утворення осаду фосфатів. Осад відфільтровують, до фільтрату додають ще декілька крапель FeCl₃ та спостерігають за появою вишневого забарвлення.

Зробити висновок.

Дослід 2. Кількісне визначення кетонових тіл у сечі.

Принцип методу. Див. попередній дослід.

Матеріальне забезпечення: див. попередній дослід.

Хід роботи. Беруть 8 пробірок. У всі, крім першої, наливають по 1мл дистильованої води. У першу та другу пробірки додають по 1 мл сечі хворого на цукровий діабет. Таким чином, у першій пробірці сеча не розведена, а в другій розведена у двічі. Після перемішування з другої пробірки відбирають 1 мл суміші і переносять у третю пробірку, з третьої в четверту і т. д. З останньої пробірки 1 мл виливають для урівнювання об'єму з іншими пробірками. Таким чином, сеча в пробірках буде розведеною у 2, 4, 8 (і т. д.) разів.

Потім у кожную пробірку додають по 8 крапель 50 % розчину амонію сульфату для збільшення густини розчинів, по 8 крапель ацетатної кислоти (концентрованої) та натрію нітропрусиду. Вміст пробірок перемішують і в кожную з них обережно по стінках, починаючи з останньої пробірки, нашаровують по 1 мл концентрованого аміаку (реактив відбирати обережно лише за допомогою гумової груші, працюючи з ним під витяжною шафою). Спостерігаючи за пробірками, позначають ту з них, у якій при максимальному розведенні сечі впродовж 3-4 хв ще помітне фіолетове кільце на межі рідин. Звернути увагу, що для успішного проведення дослідіу аміак необхідно нашаровувати обережно, по стінках. Акцентувати увагу на термін отримання фіолетового кільця.

Розрахунок проводять за формулою:

$$X = 0,85 \times A \times 15$$

де,

X – концентрація ацетону в сечі, мг/добу;

0,85 – емпіричне число;

A – розведення сечі;

15 – перерахунок на добову сечу 1500 мл.

Після проведення розрахунків зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. У здорової людини в крові вміст кетонів – 1,3-185 мкмоль/л (1,5-20 мг/л), з сечею виділяється 20-40 мг на добу. Це переважно ацетоацетатна і β-оксимасляна кислоти. Різке зростання концентрації кетонів супроводжується порушенням кислотно-основного стану і розвитком метаболічного кетоацидозу, що є небезпечним, в першу чергу, для нормального функціонування клітин головного мозку. Збільшення кількості кетонів у крові (кетонемія) і появу їх у сечі (кетонурія) спостерігають при цукровому діабеті, тиреотоксикозі, ураженні печінки, важких інтоксикаціях, голодуванні. Зниження кількості кетонів не має клінічного значення.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. На чому ґрунтується виявлення кетонів за пробою Ланге?
 - A. В утворенні забарвленого триметинового комплексу при реакції з тіобарбітуровою кислотою
 - B. У здатності за присутності ацетатного ангідриду і суміші ацетатної і сульфатної кислот утворювати сполуку зеленого кольору
 - C. У здатності ацетону утворювати фіолетове кільце з натрію нітропрусидом при нашаруванні аміаку
 - D. У здатності утворювати дрібнодисперсну емульсію
 - E. В утворенні забарвлених продуктів конденсації з оксиметилфурфуролом.
2. Вказати вміст кетонів за умов норми:
 - A. 1,52-3,62 мкмоль/л
 - B. 0 – 2,5 мкмоль/л
 - C. 3,75-5,40 мкмоль/л
 - D. 1,3-185 мкмоль/л
 - E. 9,8-15,7 мкмоль/л

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Метаболізм сфінголіпідів та причини його порушення.
2. Метаболізм сфінголіпідів в нормі та при патології; клінічне значення, порушення обміну сфінголіпідів.
3. Вроджені та набуті порушення ліпідного обміну.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 347, 356-358, 361-362.
2. Біологічна хімія: підручник. (ВНЗ IV р.а.)/ Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін. – Київ: Нова книга, 2021. – 648 с.
3. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. – 3-те вид., випр. і допов. -Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 736 с.
4. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 194-199, 209-212.
5. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Харків: Основа. – С. 293-297, 314-315.
6. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – с. 46.
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 109-141.
8. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 247-251, 262-268.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. -432 с.
2. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення / За ред. проф. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
3. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
4. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
5. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія. Короткий курс. Частина 1. Навчальний посібник. – К.: Біокомполіт, 2019. – 148 с.
6. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. - 76 с.
7. Функціональна біохімія: підручник / Н.О.Сибірня, Г.Я.Гачкова, І.В.Бродяк та ін.; за ред Н.О.Сибірної –Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. – 644 с.

Наукова фахова:

1. Кочет К. О. Особливості вуглеводного та ліпідного обмінів у хворих на ліпоїдний некробіоз // Дерматологія та венерологія. 2018. № 1. С. 28-30.
Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/dtv_2018_1_7
2. Черний В.И. Этиология, патогенез и интенсивная терапия метаболического ацидоза / В.И. Черний, И.П. Шлапак, М.А. Георгиянц та ін. / Медицина неотложных состояний. – 2016. – Т. 6. – С. 153-166.
3. Харченко Н.В., Анохіна С.В., Бойко С.В. Нові підходи до корекції порушень ліпідного обміну у хворих з метаболічним синдромом. Сучасна гастроентерологія. – 2006.- № 1. – С. 36-39.

4. Cook G.A. Streptozotocin diabetes increases mRNA expression of ketogenic enzymes in the rat heart / G.A. Cook, E.N. Lavrentyev, K. Pham et al. / Biochim. Biophys. Acta. – 2017. – Vol. 2. – P. 307-312.
5. Venuti E. Bile salt stimulated lipase: Inhibition by phospholipids and relief by phospholipase A₂ / E. Venuti, D. Shishmarev, P.W. Kuchel et al. / Journal of Cystic Fibrosis. – 2017. – P. 1-4.

Тема № 15. β-Окиснення та біосинтез жирних кислот. Дослідження обміну жирних кислот

Мета заняття: Вивчити процеси біосинтезу триацилгліцеролів та основні шляхи внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів. Вміти розраховувати енергетичний ефект окиснення жирних кислот.

Мотивація теми. Окиснення та синтез жирних кислот є важливою складовою метаболізму, що забезпечує організм людини резервами метаболічного палива у вигляді енергії АТФ.

Конкретні завдання:

- *Трактувати біохімічні закономірності β-окиснення вищих жирних кислот.*
- *Трактувати біохімічні закономірності біосинтезу вищих жирних кислот і його регуляцію на рівні ацетил-КоА-карбоксилази та синтетази жирних кислот.*
- *Вміти розраховувати енергетичний ефект окиснення жирних кислот.*

Теоретичні питання

1. Реакції β-окиснення жирних кислот: локалізація процесу; активація жирних кислот; роль карнітину в транспорті жирних кислот у мітохондрії; послідовність ферментативних реакцій та енергетична вартість β-окиснення жирних кислот.
2. Окиснення гліцеролу: ферментативні реакції, біоенергетика.
3. Біосинтез вищих жирних кислот:
 - локалізація процесу;
 - метаболічні джерела синтезу жирних кислот; джерела НАДФН;
 - стадії синтезу насичених жирних кислот;
 - характеристика синтетази ВЖК, значення ацилтранспортуючого білка, біотину;
 - послідовність ферментативних реакцій біосинтезу вищих жирних кислот;
 - регуляція процесу біосинтезу на рівні ацетил-КоА-карбоксилази та синтетази жирних кислот;
 - елонгація насичених жирних кислот;
 - біосинтез моно- та поліненасичених жирних кислот в організмі людини.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Реакції β-окиснення жирних кислот:**

- локалізація процесу;
- активація жирних кислот;
- роль карнітину в транспорті жирних кислот у мітохондрії;
- послідовність ферментативних реакцій
- енергетична вартість β -окиснення жирних кислот

2. Окиснення гліцеролу: ферментативні реакції, біоенергетика.

- Написати ферментативні реакції окиснення гліцеролу до пірувату.
- Вказати енергетичний баланс окиснення гліцеролу.

3. Біосинтез вищих жирних кислот:

- локалізація процесу;
- метаболічні джерела синтезу жирних кислот; джерела НАДФН;
- стадії синтезу насичених жирних кислот;
- характеристика синтетази ВЖК, значення ацилтранспортуючого білка, біотину;
- послідовність ферментативних реакцій біосинтезу вищих жирних кислот;
- регуляція процесу біосинтезу на рівні ацетил-КоА-карбоксилази та синтетази жирних кислот;
- елонгація насичених жирних кислот;
- біосинтез моно- та поліненасичених жирних кислот в організмі людини.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Жири є необхідним енергетичним матеріалом для організму. Який основний шлях перетворення жирних кислот у мітохондріях клітини?

- A. Відновлення
- B. Декарбоксилювання
- C. β -Окиснення
- D. α -Окиснення
- E. γ -Окиснення

2. Для активації та переносу ВЖК через мітохондріальну мембрану потрібні вітаміни та вітаміноподібні сполуки. Вкажіть одну з них:

- A. Біотин
- B. Карнітин
- C. Рибофлавін
- D. Убіхінон
- E. Тіамін

3. Вітамін F - це комплекс біологічно активних поліненасичених жирних кислот, які є аліментарними незамінними факторами. Вкажіть жирні кислоти, які входять до складу цього комплексу:

- A. Масляна, пальмітоолеїнова, капронова
- B. Олеїнова, стеаринова, пальмітинова

- С. Лінолева, ліноленова, арахідонова
- Д. Олеїнова, пальмітоолеїнова, стеаринова
- Е. Кротонова, олеїнова, міристинова

4. Внутрішньоклітинний метаболізм гліцерину починається з його активації. Яка сполука утворюється в першій реакції його перетворення?

- А. Холін
- В. Ацетилкоензим А
- С. Альфа-гліцеролфосфат
- Д. Лактат
- Е. Піруват

5. Обмін гліцерину у тканинах тісно пов'язаний з гліколізом. Який метаболіт проміжного обміну гліцерину безпосередньо включається в гліколіз?

- А. Піруват
- В. Дигідроксиацетонфосфат
- С. Триацилгліцерол
- Д. Діацилгліцерол
- Е. Фосфоенолпіровиноградна кислота

Ситуаційні задачі

1. Дитина 2 років була госпіталізована до лікарні зі скаргами на складність виконання рухів. Два місяці тому мати зауважила у нього проблеми підніматися по сходах, встати з крісла. З того часу спостерігалось поступове погіршення, а зараз у нього виникла проблема навіть під час ходьби. Дослідження показало дефіцит карнітину у м'язах дитини. Поясніть роль карнітину та механізм розвитку патології.
2. Жінці 58 років, яка перенесла інфаркт міокарда, лікар призначив аспірин. Аспірин - це нестероїдний протизапальний препарат, який інгібує циклооксигеназу під час метаболізму арахідонової кислоти. Пригнічення синтезу, якого класу сполук викликає аспірин?

Практична робота

Ситуаційні задачі з розрахунку енергетичного ефекту бета-окиснення міристинової (C14), пальмітинової (C16), стеаринової (C18) жирних кислот.

При обчисленні виходу АТФ при окисненні ненасичених кислот можна скористатися формулою для розрахунку виходу енергії при окисненні насичених жирних кислот, мінус 2 АТФ на кожний подвійний зв'язок:

$$[(n/2) - 1] \times 5 + (n/2) \times 12 - 1,$$

де n – число атомів С (карбону) у молекулі жирної кислоти;

n/2-1 – число циклів β-окиснення;

5 – вихід АТФ в одному циклі β-окиснення;

n/2 – число ацетильних залишків;

12 – вихід АТФ при повному окисненні ацетил-КоА у цитратному циклі до CO₂ і H₂O.

Значення для фармації та клініки. Зустрічаються патології, пов'язані зі зниженням транспорту вищих жирних кислот у матрикс мітохондрій. Вони можуть бути викликані: дефіцитом карнітину в результаті сповільнення його синтезу, втратою цієї речовини при гемодіалізі або за рахунок екскреції з кетоновими тілами; малою активністю карнітинацилтрансферази, пов'язаною з дефектом у структурі гена цього ферменту або його інгібування деякими лікарськими препаратами, наприклад, сульфонілсечовиною, при лікуванні цукрового діабету; дефектом у структурі гена ацил-КоА-дегідрогенази, що окиснює жирні кислоти із середнім числом атомів С4-С12. Встановлено, що причиною смерті кожної десятої новонародженої дитини є недостатність цього ферменту. У жирах молока є багато середньоланцюгових жирних кислот, які не можуть окиснюватися в таких дітей. Єдиним джерелом енергії для них стають вуглеводи.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Вказати енергетичний баланс окиснення пальмітинової кислоти?
 - A. 96 молекул АТФ
 - B. 130 молекул АТФ
 - C. 21 молекул АТФ
 - D. 137 молекул АТФ
 - E. 147 молекул АТФ

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Біологічні функції поліненасичених жирних кислот, джерела та їх застосування як фармацевтичних засобів. Карнітин та його роль у метаболізмі жирних кислот.
2. Первинна та вторинна недостатність карнітину, причини виникнення, основні симптоми та лікування.
3. Застосування карнітину у клінічній практиці та перспективи фармакотерапії.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 351-355, 359.
2. Біологічна хімія: підручник. (ВНЗ ІV р.а.)/ Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін. – Київ: Нова книга, 2021. – 648 с.
3. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. – 3-тє вид., випр. і допов. -Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 736 с.
4. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 199-209.
5. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Харків: Основа. – С. 306-313.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів ІІІ-ІV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 109-141.

7. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 252-257, 259-261.

Додаткова:

1. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення / За ред. проф. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
2. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. - 432 с.
3. Колосова Н.Г. Возрастные изменения окислительности белков и липидов в печени преждевременно стареющих крыс // Биомед. химия. – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 73 – 78.
4. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
5. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія. Короткий курс. Частина 1. Навчальний посібник. – К.: Біокомполіт, 2019. – 148 с.
6. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. - 76 с.
7. Функціональна біохімія: підручник / Н.О.Сибірня, Г.Я.Гачкова, І.В.Бродяк та ін.; за ред Н.О.Сибірної –Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. – 644 с.

Наукова фахова:

1. Cook G.A. Streptozotocin diabetes increases mRNA expression of ketogenic enzymes in the rat heart / G.A. Cook, E.N. Lavrentyev, K. Pham et al. / Biochim. Biophys. Acta. – 2017. – Vol. 2. – P. 307-312.
2. Lehmann D. Muscle Carnitine Palmitoyltransferase II Deficiency: A Review of Enzymatic Controversy and Clinical Features / D. Lehmann, L. Motlagh, D. Robaa et al. / Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18. – P. 82.
3. Гула Н.М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах: [монографія] / Н.М. Гула, В.М. Маргітич. - К.: Наукова думка, 2009. - 336 с.
4. Курята О. В., Гречаник М. М. Вплив омега-3 поліненасичених жирних кислот на показники ліпідного спектра крові, динаміку рівня лептину та функцію ендотелію у хворих на ішемічну хворобу серця у поєднанні з неалкогольним стеатозом печінки // Семейная медицина. 2018. № 3. С. 19-24. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/simmed_2018_3_6
5. Ледяев М.Я. Роль L-карнитина в лечении постнатальной гипотрофии у недоношенных детей после выписки из неонатологического стационара / М.Я. Ледяев, Т.Е. Заячникова / Вопросы практической педиатрии. – 2017. – Т.12. – С. 7-12.
6. Черний В.И. Этиология, патогенез и интенсивная терапия метаболического ацидоза / В.И. Черний, И.П. Шлапак, М.А. Георгиянц та ін. / Медицина неотложных состояний. – 2016. – Т. 6. – С. 153-166.

Тема № 16. Біосинтез та біотрансформація холестеролу. Регуляція та патології ліпідного обміну

Мета заняття. Вивчити шляхи біотрансформації холестеролу та основні порушення ліпідного обміну.

Мотивація теми. Порушення процесів біотрансформації холестеролу зумовлює низку захворювань, серед яких атеросклероз, ожиріння тощо. Тому дослідження показників ліпідного обміну є необхідним для діагностики та лікування різних захворювань.

Конкретні завдання:

- *Трактувати етапи біосинтезу холестеролу.*
- *Пояснювати регуляцію синтезу холестеролу в організмі людини.*
- *Аналізувати шляхи біотрансформації холестеролу: етерифікацію, утворення жовчних кислот, стероїдних гормонів, вітаміну D₃ ; екскреція холестеролу з організму.*
- *Аналізувати зміни в системі циркуляторних транспортних ліпідів: ХМ, ЛПДНЩ, ЛПНЩ, ЛПВЩ при патологіях, пояснювати їх функціональне значення.*
- *Пояснювати біохімічні основи виникнення та розвитку генетичних аномалій обміну ліпідів, ліпопротеїнів, холестеролу (ліпопротеїнемії), а також набуті порушення обміну ліпідів: атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет.*

Теоретичні питання

1. Біосинтез холестеролу в організмі людини: локалізація цього процесу, значення; етапи синтезу холестеролу; ферментативні реакції синтезу мевалонової кислоти; регуляція синтезу холестеролу.
2. Шляхи біотрансформації холестеролу (етерифікація, утворення жовчних кислот та стероїдних гормонів, синтез вітаміну D₃, екскреція з організму).
3. Атеросклероз: механізми розвитку, роль генетичних факторів, гіперхолестеринемії, класифікація ВООЗ.
4. Порушення ліпідного обміну при цукровому діабеті.
5. Патологічні процеси обміну ліпідів, які ведуть до розвитку ожиріння. Жировий гепатоз, ліпотропні фактори.
6. Ліпопротеїни плазми крові: ліпідний та білковий (апопротеїни) склад. Гіперліпопротеїнемії.
7. Застосування фармацевтичних препаратів для корекції порушень обміну ліпідів.
8. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та механізм дії системи антиоксидантного захисту.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Біосинтез холестеролу в організмі людини:

- локалізація цього процесу, значення;

- етапи синтезу холестеролу;
- ферментативні реакції синтезу мевалонової кислоти;
- регуляція синтезу холестеролу.

2. Шляхи біотрансформації холестеролу (етерифікація, утворення жовчних кислот та стероїдних гормонів, синтез вітаміну D₃, екскреція з організму).

- В конспекті представити шляхи етерифікації холестерину: зовнішньо- та внутрішньоклітинна етерифікація, ензими, що забезпечують її здійснення.
- Представити шляхи біотрансформації холестеролу:
 - етерифікація,
 - утворення жовчних кислот та стероїдних гормонів,
 - синтез вітаміну D₃.
- Схематично зобразити метаболічну карту біотрансформації холестерину.
- Екскреція холестерину з організму.

3. Атеросклероз: механізми розвитку, роль генетичних факторів, гіперхолестеринемії, класифікація ВООЗ.

- *Атеросклероз – це...*
- Механізми розвитку атеросклерозу, роль генетичних факторів.
- Охарактеризувати порушення ліпідного обміну при атеросклерозі
- Біологічна роль ЛПНЩ та ЛПВЩ у патогенезі атеросклерозу.

4. Порушення ліпідного обміну при цукровому діабеті.

- Цукровий діабет – це...
- Причини виникнення порушень метаболізму ліпідів при цукровому діабеті.

5. Патологічні процеси обміну ліпідів, які ведуть до розвитку ожиріння. Жировий гепатоз, ліпотропні фактори.

- В конспекті дати визначення ожирінню, вказати причини ожиріння.
- *Жировий гепатоз – це...*
- Дати характеристику основних причин виникнення жирового гепатозу печінки.
- *Ліпотропні фактори – це...* Навести приклади.

6. Ліпопротеїни плазми крові: ліпідний та білковий (апопротеїни) склад. Гіперліпопротеїнемії.

- *Ліпопротеїни – це...*
- Основні класи ліпопротеїнів крові, схема будови ліпопротеїнів плазми крові.
- Біохімічна характеристика гіперліпопротеїнемій.

7. Застосування фармацевтичних препаратів для корекції порушень обміну ліпідів.

- Представити основні групи лікарських засобів, які знижують рівень ліпідів.
- Пояснити механізм їхньої дії.

8. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та механізм дії системи антиоксидантного захисту.

- Описати механізми реакцій вільнорадикального окиснення та пероксидного окиснення ліпідів.
- Характеристика ферментативної та неферментативної антиоксидантної системи захисту організму.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Для профілактики атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, порушень мозкового кровообігу рекомендується споживання жирів із високим вмістом поліненасичених жирних кислот. Однією з таких жирних кислот є:

- A. Олеїнова
- B. Лінолева
- C. Пальмітинова
- D. Стеаринова
- E. Пальмітоолеїнова

2. При обстеженні хворого виявлено підвищений вміст ліпопротеїнів низької щільності в сироватці крові. Яке захворювання можна очікувати у цього хворого?

- A. Запалення легень
- B. Атеросклероз
- C. Гастрит
- D. Гострий панкреатит
- E. Ураження нирок

3. Скарги та об'єктивні дані дозволяють припустити наявність у хворого запального процесу у жовчному міхурі, порушення колоїдних властивостей жовчі, ймовірність утворення жовчних каменів. Що головним чином може спричинити їх утворення?

- A. Урати
- B. Оксалати
- C. Хлориди
- D. Фосфати
- E. Холестерол

4. Спадкова гіперліпопротеїнемія I типу обумовлена недостатністю ліпопротеїніпази. Підвищення рівня яких транспортних форм ліпідів в плазмі навіть натщесерце є характерним?

- A. Ліпопротеїни низької густини
- B. Ліпопротеїни дуже низької густини

- C. Хіломікрони
- D. Ліпопротеїни високої густини
- E. Ліпопротеїни проміжної густини

Ситуаційні задачі

1. У відділення реанімації надійшов чоловік 47-ми років, який скаржиться на біль за грудниною, потовиділення та посилене серцебиття. У сироватці крові хворого визначено підвищену активність ізоферменту ЛДГ₁, КФК-МВ, рівень холестерину 12,3 ммоль/л, збільшення ЛПНЩ. Поставлено діагноз інфаркт міокарда. Лікар призначив пацієнту статини. Поясніть механізм дії статинів.
2. У хворого 68-ти років виявлено атеросклероз судин серця та головного мозку. При обстеженні відмічено зміни ліпідного спектру крові. Збільшення, яких ліпопротеїнів відіграє суттєве значення в патогенезі атеросклерозу?

Практична робота

Дослід 1. Якісна реакція на жовчні кислоти (реакція Петенкофера).

Принцип методу. Реакція базується на утворенні забарвлених продуктів конденсації у разі взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом. Останній утворюється з фруктози, що є продуктом гідролізу внаслідок додавання до сахарози концентрованої сульфатної кислоти.

Матеріальне забезпечення: жовч, 20 % розчин сахарози, концентрована H₂SO₄, пробірки.

Хід роботи. У пробірку наливають 5-6 крапель жовчі, додають 10-15 крапель свіжого розчину сахарози і злегка струшують. В іншу пробірку вміщують 10-15 крапель сульфатної кислоти. Розчин, що містить жовч, нашаровують на сульфатну кислоту. На межі розподілу рідин утворюється осад жовчних кислот і з'являється червоно-фіолетове кільце. У разі обережного струшування рідина набуває вишнево-червоного забарвлення.

Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Головним емульгатором ліпідів є жовч, яка містить жовчні кислоти, що утворюються в печінці (10-15 г за добу). До них належать: холева, дезоксихолева, хенодезоксихолева, літохолева тощо. Вони виділяються з жовчю у вільному стані та у вигляді парних жовчних кислот, зв'язаних з гліцином або з таурином. Жовчні кислоти емульгують ліпиди, активують панкреатичну ліпазу, беруть активну участь у процесі всмоктування жирних кислот, утворюють холеїнові комплекси, стабілізують холестерол. Дефіцит жовчі в кишківнику може бути пов'язаний із захворюваннями печінки (механічна жовтяниця, гепатити, цироз), жовчного міхура або жовчних шляхів (жовчокам'яна хвороба, пухлини жовчовивідних шляхів). При цьому копрологічні дослідження виявляють зменшення або відсутність у калі жовчних пігментів (ахолічний кал) та високий вміст мил, особливо кальцієвих.

Дослід 2. Визначення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ).

Принцип методу. Метод полягає у здатності ЛПНЩ осаджуватись в присутності CaCl_2 і гепарину, спричиняючи мутність розчину, ступінь якої пропорційна вмісту ЛПНЩ.

Матеріальне забезпечення: Сироватка крові; 0,025 М розчин кальцію хлориду; піпетки; мікропіпетки.

Хід роботи. У пробірку наливають 2 мл 0,025 М розчину кальцію хлориду, додають 0,2 мл сироватки крові, ретельно перемішують і вимірюють оптичну густина (E_1) на ФЕКу при довжині хвилі 630-690 нм (червоний світлофільтр) в кюветі товщиною 0,5 см проти дистильованої води. Розчин з кювети переливають у пробірку, доливають мікропіпеткою 0,04 мл 1% розчину гепарину, перемішують і рівно через 4 хв. Визначають оптичну густина розчину (E_2) за аналогічних умов.

Різниця екстинкцій ($E_1 - E_2$) відповідає оптичній густині, зумовленій вмістом ЛПНЩ. Розрахунок проводять за формулою:

$$X = (E_1 - E_2) \cdot 100.$$

Вміст ЛПНЩ виражають в одиницях оптичної густини перемножених на розведення (100). В нормі вміст ЛПНЩ складає 35-55 ум.од.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. ЛПНЩ синтезуються у печінці і складають близько 5% білків плазми крові. В ліпідній частині ЛПНЩ переважають стерини і стериди: холестерол та його ефіри – 45%, фосфоліпіди – 25%, тригліцериди – 10%. Високий вміст холестеролу та невеликий розмір молекули сприяють їх інфільтрації в інтиму аорти, що зумовлює розвиток атеросклерозу. У зв'язку з цим цю фракцію ліпопротеїнів називають атерогенними ліпопротеїнами.

За умов норми вміст ЛПНЩ і ЛПВЩ становить 3,6 та 2,6 г/л, відповідно. Співвідношення між ЛПНЩ і ЛПВЩ в організмі має важливе значення. Підвищення концентрації ЛПНЩ спостерігають при атеросклерозі, механічній жовтяниці, гепатитах, діабеті, ожирінні та ін.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Якою якісною реакцією можна виявити жовчні кислоти в біологічних рідинах?
2. В результаті копрологічного дослідження встановлено наявність крапель жиру в калових масах. Як називається такий стан та які причини його виникнення?
3. Яке значення ЛПНЩ у розвитку атеросклерозу?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Сучасні антигіперліпідемічні фармацевтичні засоби та їх застосування в регуляції порушень обміну ліпідів.
2. Антиоксидантна система. Роль прооксидантів та антиоксидантів у розвитку патологічних процесів.
3. Класифікація, причини, діагностика гіперхолестеринемії.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 362-368.
2. Біологічна хімія: підручник. (ВНЗ IV р.а.)/ Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін. – Київ: Нова книга, 2021. – 648 с.
3. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. – 3-тє вид., випр. і допов. -Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 736 с.
4. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – С. 212-227.
5. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Харків: Основа. – С. 313-314, 316-320.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярів О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 109-141.
7. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 257-259, 261-269.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Медицина, 2006. - 432 с.
2. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення / За ред. проф. Склярів О.Я., Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
3. Малюкова Н. Г. Возрастные особенности состояния перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной системы при хронической сердечной недостаточности // Проблемы старения и долголетия. – Т. 14, № 2. – 2005. – С. 143 – 150.
4. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / за ред. Склярів О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
5. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярів. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
6. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія. Короткий курс. Частина 1. Навчальний посібник. – К.: Біокомполіт, 2019. – 148 с.
7. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. - 76 с.
8. Функціональна біохімія: підручник / Н.О.Сибірніа, Г.Я.Гачкова, І.В.Бродяк та ін.; за ред Н.О.Сибірної –Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. – 644 с.

Наукова фахова:

1. Бедзай А. О. Особливості порушення ліпідного обміну, ліпідотранспортної системи та системного запалення у практично здорових жінок залежно від звички куріння [Електронний ресурс] / А. О. Бедзай, Т. М. Соломенчук, О. М. Колінковський // Львівський клінічний вісник. - 2020. - № 3. - С. 19-24. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/lkv_2020_3_5

2. Дутка Р. Я. Діагностична цінність та кореляційна взаємозалежність показників ендокринного та ліпідного обміну при метаболічному синдромі, ускладненому хронічною ішемічною хворобою серця і цукровим діабетом 2-го типу [Електронний ресурс] / Р. Я. Дутка, Н. В. Чмир // Буковинський медичний вісник. - 2018. - Т. 22, № 4. - С. 27-34. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2018_22_4_6
3. Ефективність метаболічного впливу S-аденозилметіоніну та мельдонію на показники ліпідного спектра крові та інсулінорезистентності за коморбідного перебігу неалкогольного стеатогепатиту, ожиріння та хронічної хвороби нирок I–II стадій / О. С. Хухліна, А. А. Антонів, О. С. Воєвідка, О. Б. Кузьмінська // Запорожский медицинский журнал. 2018. Т. 20, № 1. С. 51-57. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zmzh_2018_20_1_11
4. Кедик А. В. Стан ліпідного обміну у пацієнтів з ожирінням та коморбідною патологією, які мешкають у різних висотних регіонах Закарпаття : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.02 / Кедик Антоніна Володимирівна ; Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. - Львів, 2019. - 21 с.
5. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії: [монографія] / А. Л. Загайко [и др.]. - Х. : Видавництво НФаУ ; Х. : Золоті сторінки, 2007. - 216 с.
6. Процеси перекисного окиснення ліпідів у живих організмах: [монографія] / Н. П. Головачук, А. В. Тарновська, Г. І. Коцюмбас [та ін.]. – Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2012. – 250 с.
7. Серкова В. К. Ліпіди крові як критерій коронарного атеросклерозу у хворих хронічним обструктивним захворюванням легень [Електронний ресурс] / В. К. Серкова, А. А. Лілевська, В. О. Романова // Вісник проблем біології і медицини. - 2019. - Вип. 2(1). - С. 196-199. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2019_2\(1\)_43](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2019_2(1)_43)
8. Сірчак Є. С. Корекція порушень ліпідного обміну у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки [Електронний ресурс] / Є. С. Сірчак, В. І. Грига, С. С. Сірчак // Проблеми клінічної педіатрії. - 2020. - № 1-2. - С. 47-52. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/pkr_2020_1-2_8
9. Чернацька О. М. Особливості ліпідного обміну в осіб з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом 2-го типу // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2018. Т. 6, № 2. С. 238–244. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/VSU_med_2018_6_2_9
10. Binder C.J. Lipid modification and lipid peroxidation products in innate immunity and inflammation / C.J. Binder // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2017. – Vol. 1862. – P. 369-370.
11. Yang W.S. Ferroptosis: death by lipid peroxidation / W.S. Yang, B.R. Stockwell // Trends in cell biology. – 2016. – Vol. 26. – P. 165-176.

12. Helgadottir A. Variants with large effects on blood lipids and the role of cholesterol and triglycerides in coronary disease / A. Helgadottir, S. Gretarsdottir, G. Thorleifsson et al. // Nature genetics. – 2016. – Vol. 48. – P. 634-639.
13. Kats D. Abstract MP37: The Triglyceride to High-density Lipoprotein Cholesterol Ratio, an Estimate of Insulin Resistance, is Associated with Incident Coronary Heart Disease / D. Kats, J.W. Knowles, G.M. Reaven et al. // The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. – 2016. – Vol.133. – P. AMP37.
14. Smriti K. Role of salivary malondialdehyde in assessment of oxidative stress among diabetics / K. Smriti, K.M. Pai, V. Ravindranath et al. // Journal of oral biology and craniofacial research. – 2016. – Vol. 6. – P. 42-45.

ЗМІСТ

Вступ.....	1
Дидактичні компоненти при вивченні «Біологічної хімії».....	3
Опис навчального плану з дисципліни — Біологічна хімія для студентів фармацевтичних факультетів за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».....	5
Тематичний план лекцій.....	5
Тематичний план практичних занять.....	6
Тематичний план самостійної роботи студентів.....	7
Критерії оцінювання успішності студентів.....	9
Загальні правила техніки безпеки при роботі студентів у навчальній хімічній лабораторії.....	10
Тема №1. Вступ до біохімії. Методи проведення біохімічних досліджень.	11
Тема № 2. Ферменти: будова, фізико-хімічні властивості, класифікація та механізм дії білків-ферментів. Методи виявлення ферментів у біологічних об'єктах.....	31
Тема № 3. Кінетика ферментативних реакцій. Регуляція та визначення активності ферментів.....	39
Тема № 4. Регуляція ферментативних процесів та аналіз механізмів виникнення ензимопатій. Використання ферментів як фармпрепаратів.....	46
Тема № 5. Дослідження функціональної ролі водорозчинних (коферментних) у метаболізмі та реалізації клітинних функцій. Водорозчинні вітаміни як фармпрепарати. Роль кофакторів та коферментних вітамінів у прояві каталітичної активності ферментів.....	55
Тема №. 6 Дослідження функціональної ролі жиророзчинних вітамінів у метаболізмі та реалізації клітинних функцій. Жиророзчинні вітаміни як фармпрепарати. Антивітаміни. Вітаміноподібні речовини та біологічно активні добавки до їжі (БАДи).....	61
Тема № 7. Процеси біологічного окиснення. Загальні закономірності обміну речовин та енергії. Функціонування циклу трикарбонових кислот.....	66
Тема № 8. Молекулярні основи біоенергетики. Ферменти біологічного окиснення; молекулярна організація ланцюга біологічного окиснення. Окисне фосфорилювання, його регуляція. Інгібітори та роз'єднувачі дихання і окисного фосфорилювання дихального ланцюга мітохондрій.....	74
Тема № 9 Дослідження гліколізу – анаеробного окиснення вуглеводів.....	83
Тема № 10 Дослідження аеробного окиснення глюкози та альтернативних шляхів обміну моносахаридів.....	89
Тема № 11 Катаболізм та біосинтез глікогену. Регуляція обміну глікогену. Біосинтез глюкози – глюконеогенез.....	96
Тема № 12. Механізми метаболічної та гормональної регуляції обміну вуглеводів. Порушення обміну вуглеводів.....	102
Тема № 13. Катаболізм і біосинтез триацилгліцеролів та фосфоліпідів. Внутрішньоклітинний ліполіз та молекулярні механізми його регуляції.....	108
Тема № 14. Обмін складних ліпідів та кетонових тіл.....	117

Тема № 15. β -Окиснення та біосинтез жирних кислот. Дослідження обміну жирних кислот та кетонових тіл.....	123
Тема № 16. Біосинтез та біотрансформації холестеролу. Регуляція та патології ліпідного обміну.....	128
Зміст.....	136