

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

навчально-методичний посібник
до практичних занять та самостійної роботи
для студентів медичного факультету
другого (магістерського) рівня

Частина II

Львів - 2017

УДК 612.015 (075)
Б 63

Посібник підготували:

Л.П.Білецька, Т.І.Бондарчук, Н.М.Гринчишин, Н.В.Денисенко, І.І.Ільків,
Д.О.Климишин, Л.І.Кобилінська, О.Є.Мазур, Т.М.Макаренко, Х.М.Насадюк,
Ю.М.Федевич, О.П.Хаврона, І.С.Фоменко.

За редакцією акад. УАН, д-ра мед.наук, д-ра мед. наук проф. О.Я.Склярова

Рецензенти:

Г.С. Маслак – завідувач кафедри біохімії та медичної хімії, д.мед.н., доц.
Дніпропетровської медичної академії

І.В.Геруш – завідувач кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної
біохімії, к.мед.н., доц. Буковинського державного медичного університету

Рекомендовано до друку Вченою радою Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
(ВР -) від 26.10.2017

ВСТУП

У другій частині навчально- методичного посібника «Біологічна хімія» до практичних занять та самостійної роботи другого (магістерського) рівня для студентів медичного включені: перелік практичних навичок якими студенти мають оволодіти під час лабораторного практикуму та п`ять розділів біохімії - «Обмін азотистих основ нуклеотидів. Загальні закономірності матричних синтезів в живих організмах та його регуляція», «Біохімія міжклітинних комунікацій. Біохімія ендокринної системи. Нейроендокринна регуляція метаболізму за умов норми та при патології», «Біохімія травлення за умов норми та при патології», «Біохімія крові» та «Біохімія тканин, органів та ряду фізіологічних процесів».

Кожен розділ вміщує відповідну кількість тем, які методично побудовані подібно до частини першої посібника.

Використання посібника полегшить сприйняття та рівень засвоєння навчального матеріалу, оволодіння практичними навичками та підготовку студентів до ліцензійного іспиту «Крок-1».

Автори будуть вдячні за висловлені зауваження та пропозиції.

ЗМІСТ

Вступ	3
Перелік практичних навичок якими студенти мають оволодіти під час лабораторного практикуму	5
Розділ 6. Обмін азотистих основ, нуклеотидів. Загальні закономірності матричних синтезів в живих організмах та його регуляція.	6
Тема № 1. Дослідження біохімічного складу пуринових та піримідинових нуклеотидів. Біохімічні функції нуклеотидів та нуклеїнових кислот.	6
Тема № 2. Дослідження метаболізму пуринових та піримідинових нуклеотидів. Визначення кінцевих продуктів їх обміну. Спадкові порушення їх обміну.	16
Тема № 3. Дослідження реплікації ДНК та транскрипції РНК. Аналіз механізмів мутацій, репарацій ДНК. Засвоєння принципів отримання рекомбінантних ДНК, трансгенних білків.	20
Тема № 4. Біосинтез білка у рибосомах. Дослідження процесів ініціації, елонгації та термінації в синтезі поліпептидного ланцюга. Інгібіторна дія антибіотиків. Засвоєння принципів генної інженерії та клонування генів, їх застосування в сучасній медицині.	26
Розділ 7. Біохімія міжклітинних комунікацій. Біохімія ендокринної системи. Нейроендокринна регуляція метаболізму за умов норми та при патології.	33
Тема № 5. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії гормонів білково-пептидної природи на клітини-мішені. Механізми дії гормонів – похідних амінокислот та біогенних амінів. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію.	33
Тема № 6. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів на клітини-мішені.	39
Тема № 7. Дослідження нервової тканини. Патохімія психічних порушень.	44
Розділ 8. Біохімія травлення за умов норми та при патології	47
Тема № 8. Дослідження процесу перетравлення поживних речовин (білків, вуглеводів, ліпідів) у травному тракті.	48
Тема № 9. Дослідження функціональної ролі водорозчинних (коферментних) та жиророзчинних вітамінів у метаболізмі та реалізації клітинних функцій.	54
Розділ 9. Біохімія крові.	59
Тема № 10. Дослідження кислотно-основного стану крові та дихальної функції еритроцитів. Патологічні форми гемоглобінів.	59
Тема № 11. Дослідження білків плазми крові: білки гострої фази запалення, власні та індикаторні ферменти. Дослідження небілкових азотовмісних і безазотистих компонентів крові.	64
Тема № 12. Дослідження згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові. Дослідження біохімічних закономірностей реалізації імунних процесів. Імунодефіцитні стани.	72
Розділ 10. Біохімія тканин, органів та деяких фізіологічних процесів	77
Тема № 13. Дослідження обміну кінцевих продуктів катаболізму гему. Патобіохімія жовтяниць.	77
Тема № 14. Дослідження процесів біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних метаболітів. Мікросомальне окиснення, цитохром Р-450.	83
Тема № 15. Дослідження водно-сольового та мінерального обмінів.	86
Тема № 16. Сечоутворювальна функція нирок. Нормальні та патологічні компоненти сечі.	91
Тема № 17. Дослідження процесів м'язового скорочення.	100
Тема № 18. Дослідження біохімічних складників сполучної тканини.	104
Література	

**Перелік практичних навичок,
якими повинні оволодіти студенти під час лабораторного практикуму**

1. Визначення кислотності шлункового вмісту: загальної кислотності, вільної та зв'язаної соляної кислоти. Поясніть принцип методу.
2. Виявлення в шлунковому вмісті молочної кислоти. Поясніть принцип методу. При яких патологічних станах в шлунку виявляється молочна кислота?
3. Виявлення в шлунковому вмісті "кров'яних пігментів" (бензидиновою пробую). Поясніть принцип методу. Яка чутливість цього методу?
4. Пояснити принцип уреазного методу виявлення в шлунковому соку *Helicobacter pylori*. Клініко-діагностичне значення визначення цієї бактерії у шлунковому вмісті.
5. Виявлення вітаміну С реакцією з метиленовим синім. Поясніть принцип методу.
6. Виявлення вітаміну Е реакцією з феруму хлоридом. Поясніть принцип методу.
7. Клініко-діагностичне значення визначення концентрації гемоглобіну крові, похідних гемоглобіну, гемінової групи гемоглобіну. Поясніть принцип методу.
8. Клініко-діагностичне значення використання колоїдних (осадових) проб.
9. Клініко-діагностичне значення визначення альбумінів і глобулінів крові.
10. Принцип методу визначення залишкового азоту крові. Клініко-діагностичне значення його визначення.
11. Виявлення вітаміну К (вікасол) реакцією з лужним розчином цистеїну. Поясніть принцип методу.
12. Патологічні компоненти сечі – кров, гемоглобін, креатин. Шляхи їх проникнення в сечу; причини їх появи.
13. Клініко-діагностичне значення їх виявлення у сечі вуглеводів. Характеристика глюкозурій, галактозурії, фруктозурії, пентозурії, причини їх появи.
14. Клініко-діагностичне значення виявлення і визначення в сечі: індикану, фенілпіровиноградної, та гомогентизинової кислот.
15. Клініко-діагностичне значення визначення у сечі кетонових тіл, жовчних кислот і жовчних пігментів.
16. Визначення вмісту білірубину та його фракцій в сироватці крові колориметричним діазометодом. Поясніть принцип методу.
17. Пояснити спосіб оцінювання детоксикаційної функції печінки за утворенням гіпурової кислоти (Проба Квіка).
18. Фізико-хімічні властивості сечі в нормі і при патології (кількість, реакція кислотності, колір, запах, густина та ін.)
19. Виявлення білка в сечі при її кип'ятінні, реакціями з сульфосаліциловою та азотною кислотами. Клінічне застосування цих методів.
20. Виявлення крові в сечі (бензидинова проба).
21. Виявлення жовчних кислот в сечі. Принцип методу. Клініко-діагностичне значення.

РОЗДІЛ 6. ОБМІН АЗОТИСТИХ ОСНОВ, НУКЛЕОТИДІВ. ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ МАТРИЧНИХ СИНТЕЗІВ В ЖИВИХ ОРГАНІЗМАХ ТА ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ.

Тема № 1. Дослідження біохімічного складу пуринових та піримідинових нуклеотидів. Біохімічні функції нуклеотидів та нуклеїнових кислот.

Мета заняття: Знати хімічну будову складових частин нуклеопротеїнів, будову і функціонування нуклеїнових кислот, їх роль у матричних синтезах. Уміти провести якісні реакції на складові частини нуклеопротеїнів.

Актуальність теми: Нуклеопротеїни – це складні білки, в яких небілкова частина представлена нуклеїновими кислотами (ДНК і РНК). ДНК, що локалізується в ядрі, зберігає генетичну інформацію про особливості будови всього організму. Різні види РНК відіграють важливу роль у біосинтезі білка.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Знати хімічну будову складових частин нуклеопротеїнів, будову і функціонування нуклеїнових кислот, їх роль в процесах біосинтезу білка.
- Знати фізико-хімічні властивості нуклеїнових кислот
- Вміти виділити нуклеопротеїни з тканин і провести якісні реакції на їх складові компоненти: а) біуретова проба на поліпептиди; б) реакція Тромера на пентози; в) срібна проба на пуринові основи; г) молібденова проба на фосфатну кислоту.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Знати приклади застосування похідних азотистих основ у медицині.

Базові знання

Дисципліна: біологія, біологічна, біоорганічна хімії.

Отримані навички: вміти писати структурні формули азотистих основ, нуклеозидів та нуклеотидів, вільних нуклеотидів, знати особливості первинної, вторинної, третинної структури ДНК та різних видів РНК.

Теоретичні питання

1. Структура та номенклатура азотистих основ, нуклеозитів і нуклеотидів. Мінорні азотисті основи та нуклеотиди.
2. Вільні біологічно активні нуклеотиди та їх біохімічні функції: участь у метаболічних реакціях (АТФ, НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, ЦТФ, УТФ) та їх регуляції (циклічні нуклеотиди – 3',5'-АМФ, 3',5'-ГМФ).
3. Нуклеїнові кислоти: структура, властивості, історичні етапи вивчення. Первинна структура нуклеїнових кислот, полярність полінуклеотидів, особливості первинної структури ДНК та РНК.
4. Будова, властивості та біологічні функції ДНК. Експериментальне доведення генетичної ролі ДНК (феномен трансформації). Молекулярна маса, розміри та нуклеотидний склад молекул ДНК вірусів, прокариотів та еукаріотів.

5. Вторинна структура ДНК, роль водневих зв'язків у її утворенні (правила Чаргафа, модель Уотсона-Кріка), антипаралельність ланцюгів.
6. Третинна структура ДНК. Фізико-хімічні властивості ДНК: взаємодія з катіонними лігандами; гіпо- і гіперхромний ефекти; денатурація та ренатурація ДНК.
7. Будова, властивості й біологічні функції РНК. Типи РНК: мРНК, тРНК, рРНК; особливості структурної організації (вторинної та третинної) різних типів РНК.
8. Молекулярна організація ядерного хроматину та рибосом еукаріотичних клітин. Хроматин: нуклеосомна організація, гістони та негістонові білки. Рибосоми: субодиначна структура, склад білків та РНК.
9. Фази клітинного циклу еукаріотів. Біохімічні механізми контролю вступу клітини до мітозу; cdc2-кіназа, циклін.

Практична робота **Якісні реакції на складові частини нуклеопротейнів**

Принцип методу. Для вивчення хімічного складу нуклеопротейнів зручно користуватися дріжджовими клітинами. Продукти гідролізу можна виявити в гідролізаті реакціями, специфічними для компонентів нуклеопротейнів.

Матеріальне забезпечення: 500 мг пекарських дріжджів або 100 мг сухих дріжджів, 10% розчин H_2SO_4 , пробірки, піпетки, фільтрувальний папір, водяна баня.

Хід роботи: У велику широку пробірку (15 x 1,5 см) кладуть 500 мг пекарських дріжджів або 100 мг сухих дріжджів, заливають 4 мл 10 % розчину H_2SO_4 . Пробірку закривають корком, у який вставлена трубка довжиною 25-30 см, яка служить холодильником, збовтують і ставлять у киплячу водяну баню.

Через 1 – 1,5 год після початку кипіння рідину охолоджують і фільтрують. У фільтраті виявляють продукти гідролізу нуклеопротейнів: поліпептиди, пуринові та піримідинові азотисті основи, рибозу, дезоксирибозу і фосфатну кислоту.

Дослід 1. Біуретова проба на поліпептиди.

Принцип методу. Біуретова реакція – характерна на сполуки, що містять у своєму складі не менше двох пептидних зв'язків. Такі речовини у лужному середовищі утворюють з $CuSO_4$ комплекс рожево-фіолетового забарвлення. В утворенні цього комплексу беруть участь пептидні зв'язки поліпептидів і білків.

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, 10 % розчин $NaOH$, 30 % розчин $NaOH$, 1% розчин $CuSO_4$, пробірки, піпетки.

Хід роботи: До 5 крапель гідролізату додають 10 крапель 10 % розчину $NaOH$ і 1 краплю 1 % розчину $CuSO_4$. Рідина забарвлюється в рожево-фіолетовий колір.

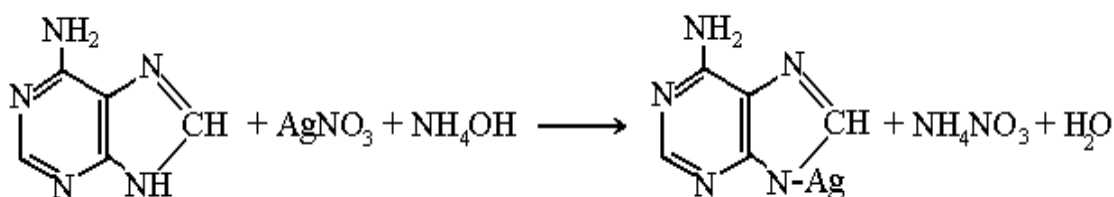
У висновку пояснити, що в даній реакції виявляються пептидні зв'язки, якими амінокислоти сполучаються між собою.

Дослід 2. Срібна проба на пуринові основи.

Принцип методу. Пуринові основи з аміачним розчином аргентуму нітрату утворюють осад, що забарвлюється у світло-коричневий колір.

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, конц. розчин NH_4OH , 1% розчин AgNO_3 , пробірки, піпетки.

Хід роботи: 10 крапель гідролізату нейтралізують концентрованим аміаком і додають 5 крапель 1 % розчину AgNO_3 . При стоянні через 3-5 хв випадає невеликий пухкий осад світло-коричневого кольору срібних солей пуринових основ (аденіну, гуаніну). Реакція відбувається за рівнянням:



Зробити висновок.

Дослід 3. Проба Тромера на рибозу і дезоксирибозу.

Принцип методу. Моно- і дисахариди, які мають у своєму складі вільний гідроксил, здатні у лужному середовищі відновлювати метали (аргентум, купрум, вісмут та інші). Метали у цій реакції відновлюються з одночасним розривом вуглеводневого ланцюга цукрів та полімеризацією.

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, 30 % розчин NaOH , 1% розчин CuSO_4 , 7 % розчин CuSO_4 , пробірки, піпетки.

Хід роботи: До 5 крапель гідролізату додають 10 крапель 30 % розчину NaOH і 5 – 10 крапель 7 % розчину CuSO_4 до появи муті $\text{Cu}(\text{OH})_2$, яка не зникає. Рідину змішують і верхній її шар нагрівають до кипіння. Випадає червоний осад закису міді (внаслідок окиснення рибози і відновлення гідрату окису міді до закису).

У висновку звертається увага на те, що рибоза окислюється, а гідрат окису міді відновлюється до закису міді.

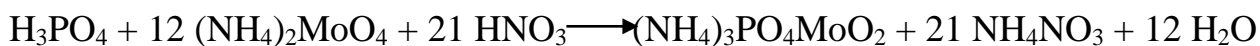
Дослід 4. Молібденова проба на фосфатну кислоту.

Принцип методу. Фосфати у кислому середовищі утворюють з молібдатами забарвлені фосфатно-молібденові комплекси.

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, молібденовий реактив, пробірки, піпетки.

Хід роботи: До 10 крапель молібденового реактиву (розчин молібденового амонію в нітратній кислоті) додають 5 крапель гідролізату і кип'ятять декілька хвилин на відкритому вогні. В присутності фосфатної кислоти рідина забарвлюється в лимонно-жовтий колір. При охолодженні випадає жовтий

кристалічний осад комплексної сполуки амонію фосфатномолібденового. Молібденова проба на фосфатну кислоту:



У висновку акцентується увага на утворенні комплексної сполуки амонію фосфатномолібденового.

Результати досліджень оформляють у вигляді таблиці:

Назва Реакції	Продукти гідролізу нуклеопротеїдів, компоненти нуклеопротеїдів	Колір кінцевих продуктів
Біуретова	Поліпептиди	
Срібна проба	Пуринові основи	
Проба Тромера	Цукри з відновлюючими властивостями	
Молібденова проба	Фосфатна кислота	

Клініко-діагностичне значення. Аналіз ДНК є стандартним дослідженням для діагностики спадкових захворювань. Він може бути використаний для генотипування фетальної тканини в пренатальній діагностиці, яку застосовують для виявлення потенційних батьків.

Похідні азотистих основ широко застосовуються у практичній медицині. Так, меркаптопурин має антилейкемічну активність, що зумовлена його біологічною активністю як антиметаболіта пуринів. Фторурацил і фторофур як структурні аналоги піримідинів мають протипухлинну активність, що пов'язана з перетворенням їх у 5-фтор-2-дезоксипуридин-5'монофосфат, який є конкурентним інгібітором тимідилатсинтази.

Контрольні питання до практичної роботи теми 1

1. Пояснити механізм утворення подвійної спіралі ДНК.
2. Пояснити механізм утворення шпильок в молекулі тРНК.
3. Які надмолекулярні комплекси утворюють нуклеїнові кислоти? Визначити основні компоненти нуклеопротеїну (білка, азотистої основи, пентози, фосфорної кислоти) в його гідролізаті. Поясніть принципи методів.
4. Що таке повний і неповний гідроліз нуклеопротеїнів?
5. Назвіть продукти гідролізу нуклеопротеїнів?
6. Які продукти гідролізу виявляються пробєю Тромера?
7. Які продукти гідролізу дають біуретову реакцію?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №1

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Структура та номенклатура азотистих основ, нуклеозитів і нуклеотидів. Мінорні азотисті основи та нуклеотиди.

1.1. Дати визначення ключовим словам:

Азотисті основи – це ...

Пуринові азотисті основи: ...

Піримідинові азотисті основи: ...

Нуклеозиди — це...

Нуклеотиди — це ...

1.2. Написати формули пуринових та піримідинових нуклеозидів та нуклеотидів.

1.3. Заповнити таблицю “Номенклатура основних азотистих основ, нуклеозидів і нуклеотидів”

Азотиста основа	Нуклеозид (азотиста основа+ пентоза)	Нуклеотид (азотиста основа+ пентоза+ фосфатна кислота)	Абревіатура нуклеотидів	Однобуквенний код нуклеотидів (англ./укр.)
в ДНК				
Аденін			5'- дАМФ	
Гуанін		д-Гуанозин-5'- монофосфат		
Цитозин	Дезоксицитидин			
Тимін				Т/Т
в РНК				
Аденін	Аденозин			
Гуанін				G/ Г
Цитозин			5'- ЦМФ	
Урацил		Уридин-5'- монофосфат		

1.4. Навести приклади мінорних азотистих основ та нуклеотидів, написати їх структурні формули та вказати молекули, в яких вони зустрічаються.

2. Вільні біологічно активні нуклеотиди та їх біохімічні функції: участь у метаболічних реакціях (АТФ, НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, ЦТФ, УТФ) та їх регуляції (циклічні нуклеотиди – 3',5'-АМФ, 3',5'-ГМФ).

2.1. В конспекті представити формули наступних вільних біологічно-активних нуклеотидів та їх біологічну роль у метаболічних реакціях:

- макроерги АТФ, АДФ, ЦТФ, УТФ, ЦДФ;
- коферменти НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, УТФ, ЦТФ;
- циклічні нуклеотиди вторинні месенджери - 3',5'-АМФ, 3',5'-ГМФ.

3. Нуклеїнові кислоти: структура, властивості, історичні етапи вивчення. Первинна структура нуклеїнових кислот, полярність полінуклеотидів, особливості первинної структури ДНК та РНК.

3.1. В конспекті зазначити структура, властивості, історичні етапи вивчення нуклеїнових кислот.

3.2. Представити у вигляді таблиці відмінності у первинній структурі ДНК та РНК

Властивості	РНК	ДНК
Кількість ланцюгів		
Склад азотистих основ		
Вид присутніх пентоз		

3.3. Дати визначення поняттю полярність полінуклеотидів.

4. Будова, властивості та біологічні функції ДНК. Експериментальне доведення генетичної ролі ДНК (феномен трансформації). Молекулярна маса, розміри та нуклеотидний склад молекул ДНК вірусів, прокариотів та еукаріотів.

4.1. Описати будову, властивості та біологічні функції ДНК: збереження, передавання та реалізація спадкової інформації.

4.2. Пояснити феномен трансформації (експериментальне доведення генетичної ролі ДНК), дослідження Ф.Гріффіта та О.Евері.

4.3. Написати структурну формулу фрагменту ДНК:

- А---Т-

 | |

- Г---Ц-

4.4. Представити у вигляді таблиці порівняльну характеристику ДНК вірусів, прокариотів та еукаріотів за молекулярною масою та розмірами.

ДНК	Молекулярна маса	Розміри
ДНК вірусів		
ДНК прокариот		
ДНК еукаріот		

5. Вторинна структура ДНК, роль водневих зв'язків у її утворенні (правила Чаргафа, модель Уотсона-Кріка), антипаралельність ланцюгів.

5.1. Написати і пояснити правила Чаргафа.

5.2. Зобразити схематично та описати модель ДНК Уотсона-Кріка (дати кількісну характеристику кроку спіралі та діаметру спіралі В-форми ДНК).

5.3. Пояснити як відбувається стабілізація ланцюгів ДНК (водневі, стекінг-взаємодії), дати визначення поняттю антипаралельність ланцюгів.

6. Третинна структура ДНК. Фізико-хімічні властивості ДНК: взаємодія з катіонними лігандами; гіпо- і гіперхромний ефекти; денатурація та ренатурація ДНК.

6.1. Дати визначення:

Третинна структура ДНК — це...

Вона стабілізується наступними зв'язками...

6.2. Дати характеристику фізико-хімічних властивостей ДНК:

Реакційноздатність: взаємодія з катіонними лігандами;

В'язкість та оптична активність;

Поглинання в УФ-ділянці: гіпо- і гіперхромний ефекти;

Денатурація та ренатурація ДНК

6.3. Дати визначення:

Точка плавлення ДНК – це...

7. Будова, властивості й біологічні функції РНК. Типи РНК: мРНК, тРНК, рРНК; особливості структурної організації (вторинної та третинної) різних типів РНК.

7.1. Первинна структура РНК. Написати структурну формулу фрагменту РНК –

- А-У-Г-Ц-

Позначити 5'- фосфатний кінець, 3'- гідроксильний кінець, 3',5'- фосфодиефірні зв'язки, N-глікозидний зв'язок.

7.2. Описати структурні особливості різних типів РНК:

• інформаційна (матрична) РНК, особливості її вторинної структури:

«Кеп»- це...

«Поладенілатний хвіст» - це...

«Шпильки»- це ...

• транспортні РНК, особливості первинної структури, представити схему вторинної структури молекули тРНК типу «листка конюшини», на якій вказати специфічні структурні елементи:

Акцепторна гілка –

Антикодонові петля –

Дигідроуридилова петля –

Псевдоуридилова петля –

Додаткова гілка –

Пояснити структурні особливості третинної структури тРНК

• рибосомні РНК, їх значення для процесу трансляції

8. Молекулярна організація ядерного хроматину та рибосом еукаріотичних клітин. Хроматин: нуклеосомна організація, гістони та негістонові білки. Рибосоми: субодична структура, склад білків та РНК.

8.1. Описати нуклеосомну організацію, гістони та негістонові білки, намалювати схему молекулярної організації нуклеосом ядерного хроматину.

8.2. Дати визначення

Нуклеосоми – це...

Кор – це ...

Лінкерна ДНК – це...

8.3. Дати визначення

Рибосоми – це ...

Намалювати схему будови рибосом прокаріотичних та еукаріотичних клітин.

9. Фази клітинного циклу еукаріотів. Біохімічні механізми контролю вступу клітини до мітозу; cdc2-кіназа, циклін.

9.1. Описати фази клітинного циклу еукаріотів.

9.2. Пояснити біохімічні механізми контролю вступу клітини до мітозу; cdc2-кіназа, циклін.

9.3. Написати послідовність біохімічних реакцій включення мітозу.

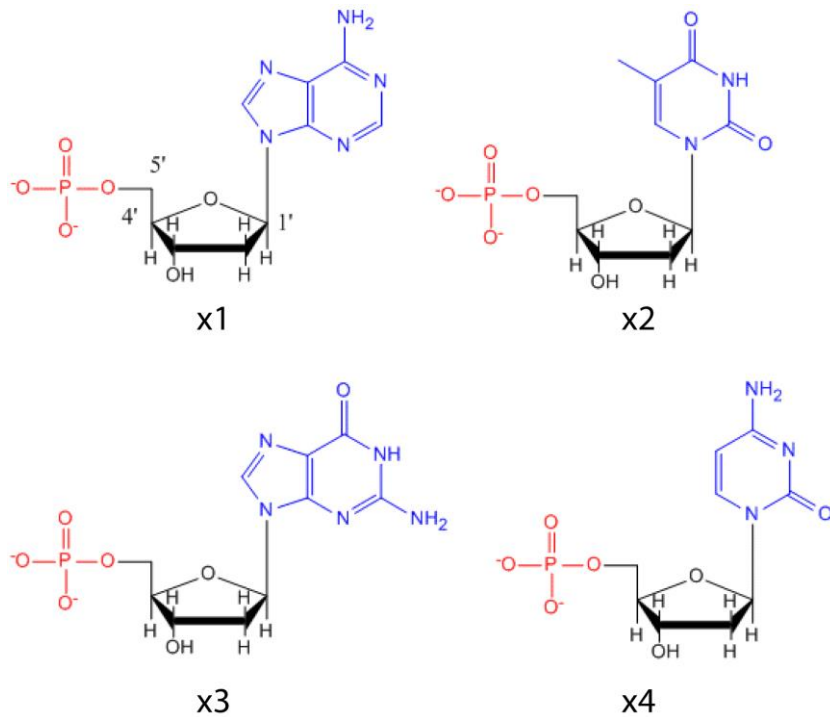
10. Назвіть хімічні структури представлені на рисунку

x1 - ?

x2 - ?

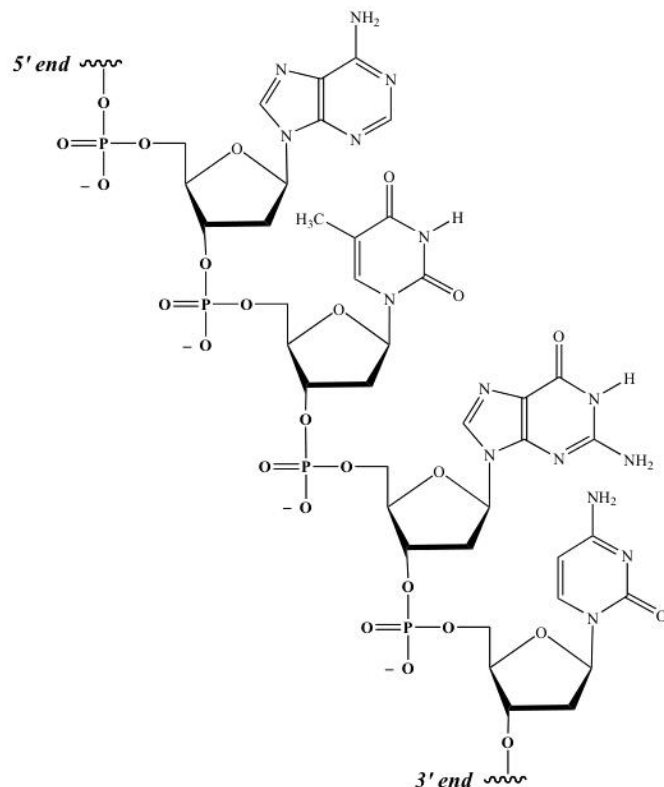
x3 - ?

x4 - ?



11. ДНК є полімером, що складається з _____ . Мономерами ДНК є _____ (дАМФ), _____ (дГМФ), _____ (дЦМФ) та _____ (дТМФ), що зв'язані між собою за допомогою _____ зв'язків.

Побудуйте дочірню нитку ДНК використовуючи матрицю представлену на рисунку. Вкажіть, які нуклеїнові кислоти не підкоряються правилам Чаргафа?



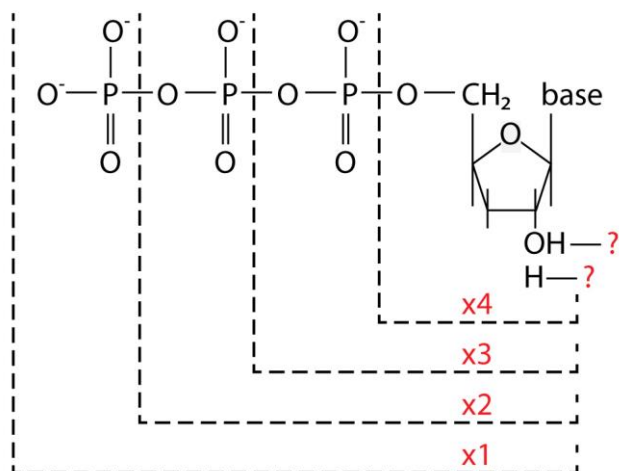
12. Назвіть хімічні структури зображені на рисунку.

x1 - ?

x2 - ?

x3 - ?

x4 - ?



Матеріали до самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 1

1. Новонароджені у період вигодовування не отримують нуклеїнові кислоти з молоком, але вони інтенсивно ростуть, збільшується кількість клітин, безперервно відбувається гемопоєз, синтез білків, тобто відбуваються процеси, що потребують іРНК, рРНК, тРНК, ДНК. За рахунок яких речовин утворюються нуклеїнові кислоти в організмі ?

2. У двох препаратах ДНК вміст аденіну становить відповідно 25 і 12 % від загального вмісту азотистих основ. Обчисліть відносний вміст тиміну, цитозину і гуаніну в цих препаратах ДНК.

3. Ростові фактори стимулюють клітину до вступу у G₁- фазу клітинного циклу. Протягом цієї фази індукується синтез ферментів, що каналізують утворення дезоксирибонуклеотидів. У якому процесі використовуються ці субстрати у S-фазу клітинного циклу?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1	При перетворенні глюкози в пентозному циклі утворюються фосфати різних моносахаридів. Яка з цих речовин може бути використана для синтезу нуклеїнових кислот?	А. *Рибоза- 5-фосфат В. Рибулоза-5-фосфат С. Еритрозо-4-фосфат D. Седогептулозо-7-фосфат Е. Ксилулозо-5-фосфат	

2	РНК вірусу СНІДу проникла всередину лейкоцита і за допомогою ензима ревертази спричинила синтез у клітині вірусної ДНК. В основі цього процесу лежить...	А.*Зворотня транскрипція В. Дерепресія оперону С. Репресія оперону D. Конваріантна реплікація Е. Зворотня трансляція
3	Із нітратів, нітритів і нітрозамінів в організмі утворюється азотиста кислота, яка зумовлює окисне дезамінування азотистих основ нуклеотидів. Це може призвести до точкової мутації – заміни цитозину на..	А. * Урацил В. Тимін С. Аденін D. Гуанін Е. Інозин
4	Нітрозаміни належать до дезамінуючих мутагенів. З якої азотистої основи в результаті їх дії утворюється урацил?	А. *Цитозину В. Аденіну С. Гуаніну D. Тиміну Е. Метилурацилу
5	Уотсон і Крік встановили, що подвійна спіраль ДНК стабілізується за рахунок зв'язків між комплементарними азотистими основами. Які це зв'язки?	А. * Водневі В. N-глікозидні С. Фосфодієфірні D. Пептидні Е. Складно-ефірні

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Фази клітинного циклу еукаріотів. Біохімічні механізми контролю вступу клітини до мітозу; cdc2–кіназа, циклін.

План:

1. Фази нормального клітинного циклу
2. Тривалість клітинного циклу
3. Регуляція клітинного циклу у ссавців
4. Роль у регуляції клітинного циклу циклінзалежних кіназ і циклонів

Рекомендована література:

1. Фаллер Д., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей. Пер. с англ. М.: БИНОМ-Пресс, 2003.- 272 с.
2. Біохімічні механізми апоптозу / Остапченко Л.І., Синельник Т.Б., Рибальченко Т.В., Рибальченко В.К. - Навч. Посібник — К.: Видавництво ВПЦ “Київський університет”, 2010. - 310 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 231, 249-251, 288 – 290.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 60 – 77.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
4. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. – С. 270 - 273.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 188-196.
6. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
7. Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. – К.: Академперіодика, 2017. – С. 51.
8. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
10. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 69-84.
11. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 54-58 с.
2. Вдовенко Н.В. Фізіологічна роль та фармакологічні властивості АТФ і її похідних // Вісн.пробл. біології і медицини. – 2004. – Вип. 1. – С. 3-8.
3. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – Москва: Мир, 2000. – С. 86-93.
4. Кордюм В., Похолоденко Я. ДНК- вакцины – расширение возможностей // Вісн. фармакології та фармації. – 2004. – № 10. – С. 2-9.
5. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 5-14, 35-81.
6. Нуклеиновые кислоты: От А до Я / Б.Аппель (и др.) под. ред. С.Мюллер – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2012. – 413 с.
7. Основи біохімії за Ленінджером / Девід Л.Нельсон, Майкл М. Кокс. – Львів.: вид-во «БаК», 2015. – С. 280-314.

Тема № 2. Дослідження катаболізму пуринових нуклеотидів. Визначення кінцевих продуктів їх обміну. Спадкові порушення їх обміну.

Мета заняття: Засвоїти особливості реакцій синтезу та розпаду пуринових і піримідинових нуклеотидів в нормі та за умов природжених ензимопатій цих процесів. Оволодіти методами визначення кількості сечової кислоти у біологічних рідинах та вміти інтерпретувати отримані дані.

Актуальність теми: Порушення процесів біосинтезу і катаболізму пуринових та піримідинових азотистих основ та нуклеотидів можуть приводити до розвитку таких захворювань як синдром Леша-Ніхана, подагра, оротацидурія. Знання основних метаболітів та ензимів цих процесів є необхідним для діагностики і контролю за лікуванням.

Уміння та навички, які потрібно набуті в результаті виконання роботи:

- Вміти аналізувати послідовність реакцій біосинтезу та катаболізму пуринових нуклеотидів.
- Кількісно визначити сечову кислоту в біологічних рідинах, вміти інтерпретувати отримані результати.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти пояснити механізм дії протипухлинних засобів.
- Вміти аналізувати порушення метаболізму пуринів і біохімічні основи розвитку подагри, хвороби Леша-Ніхана.
- Вміти аналізувати порушення синтезу піримідинових нуклеотидів і біохімічні основи розвитку оротацидурії.

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна, біологічна хімії

Отримані навички: вміти писати структурні формули амінокислот, азотистих основ, нуклеотидів

Теоретичні питання

1. Біосинтез пуринових нуклеотидів:
 - схема реакцій синтезу ІМФ;
 - утворення АМФ, ГМФ, АТФ, ГТФ;
 - регуляція біосинтезу пуринових нуклеотидів за принципом негативного зворотного зв'язку (ретроінгібування).
2. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: реакції; регуляція. Клініко-біохімічна характеристика оротацидурій.
3. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Утворення тимідилових нуклеотидів; інгібітори біосинтезу дТМФ як протипухлинні засоби (структурні аналоги дТМФ, похідні птерину).
4. Катаболізм пуринових нуклеотидів; спадкові порушення обміну сечової кислоти. Клініко-біохімічна характеристика гіперурикемії, подагри, синдрому Леша-Ніхана.
5. Катаболізм піримідинових нуклеотидів; метаболізм продуктів їх розпаду.

Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення сечової кислоти в сироватці крові.

Принцип методу. Сечова кислота відновлює фосфатвольфраматний реактив з утворенням сполуки блакитного кольору, оптична густина якої за довжини хвилі 640 нм є пропорційною концентрації сечової кислоти у сироватці крові.

Матеріальне забезпечення: сироватка або плазма крові, 10 % розчин натрію дигідрогенвольфрамат дигідрату, 10 % розчин натрію карбонату, 0,35 М розчин сульфатної кислоти, фосфатвольфраматний реактив (реактив Фоліна), 30 мкМ розчин сечової кислоти, піпетки, пробірки, центрифуга.

Хід роботи: У центрифугову пробірку вміщують 0,5 мл сироватки крові та 4 мл дистильованої води. Вміст пробірки перемішують і додають 0,25 мл 0,35 М розчину сульфатної кислоти та 0,25 мл 10% розчину натрію дигідрогенвольфрамат дигідрату. Вміст пробірки перемішують і через 5 хв центрифугують протягом 10 хв за швидкості 3000 об/хв. Проводять визначення сечової кислоти за наступною схемою.

Визначення сечової кислоти в сироватці крові

	Контроль на проба	Стандартна проба	Дослідна проба
Надосадова рідина, мл	-	-	2
Стандартний розчин сечової кислоти, мл	-	2	-
Вода дистильована, мл	2	-	-
Розчин натрію карбонату, мл	1	1	1
Фосфатвольфраматний реактив, мл	0,5	0,5	0,5

Вміст пробірок перемішують. Через 30 хв визначають оптичну густина стандартної та дослідних проб за довжини хвилі 640 нм (590-700 нм, червоний світлофільтр) проти контрольної проби у кюветі з товщиною 10 мм. Забарвлення є стабільним протягом 30 хв.

Розрахунок вмісту сечової кислоти проводять за формулою:

$$C = \frac{A_{\text{досл}}}{A_{\text{станд}}} \times 30 \times 10,$$

де: C – вміст сечової кислоти у дослідній пробі, мкмоль/л;

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

$A_{\text{станд}}$ – оптична густина стандартної проби;

30 – вміст сечової кислоти у стандартному розчині, мкмоль/л;

10 – величина розведення сироватки.

У чоловіків вміст сечової кислоти у сироватці крові становить 240-500 мкмоль/л, у жінок – 160-400 мкмоль/л.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Нормальний вміст сечової кислоти в сироватці крові становить для чоловіків – 240 – 530 мкмоль/л (0,05-0,06 г/л), для жінок приблизно на 25 % менше – 185-440 мкмоль/л (0,04-0,05 г/л). Гіперурикемія – зростання концентрації сечової кислоти у крові, Гіперурикемія викликає подагру, захворювання, що виникає за умов преципітації уратів у тканинах, у першу чергу, в суглобах. Сечова кислота та її солі надзвичайно погано розчиняються у воді, нормальні концентрації їх в рідині організму наближені до межі розчинності. Для лікування подагри використовують препарати, що гальмують утворення сечової кислоти (алопуринол) або стимулюють виведення її нирками (антуран, цинхофен). У хворих на подагру значення концентрації сечової кислоти у крові майже завжди перевищує 0,075-0,080 г/л, а під час утворення у них подагричних ущільнень вміст її рідко буває нижчим ніж 0,08-0,09 г/л.

Кількісне визначення сечової кислоти в сечі.

Метод кількісного визначення сечової кислоти в сечі ґрунтується на здатності сечової кислоти відновлювати фосфатвольфраматний реактив до фосфатвольфраматного синього, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту сечової кислоти. Кількість фосфатвольфраматного синього визначають шляхом титрування червоною кров'яною сіллю. Остання окиснює фосфатвольфраматний синій і синє забарвлення зникає.

Утворена в результаті розпаду пуринових основ сечова кислота виділяється нирками. У нормі в людини з сечею виділяється 1,60-3,54 ммоль/добу (270-600 мг/добу) сечової кислоти. Гіперурикемія (гіперурикемія) – збільшення вмісту сечової кислоти у сечі.

Контрольні питання до практичної роботи теми 2

1. Пояснити принцип методу визначення вмісту сечової кислоти в біологічній рідині з реактивом Фоліна. Клініко-діагностичне значення визначення сечової кислоти в крові та сечі.

Інструктивно-методичні матеріали до теми №2

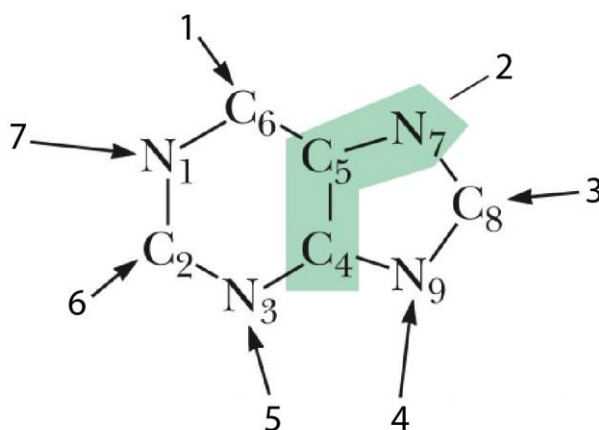
Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Біосинтез пуринових нуклеотидів: схема реакцій синтезу ІМФ; утворення АМФ, ГМФ, АТФ, ГТФ; регуляція біосинтезу пуринових нуклеотидів за принципом негативного зворотного зв'язку (ретроінгібування).

1.1. Вказати джерела окремих атомів С та N у молекулі пурину. Представити схему молекули пурину із зазначенням молекул-попередників.

- 1.2. Представити послідовність реакцій синтезу ІМФ
- 1.3. Представити послідовність реакцій синтезу АМФ, ГМФ, АТФ, ГТФ
- 1.4. Вказати назви метаболітів, ферментів; дати пояснення механізму синтезу пуринових нуклеотидів – de novo; вказати локалізацію цього процесу
- 1.5. Пояснити і представити у вигляді схеми контроль синтезу пуринових нуклеотидів
2. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: реакції; регуляція. Клініко-біохімічна характеристика оротацидуриї.
 - 2.1. Вказати джерела окремих атомів С та N у піримідиновому кільці.
 - 2.2. Представити послідовність ферментативних реакцій біосинтезу УМФ, ЦТФ.
 - 2.3. Представити і пояснити реакції синтезу піримідинів. Зазначити регуляторні ферменти.
 - 2.3. Описати біохімічний механізм виникнення первинних і вторинних оротацидуриї, описати їх клінічні прояви та шляхи компенсаторного лікування.
3. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Утворення тимідилових нуклеотидів; інгібітори біосинтезу дТМФ як протипухлинні засоби (структурні аналоги дТМФ, похідні птерину).
 - 3.1. Представити схему біосинтезу дезоксирибонуклеотидів та пояснити механізм перетворення рибонуклеотидів на дезоксирибонуклеотиди
 - 3.2. Написати схему утворення тимідилових нуклеотидів
 - 3.3. Пояснити механізм дії протипухлинних засобів - структурних аналогів дТМФ, похідних птерину
4. Катаболізм пуринових нуклеотидів; спадкові порушення обміну сечової кислоти. Клініко-біохімічна характеристика гіперурикемії, подагри, синдрому Леша-Ніхана.
 - 4.1. Написати реакції розпаду пуринових нуклеотидів з утворенням сечової кислоти, зазначити ферменти, що каталізують ці реакції.
 - 4.2. Описати будову і властивості ксантинооксидази
 - 4.2. Описати відмінності катаболізму пуринів у різних видів тварин
 - 4.3. Дати клініко-біохімічну характеристику гіперурикемії, подагри, синдрому Леша-Ніхана; вказати причини надмірного нагромадження сечової кислоти в крові та навести фактори, які сприяють гіперурикемії; привести приклади фармпрепаратів (Алопуринол), які використовують для лікування вказаних станів та вказати механізм їх дії
5. Катаболізм піримідинових нуклеотидів; метаболізм продуктів їх розпаду.
 - 5.1. Представити схему катаболізму піримідинових нуклеотидів; зазначити метаболізм продуктів їх розпаду
6. Використовуючи схему вкажіть походження атомів Карбону та Нітрогену, що входять до складу пуринового кільця.

- 1 – ?
- 2 – ?
- 3 – ?
- 4 – ?
- 5 – ?
- 6 – ?
- 7 – ?
- 8 – ?



Матеріали до самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 2

1. Похідне уридину, фторурацил, перетворюється в клітині на фтордезоксіуридилат – сильний незворотній інгібітор тимідилатсинтази. Як пояснити факт пригнічення фторурацилом швидкого поділу ракових клітин у експериментальних тварин?
2. У сечі місячної дитини виявлено підвищений вміст оротової кислоти. Дитина погано набирає масу тіла. Які речовини потрібно використати для нормалізації метаболізму?
3. Чоловіка віком 60 років прооперували з приводу раку простати. Через 2 місяці йому призначили курс хіміотерапії. До комплексу лікарських препаратів входив 5-фтордезоксіуридин – інгібітор тимідилатсинтази. Синтез насамперед якої речовини блокується під дією цього препарату?
4. Утворення тимідилових нуклеотидів, які використовуються для біосинтезу ДНК, відбувається з дУДФ, що спершу гідролізується до дУМФ, а далі метилюється. Яка сполука слугує донором метильних груп?
5. У реакції перетворення рибози на дезоксирибозу під час утворення дезоксирибонуклеотидів, що використовуються для синтезу ДНК, бере участь низькомолекулярний білок тіоредоксин. Він містить дві SH-групи, що можуть переходити в окиснену форму. Який коензим використовується для відновлення тіоредоксину?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Пацієнту з ішемічною хворобою серця призначено рибоксин (інозин), який є проміжним метаболітом синтезу:	А. *Пуринових нуклеотидів В. Металопротеїнів С. Ліпопротеїнів	

		D. Глікопротеїнів E. Кетонівих тіл	
2.	Чоловік 55 років, що страждає на болі в нирках, надійшов в лікарню. При ультразвуковому обстеженні пацієнта виявлено ниркові камені. Наявність якої речовини в сечі є найвірогіднішою причиною утворення каменів в даного пацієнта?	A.*Сечової кислоти B. Білірубіну C. Білівердину D.Уробіліну E. Креатиніну	
3.	Хворий 48 років звернувся до лікаря зі скаргами на сильні болі, припухлість, почервоніння суглобів, підвищення температури до 38°C. В крові виявлено високий вміст уратів. Ймовірною причиною такого стану може бути порушення обміну:	A.* Пуринів B. Колагену C. Холестерину D. Піримідинів E. Вуглеводів	
4.	Біосинтез пуринового кільця відбувається на рибозо-5-фосфаті шляхом поступового нарощування атомів Нітрогену і Карбону та замикання кілець. Джерелом рибозофосфату є:	A.*Пентозофосфатний цикл B. Гліколіз C. Глікогенез D. Глюконеогенез E. Глікогеноліз	
5.	Онкохворому призначили фторурацил, який є конкурентним інгібітором тимідинсинтетази. З пригніченням якого процесу пов'язана його дія?	A.*Синтезу піримідинових нуклеотидів B. Розпаду вуглеводів C. Синтезу пуринових нуклеотидів D. Розпаду пуринових нуклеотидів E. Синтезу ліпідів	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Біохімічні механізми розвитку апоптозу і некрозу

План:

1. Визначення апоптозу (некрозу) та причини їх виникнення.
2. Механізми виникнення апоптозу. Стадії апоптозу.
3. Функції цитокінів в регуляції апоптозу.
4. Роль каспаз в реакціях протеолізу.

Рекомендована література:

1. Біохімічні механізми апоптозу: навч. посібник / Остапченко Л.І.,

- Синельник Т.Б., Рибальченко Т.В., Рибальченко В.К. – К.: ВПЦ «Київський університет», 2010. – 312 с.
2. Кириченко А.М. Генетично програмована смерть клітин: основа гомеостазу та форма фітоімунної відповіді / А.М.Кириченко, О.Г.Коваленко // Цитологія і генетика. – 2010. – 44, № 4. – С. 70–83.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 231 – 247.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 328-343.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини.-Тернопіль: Укрмедкнига, 2001.- С. 448-462.
4. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. – С. 274 - 291
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 197-204.
6. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення /За ред. проф. Склярова О.Я.- Київ: Здоров'я, 2004.-191с.
7. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 48 – 52, 92 - 96.
8. Практикум з біологічної хімії. / За ред О.Я.Склярова .-К.: Здоров'я, 2002.- 180-189 с.
9. Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. – К.: Академперіодика, 2017. – С. 52 - 57.
- 10.Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
- 11.Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
- 12.Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 387-402.
- 13.Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Біологічна хімія /Л.В. Вороніна, В.Ф. Десенко, Н.Н. Мадієвська та ін. – Харків: Вид – во НФАУ „Основа”, 2000. – С. 351 - 355.
2. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. - М.: Мир, 2000. - С. 188-193.

3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 15-34.
4. Мещишен І.Ф., Яремій І.М. Особливості обміну речовин у дітей. – Чернівці: БДМА, 2003. - С.18-25.
5. Основи біохімії за Ленінджером / Девід Л.Нельсон, Майкл М. Кокс. – Львів.: вид-во «БаК», 2015. – С. 898 - 916.

Тема № 3. Дослідження реплікації ДНК та транскрипції РНК. Аналіз механізмів мутацій, репарацій ДНК. Засвоєння принципів отримання рекомбінантних ДНК, трансгенних білків.

Мета заняття: Знати закономірності матричного синтезу нуклеїнових кислот, етапи цих процесів, механізми мутацій, репарацій та виникнення і розвитку спадкових захворювань. Засвоїти механізм дії антибіотиків та інших інгібіторів синтезу нуклеїнових кислот. Вміти кількісно визначити вміст ДНК у біологічному матеріалі.

Актуальність теми: В процесі біосинтезу нуклеїнових кислот можливі різноманітні порушення нуклеотидної послідовності під впливом фізичних (нагрівання, іонізуючі, корпускулярні опромінення), хімічних (мутагени) та біологічних (віруси) факторів. У медичній практиці широко використовуються фармацевтичні препарати, що інгібують біосинтез нуклеїнових кислот у прокаріотичних організмах та гальмують поділ клітин пухлин у онкологічних хворих.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти кількісно визначити ДНК в біологічному матеріалі за вмістом фосфору з метою оцінки інтенсивності реплікаційних та біосинтетичних процесів;
- Знати принцип методу аналізу екстрактів антибіотиків методом тонкошарової рідинної хроматографії та вміти інтерпретувати отримані результати;

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Пояснювати механізми функціонування ферментної системи транскрипції РНК
- Вміти трактувати механізми регуляції експресії генів на рівні транскрипції оперонів, які включають структурні та регуляторні гени, промотор та оператор.
- Вміти трактувати молекулярно-біологічні закономірності збереження та передачі генетичної інформації, роль ферментних систем, що забезпечують напівконсервативний механізм реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів.
- Вміти трактувати біохімічні механізми генетичних рекомбінацій, ампліфікації генів, особливості регуляції експресії генів у еукаріотів.

- Вміти аналізувати наслідки геномних, хромосомних та генних мутацій, механізми дії найбільш поширених мутагенів, біологічне значення та механізми репарації ДНК (репарація УФ–індукованих генних мутацій).

Базові знання

Дисципліна: біологія, біоорганічна хімія, біологічна хімія

Отримані навички: вміти писати послідовність етапів синтезу ДНК та РНК та ензимів, необхідних для цих процесів у еукаріот та прокаріот.

Теоретичні питання до теми 3

1. Реплікація ДНК: біологічне значення; напівконсервативний механізм реплікації (схема експерименту М.Мезелсона та Ф.Сталю).
2. Загальна схема біосинтезу ДНК. Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів (розплітаючі білки, праймаза, ДНК-полімерази, ДНК-лігаза). Етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК (значення антипаралельності ланцюгів ДНК; фрагментів Оказаки).
3. Транскрипція РНК. РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів. Будова транскриптона (оперона). Сигнали транскрипції: промоторні, ініціаторні, термінаторні ділянки генома. Етапи синтезу РНК. Значення зворотної транскриптази. Антибіотики – інгібітори транскрипції.
4. Процесинг – посттранскрипційна модифікація РНК; етапи процесингу.
5. Регуляція експресії генів прокаріотів: схема регуляції за Ф. Жакобом та Ж. Моно. Будова Lac-оперону E.coli, принципи його функціонування (репресія, індукція).
6. Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції; система транскрипційних сигналів – промоторні послідовності, енхансери, атенюатори, сайленсери.
7. Особливості молекулярної організації та експресії геному в еукаріотів. Ядерний хроматин еукаріотів; ковалентна модифікація гістонів та НГБ як один з механізмів контролю експресії генів.
8. Генетичні рекомбінації; транспозони. Рекомбінації геному прокаріотів (трансформація, трансдукція, кон'югація). Процеси рекомбінації у еукаріотів на прикладі утворення генів H- та L-ланцюгів молекул імуноглобулінів.
9. Ампліфікація генів (гени металотіонеїну, дигідрофолатредуктази): визначення, біологічне значення.
10. Мутації: геномні, хромосомні, генні (точкові); роль у виникненні ензимопатії та спадкових хвороб людини. Біохімічні механізми дії хімічних мутагенів – аналогів азотистих основ, дезамінуючих, алкілюючих агентів, ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання.
11. Біологічне значення та механізми репарації ДНК. Репарація УФ-індукованих генних мутацій; пігментна ксеродерма; репарація дезамінування цитозину.

Практична робота

Дослід 1. Визначення ДНК за фосфором.

Принцип методу. Метод ґрунтується на отриманні вільних нуклеїнових кислот із наступним визначенням кількості ДНК за фосфором, що утворюється у формі фосфату після мінералізації (спалювання) ДНК. Визначення фосфору проводять фотоколориметрично за реакцією з амонію молібдатом за присутності відновника (аскорбінова кислота). Інтенсивність забарвлення продукту реакції – молібденової сині – є пропорційною кількості фосфору у пробі.

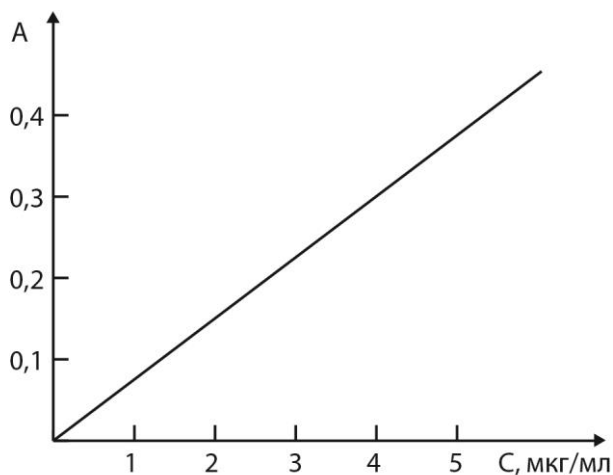
Матеріальне забезпечення: Тканина печінки щурів, 1 н розчин натрію гідроксиду (NaOH), 30 % розчин натрію гідроксиду (NaOH), насичений розчин натрію хлориду (NaCl), 20 % розчин ацетатної кислоти (CH₃COOH), етиловий спирт, 5 % розчин ТХАК, концентрована сульфатна кислота (H₂SO₄), 30 % розчин гідрогену пероксиду (H₂O₂), стандартний розчин калію дигідрогенфосфату (KH₂PO₄) 0,01 мг/мл, 2,5 % розчин амонію молібдату ((NH₄)₂MoO₄), 1 % розчин аскорбінової кислоти, центрифуга, ФЕК, пробірки центрифужні, скляні палички, колба К'ельдаля, конічна колба, льодяна баня, пісчана баня.

Хід роботи:

1. Оброблення тканин основою. Наважку тканини печінки масою 100 мг нагрівають з 1 мл 1 н розчину натрію гідроксиду у центрифужній пробірці протягом 15 хв на киплячій водяній бані. Періодично вміст пробірки перемішують скляною паличкою.
2. Послідовне осадження білків і ДНК. Пробу поступово охолоджують за кімнатної температури, а потім за температури 0°C (лід). До охолодженого гідролізату додають 0,5 мл насиченого розчину натрію хлориду у 20 % розчині ацетатної кислоти для осадження білків. Осаджений білок видаляють через 5 хв шляхом центрифугування протягом 5 хв за швидкості 5000 об/хв. Центрифугат зливають у центрифужну пробірку (під час охолодження на льоду), додають до нього 6 мл етилового спирту і витримують протягом 1 год на холоді для повного осадження ДНК. Ще раз центрифугують протягом 5 хв за швидкості 5000 об./хв. Осад ДНК відмивають 5 мл 5% розчину ТХАК.
3. Отримання мінералізату. Осад ДНК кількісно переносять у колбу К'ельдаля, додають 1,5 мл сульфатної концентрованої кислоти і нагрівають (мінералізують) на пісчаній бані до повного освітлення розчину. Для прискорення мінералізації до розчину обережно додають декілька крапель 30 % розчину гідрогену пероксиду (по одній краплі). Після закінчення мінералізації рідину з колби К'ельдаля кількісно (вимірюючи об'єм) переносять у колбу Ерленмеєра. Розчин нейтралізують 30 % розчином натрію гідроксиду за допомогою універсального індикатора. Отриманий мінералізуват переносять кількісно у мірну колбу на 50 мл і доводять до позначки дистильованою водою.
4. Визначення ДНК за фосфором. З колби у пробірку відбирають 5 мл розчину, додають 0,5 мл 2,5 % розчину амонію молібдату, 0,5 мл 1 % розчину аскорбінової кислоти і 4 мл дистильованої води. Через 10 хв вимірюють оптичну густина розчину (А) проти води за червоного світлофільтра (довжина

хвилі 670 нм) у кюветах завтовшки 5 мм. Вміст фосфору (С) визначають у мкг/мл за калібрувальною кривою.

Для побудови калібрувального графіка використовують стандартні розчини калію дигідрогенфосфату, які містять відповідно 1, 2, 3, 4 мкг фосфору в 1 мл проби. На осі абсцис відкладають значення концентрацій стандартних розчинів фосфору, а на осі ординат – відповідні їм значення оптичної густини.



Графік залежності оптичної густини від концентрації фосфору

Концентрацію ДНК визначають у мг% за формулою:

$$X = 10 \times C, \text{ де}$$

X – вміст ДНК (мг%),

C – концентрація фосфору (мкг/мл),

10– коефіцієнт перерахунку.

Нормальний вміст ДНК у печінці щурів становить 25–35 мг% (мг на 100 г тканини).

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

Клініко–діагностичне значення. Визначення кількості ДНК у тканинах пухлини використовують для оцінки прогнозу онкологічних захворювань та можливої індивідуалізації наступного лікування. Крім того, виділюють ДНК з клінічних зразків (біоптати тканин, крапля крові, сперма, слиз жіночих статевих органів, осад сечі, волосся людини, зішкреби епітеліальних клітин тощо) для ланцюгової полімеразної реакції в діагностиці вірусних та спадкових хвороб людини, ідентифікації особини ("ДНК–діагностика") тощо.

При доклінічному експериментальному дослідженні новостворених фармпрепаратів вивчають їх безпосередній вплив як на клітинні органели (ядро, мітохондрії тощо), так і їх компоненти. Тому, в разі отримання субклітинних фракцій клітин, необхідний суворий контроль за їх чистотою і гомогенністю. Однією з головних причин забруднення цитоплазматичних фракцій ядерним матеріалом (а саме, ДНК) є неякісна гомогенізація, що призводить до руйнування ядер. Для оцінки чистоти отриманих цитоплазматичних фракцій у них кількісно визначають ДНК.

Аналіз екстрактів антибіотиків методом тонкошарової рідинної хроматографії (ТШХ).

ТШХ базується на різниці в швидкості рухливості хімічних сполук у суміші, що є нанесеними на сорбент при їхньому переміщенні в потоці рухомої фази (суміш розчинників). В якості сорбентів використовують дрібнозернистий силікагель, Al_2O_3 , целюлозу, крохмаль, поліамід, тощо. Для тонкошарової рідинної хроматографії антибіотиків використовується суміш розчинників: хлороформ – етанол – метанол - вода у співвідношенні (120:25:6:4,5). Важливо, щоб суміш знаходилась у посудині із щільно закритою притертою кришкою. Суміш готується за добу до виконання досліду для повного насичення посудини парами розчинників.

Контрольні питання до практичної роботи теми 3

1. Пояснити протипухлинну дію антибіотиків. Чи всі антибіотики можуть бути використаними як протипухлинні? Поясніть механізм дій афідиколіну, актиноміцину D.
2. Пояснити молекулярні механізми мутацій. Які найбільш поширені мутагени ви знаєте?
3. На чому ґрунтується метод отримання ДНК?
4. Який принцип визначення ДНК за фосфором?
5. З мінералізатом ДНК провели реакцію з розчином амонію молібдату і отримали позитивну реакцію – молібденову синь. Який складник ДНК дає позитивну реакцію?
6. Похідне уридину – фторурацил, який перетворюється в клітині в фтордезоксиридилат – сильний незворотній інгібітор тимідилатсинтази. Як пояснити факт пригнічення фторурацилом швидкого поділу ракових клітин у експериментальних тварин?
7. У пацієнта діагностовано пігментну ксеродерму. Його шкіра є надзвичайно чутливою до пошкоджуючої дії сонячного світла. Поясніть причину виникнення цієї патології. Наслідком спадкового порушення синтезу якого УФ–специфічного ферменту є це захворювання?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №3

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Реплікація ДНК: біологічне значення; напівконсервативний механізм реплікації (схема експерименту М.Мезелсона та Ф.Сталя).
 - 1.1. Дати визначення ключовим словам:
Реплікація ДНК – це ...
Напівконсервативний механізм реплікації ...
 - 1.2. Представити схему експерименту М.Мезелсона та Ф.Сталя

2. Загальна схема біосинтезу ДНК. Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів (розплітаючі білки, праймаза, ДНК-полімерази, ДНК-лігаза). Етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК (значення антипаралельності ланцюгів ДНК; фрагментів Оказаки).

2.1. Представити загальну схему біосинтезу ДНК у системі Корнберга, пояснити необхідність вихідної (матричної, материнської) ДНК.

2.2. Дати характеристику ензимам біосинтезу ДНК у прокаріотів:

1) ДНК-полімераза I...

2) ДНК-полімераза II...

3) ДНК-полімераза III...

та еукаріотів:

α – ...

\square - ...

γ – ...

δ – ...

ε – ...

Афідиколін — це.... Він впливає на

2.3. Описати ензими, які забезпечують подолання топологічних проблем реплікації ДНК:

топоізомерази, зокрема

ДНК-гіраза

хелікази

білки, що зв'язують одностикові ДНК (SSB) -

2.4. Пояснити значення антипаралельності ланцюгів ДНК. Дати визначення

лідуючий ланцюг – ...

відстаючий ланцюг – ...

праймер — це...

фрагменти Оказаки – це ...

2.5. Описати етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК на лідуючому і відстаючому ланцюгах. Представити схему реплікативної вилки, на якій зазначити

- лідуючий ланцюг

- відстаючий ланцюг

- місця утворення праймерів -

- фрагменти Оказаки

- описати дію ферментів

3. Транскрипція РНК. РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів. Будова транскриптона (оперона). Сигнали транскрипції: промоторні, ініціаторні, термінаторні ділянки генома. Етапи синтезу РНК. Значення зворотної транскриптази. Антибіотики – інгібітори транскрипції.

3.1. Дати визначення поняттям:

транскрипція – це ...

3.2. Дати характеристику РНК-полімераз прокаріотів і еукаріотів.

Альфа-аманітин — це... Він впливає на ...

3.2. Дати визначення поняття

оперон – це ...

та описати його структуру:

1) *структурні гени – це ...*

2) *контрольні сайти:*

а) промотор (р) – це ...

б) оператор (о) – це ...

3) *регуляторний ген – це...*

4) *моноцистронна РНК – це...*

5) *поліцистронна РНК – це...*

3.3. Описати етапи синтезу РНК

Сигнали транскрипції:

1) промотори транскрипції:

- *«-35-послідовність» – ...*

- *«-10-послідовність» або «блок Приб нова» – ...*

2) ініціація транскрипції – включення Пуp-5'-ФФФ, сильні та слабкі промотори;

3) елонгація транскрипції

4) термінація транскрипції:

- *досягнення термінуючи ділянок, що містять паліндроми*

- *дія р-фактора.*

Дати визначення “паліндроми” - це...

3.4. Описати механізм транскрипції в еукаріотів.

3.5. Антибіотики – інгібітори транскрипції. Описати їх принцип дії:

актиноміцин D –

рифаміцин та рифампіцин –

4. Процесинг – посттранскрипційна модифікація РНК; етапи процесингу.

4.1. Описати етапи процесингу.

4.2. Дати визначення поняттям:

- *первинний транскрипт – це ...*

- *«кеп» – це...*

- *поліаденілатний «хвіст» – це...*

- *екзон – це ...*

- *інтрон – це...*

- *сплайсинг – це ...*

5. Регуляція експресії генів прокаріотів: схема регуляції за Ф. Жакобом та Ж. Моно. Будова Lac-оперону E.coli, принципи його функціонування (репресія, індукція).

5.1. Написати схему регуляції експресії генів за Ф. Жакобом та Ж. Моно на прикладі біосинтезу β-галактозидази в E.coli – теорія оперона.

5.2. Зобразити схему будови Lac-оперону E.coli і дати пояснення кожного компонента

5.3. Пояснити принцип діяльності Lac-оперону:

1) *репресія Lac-оперону*

2) *індукція Lac-оперону*

Пояснити фізіологічне значення цього феномена.

6. Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції; система транскрипційних сигналів – промоторні послідовності, енхансери, атенюатори, сайленсери.

6.1. Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції:

1) промотори

2) специфічні послідовності мРНК:

- «енхансери» – підсилювачі

- «атенюатори» – послаблювачі

- «сайленсери» – заглушувачі

3) регуляторні білки

7. Особливості молекулярної організації та експресії геному в еукаріотів. Ядерний хроматин еукаріотів; ковалентна модифікація гістонів та НГБ як один з механізмів контролю експресії генів.

7.1. Особливості регуляції експресії геному в еукаріотів:

- на рівні структурної організації геному

- на рівні транскрипції

- на рівні трансляції

7.2. Особливості молекулярної організації ДНК еукаріотів: екзони, інтрони, послідовності ДНК, що повторюються

7.3. Ядерний хроматин еукаріотів; ковалентна модифікація гістонів та НГБ: ацетилювання, фосфорилування-дефосфорилування.

8. Генетичні рекомбінації; транспозони. Рекомбінації геному прокариотів (трансформація, трансдукція, кон'югація). Процеси рекомбінації у еукаріотів на прикладі утворення генів Н– та L–ланцюгів молекул імуноглобулінів.

8.1. Дати визначення поняттю генетичні рекомбінації; намалювати схему вбудови транспозону в реципієнтну ДНК.

8.2. Описати можливі рекомбінації геному прокариотів:

трансформація – це ...

трансдукція – це ...

кон'югація – це ...

8.3. Пояснити процеси рекомбінації у еукаріотів на прикладі утворення генів Н– та L–ланцюгів молекул імуноглобулінів

9. Ампліфікація генів (гени металотіонеїну, дигідрофолатредуктази): визначення, біологічне значення.

9.1. Дати визначення поняття

Ампліфікація генів – це ...

Біологічне значення ампліфікації генів ...

9.2. Приклади ампліфікації генів вищих організмів:

1) *ампліфікація генів металотіонеїну*

2) *ампліфікація генів дигідрофолатредуктази*

9.3. Ланцюгова полімеразна реакція. Визначення, принцип, застосування в медицині

10. Мутації: геномні, хромосомні, генні (точкові); роль у виникненні ензимопатії та спадкових хвороб людини. Біохімічні механізми дії хімічних

мутагенів – аналогів азотистих основ, дезамінуючих, алкілюючих агентів, ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання.

10.1. Описати можливі мутації:

- спонтанні – це
- індуковані – це ...

Класифікація мутацій:

1) геномні мутації – це ...

2) хромосомні мутації – це ...

транспозиції – це ...

транслокації – це ...

інверсії – це ...

делеції – це ...

дуплікації – це ...

3) генні (точкові) мутації – це ...

заміни нуклеотидів – це ...

трансцизії – це ...

трансверзії – це ...

випадіння (делеції) – це ...

вставки (вбудовування) – це ...

10.2. Мутагени – це ...

1) аналоги азотистих основ –

2) хімічні мутагени -

а) дезамінуючі агенти...

б) алкілюючі агенти...

3) УФ- та іонізуюче опромінення –

11. Біологічне значення та механізми репарації ДНК. Репарація УФ-індукованих генних мутацій; пігментна ксеродерма; репарація дезамінування цитозину.

11.1. Описати механізми

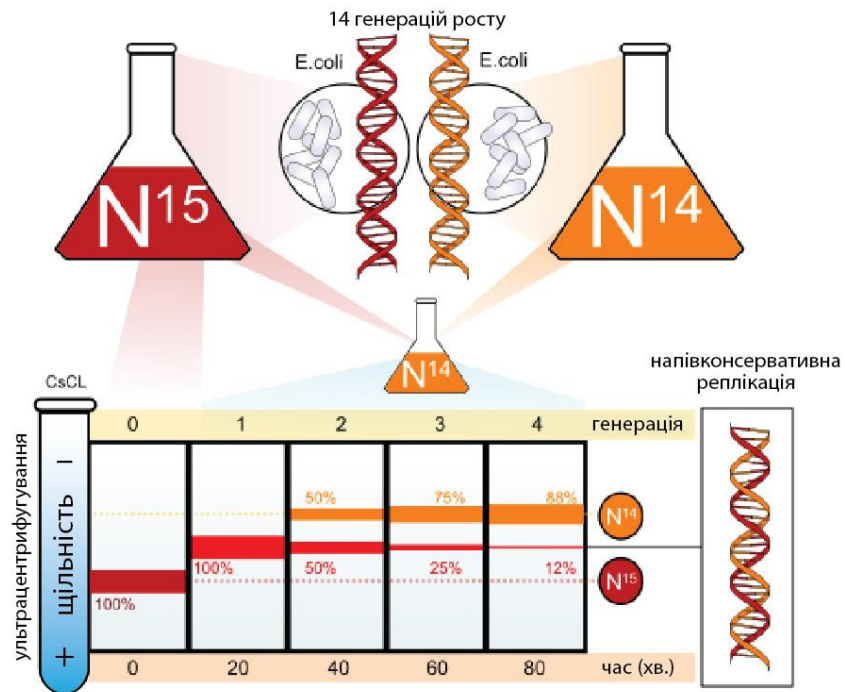
1) репарації УФ-індукованих генних мутацій

2) репарації дезамінування цитозину.

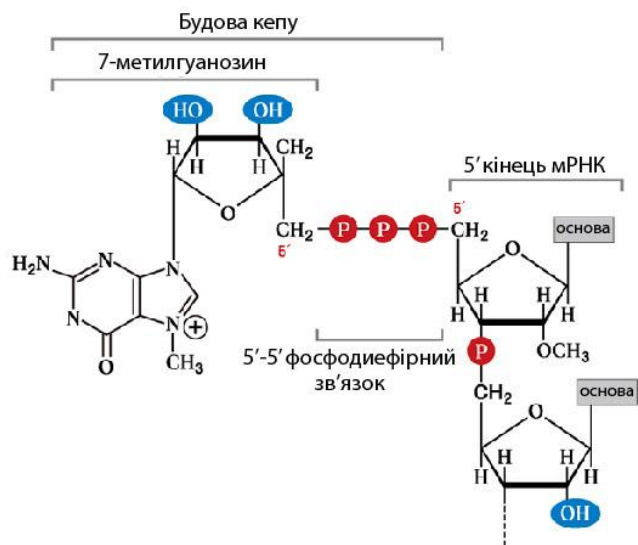
11.2. Пігментна ксеродерма: успадкування, причини виникнення, клініка.

12. Азот є структурним компонентом ДНК. ^{14}N є найпоширенішим ізотопом азоту у природі, однак відомо, що ДНК з важким (але не радіоактивним) ізотопом азоту ^{15}N ізотопу є також функціональними. Згідно з цією інформацією поясніть результати експерименту Мезельсон та Сталя схему якого зображено на рисунку нижче.

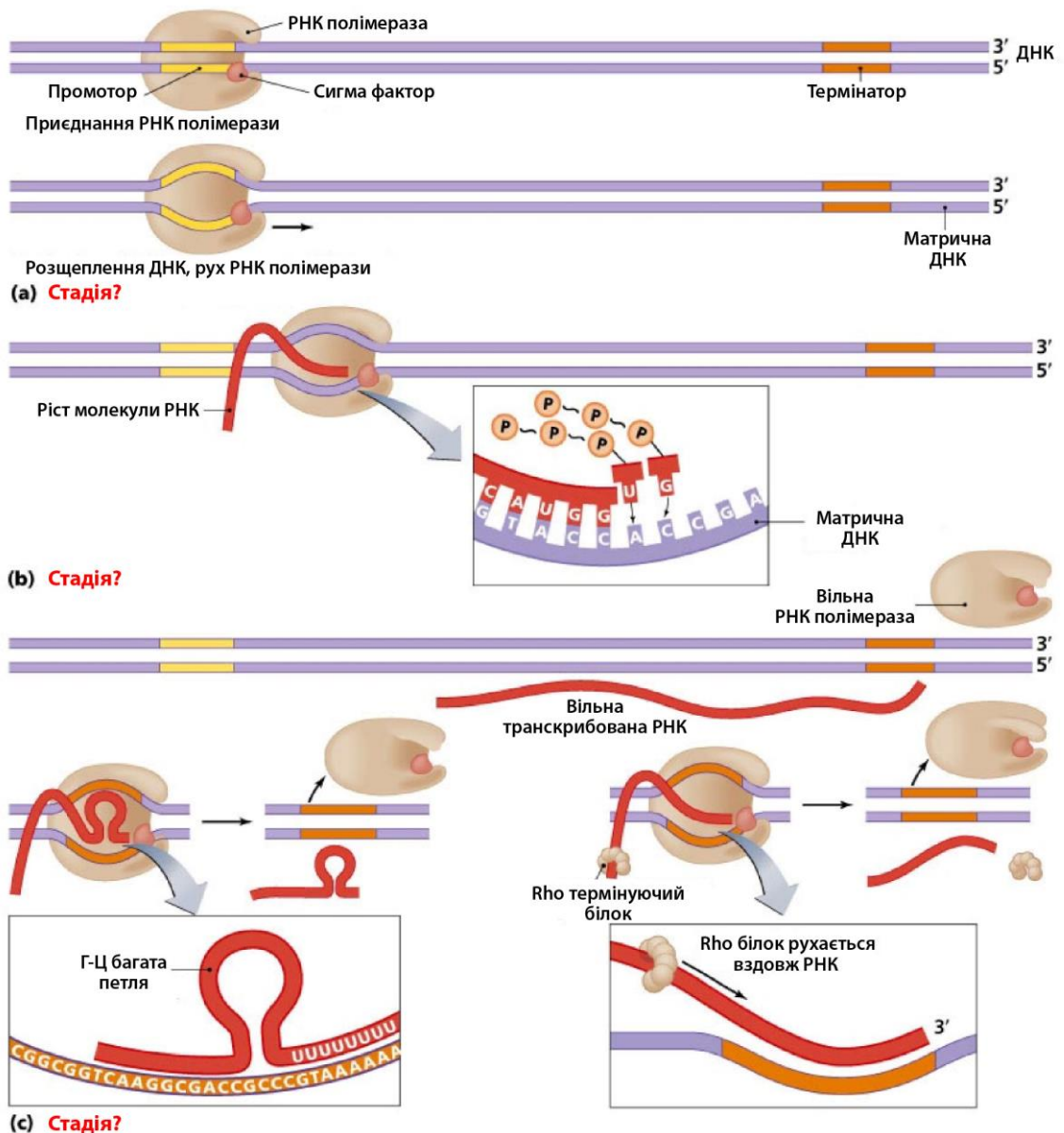
а. Яка гіпотеза механізму реплікації ДНК була підтверджена у цьому експерименті?



13. Назвіть структуру зображену на рисунку і поясніть її роль в процесінгу мРНК у еукаріот



14. а. Назвіть етапи транскрипції. б. Пояснити роль промотора, РНК-полімерази, сигма-фактора і термінуючої ділянки в процесі синтезу РНК. в. Які типи термінації транскрипції РНК ви знаєте? Поясніть їх механізми дії. г. Які основні відмінності між транскрипцією в еукаріотичних і прокаріотичних клітинах? д. Які сполуки інгібують транскрипцію в еукаріот?



Матеріали до самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 3

1. Похідне уридину – фторурацил, який перетворюється в клітині в фтордезоксиридилат – сильний незворотній інгібітор тимідилатсинтази. Як пояснити факт пригнічення фторурацилом швидкого поділу ракових клітин у експериментальних тварин?
2. У пацієнта діагностовано пігментну ксеродерму. Його шкіра є надзвичайно чутливою до пошкоджуючої дії сонячного світла. Поясніть причину виникнення цієї патології. Наслідком спадкового порушення синтезу якого УФ-специфічного ферменту є це захворювання?

3. Молекулярний аналіз гемоглобіну пацієнта з анемією виявив заміну 6–Глу на 6–Вал у β –ланцюзі. Який молекулярний механізм даної патології? Які наслідки такої зміни?
4. В організм людини потрапили іони ртуті. Це призвело до збільшення частоти транскрипції гена, необхідного для детоксикації важких металів. Ампліфікація гена якого білка лежить в основі цього процесу? Який наслідок це має для організму?
5. У пацієнта діагностовано СНІД. У його лейкоцити потрапила РНК вірусу СНІДу, де за участю ферменту ревертази розпочався синтез вірусної ДНК. Який процес лежить в основі цього процесу?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Похідні птерину – аміноптерин і метотрексат – є конкурентними інгібіторами дигідрофолатредуктази, внаслідок чого вони пригнічують регенерацію тетрагідрофолієвої кислоти з дигідрофолату. Ці лікарські засоби приводять до гальмування міжмолекулярного транспорту одновуглецевих груп. Біосинтез якого полімеру при цьому пригнічується?	А *ДНК В Білок С Гомополісахариди D Гангліозиди Е Глікозаміноглікани	
2.	Для лікування урогенітальних інфекцій використовують хінолони - інгібітори ферменту ДНК-гірази. Укажіть, який процес порушується під дією хінолонів у першу чергу.	А *реплікація ДНК В репарація ДНК С ампліфікація генів D рекомбінація генів Е зворотна транскрипція	
3.	На судово-медичну експертизу надійшла кров дитини та передбачуваного батька для встановлення батьківства. Вкажіть ідентифікацію яких хімічних компонентів необхідно здійснити в дослідній крові.	А *ДНК В т-РНК С р-РНК D м-РНК Е мя-РНК	
4.	Для лікування злоякісних пухлин	А *Нуклеотидів ДНК	

	призначають метотрексат-структурний аналог фолієвої кислоти, який є конкурентним інгібітором дігідрофолатредуктази і тому подавляє синтез:	В Моносахаридів С Жирних кислот D Гліцерофосфатидів Е Глікогену	
5.	При отруєнні аманітином – отрутою блідої поганки блокується РНК-полімераза В(II). При цьому припиняється:	А *Синтез мРНК В Синтез тРНК С Зворотня транскрипція D Синтез праймерів Е Дозрівання мРНК	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Вроджені і набуті порушення механізмів репарації ДНК.

План:

1. Механізми репарації ДНК.
2. Репарація УФ-індукованих генних мутацій.
3. Репарація дезамінування цитозину.
4. Причина порушення репарації ДНК при пігментній ксеродермі. Прояви пігментної ксеродерми.
5. УФ-індуковані меланоми.

Рекомендована література:

1. Антіпова С.В. Злоякісні новоутворення шкіри. В книзі „Вибрані лекції з клінічної онкології.” Під заг. ред. Г.В. Бондаря і С.В. Антіпової. – Луганськ. 2009. – С.44-83.
2. Щепотін І.Б., Ганул В.Л., Кліменко І.О. та ін. Пухлини шкіри. //Онкологія. Підручник. – К.: Книга плюс, 2006. – С. 459-474.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 251-264.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 344 - 360.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 448–506.
4. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 205-219.
5. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
6. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 292 - 304.

7. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 297 с.
8. Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. – К.: Академперіодика, 2017. – С. 59 - 64.
9. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
10. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H. Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
11. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 523-565.
12. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 64-93.
2. Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. – М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2003. – 544 с.
3. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей. Пер с англ. М.: БИНОМ-Пресс, 2003.- 272 с.
4. Основи біохімії за Ленінджером / Девід Л.Нельсон, Майкл М. Кокс. – Львів.: вид-во «БаК», 2015. – С. 988 - 1069.

Тема № 4. Біосинтез білка у рибосомах. Дослідження процесів ініціації, елонгації та термінації в синтезі поліпептидного ланцюга. Інгібіторна дія антибіотиків. Засвоєння принципів генної інженерії та клонування генів, їх застосування в сучасній медицині.

Мета заняття: Знати загальні закономірності синтезу білків, етапи цього процесу, можливі механізми виникнення та розвитку спадкових захворювань. Засвоїти механізм дії антибіотиків та інших інгібіторів синтезу білків. Знати принципи генної інженерії та клонування генів, їх застосування в сучасній медицині. Засвоїти принцип методу полімеразної ланцюгової реакції в експрес-діагностиці.

Актуальність теми: Білки – це генетично детермінована система, яка генетично запрограмована специфічним набором для кожного індивідуума притаманних тільки йому білкових молекул і з якими пов’язана сутність життя. При вивченні даної теми акцентувати увагу на сучасних досягненнях генної інженерії, в тому числі клонуванні генів, що важливо для вивчення як нуклеотидної послідовності досліджуваного гена, так і послідовності мРНК і білка, які кодується цим геном. Завдяки генній інженерії здійснено синтез

інтерферону людини, людських інсуліну, соматотропіну, соматостатину, білкових препаратів для діагностики СНІДу тощо. Зокрема, в останні роки в діагностиці багатьох захворювань та виявленні бацілоносіїв використовують експрес-метод – полімеразну ланцюгову реакцію.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти намалювати схему ходу полімеразної ланцюгової реакції, знати принцип методу полімеразної ланцюгової реакції;
- Вміти трактувати поняття білок–синтезуючої системи в рибосомах; пояснювати механізми функціонування білок-синтезуючої системи за участю ферментів активації амінокислот, ініціації, елонгації та термінації біосинтезу поліпептидних ланцюгів.
- Вміти пояснювати біохімічні процеси посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів.
- Пояснювати біохімічні та молекулярно–біологічні принципи методів генної інженерії, технології рекомбінантних ДНК, трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК.
- Пояснювати принципи клонування генів з метою отримання біотехнологічних лікарських засобів.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Пояснювати вплив фізіологічно активних сполук й антибіотиків на процеси трансляції.

Базові знання

Дисципліна: біологічна хімія, біоорганічна хімія

Отримані навички: вміти писати схему ПЛР.

Теоретичні питання

1. Генетичний (біологічний) код; його властивості. Характеристика таблиці генетичного коду.
2. Рибосомальна білоксинтезуюча система. Компоненти білоксинтезуючої системи рибосом.
3. Будова транспортних РНК та механізм активація амінокислот. Аміноацил–тРНК–синтетази.
4. Етапи та механізми трансляції: ініціація, елонгація, термінація. Ініціюючі та термінуючі кодони мРНК; роль білкових факторів рибосом в трансляції.
5. Регуляція трансляції. Молекулярні механізми контролю трансляції на прикладі біосинтезу глобіну.
6. Механізми посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів.
7. Вплив фізіологічно активних сполук на процеси трансляції. Антибіотики – інгібітори транскрипції та трансляції у прокариотів та еукаріотів, їх біомедичне застосування.
8. Біохімічні механізми противірусної дії інтерферонів. Блокування біосинтезу білка дифтерійним токсином (АДФ–рибозилування факторів трансляції).

9. Генна інженерія, або технологія рекомбінантних ДНК: загальні поняття, біомедичне значення. Технологія трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК; застосування рестрикційних ендонуклеаз. Клонування генів з метою отримання біотехнологічних лікарських засобів та діагностикумів (гормонів, ферментів, антибіотиків, інтерферонів та ін.).
10. Ланцюгова полімеразна реакція; її біомедичне застосування в діагностиці інфекційних та спадкових хвороб людини, ідентифікації особи ("ДНК-діагностика").

Практична робота

Дослід № 1. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

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.

Принцип методу. 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.

Матеріальне забезпечення: 1) Обладнання: прилад ампліфікатор (забезпечує досліджуваним зразкам проходження необхідної кількості циклів, що включають: денатурацію ДНК при температурі $94 \pm 2^\circ\text{C}$; відпалювання праймерів при температурі від 50 до 65°C ; синтез при температурі $72 \pm 2^\circ\text{C}$; точність температурного режиму $< 0,5^\circ\text{C}$; швидкість переходу температури $> 1,5^\circ\text{C}/\text{c}$; тривалість циклів від 1 с до 4 хв та їх кількість – до 40); автоматичні мікропіпетки на 10 і 20 мкл з точністю до $0,5$ мкл; пластикові пробірки на $0,2$; $0,5$ та $1,5$ мл; одноразові наконечники до мікропіпеток; мікроцентрифуга; вортекс; апарат для електрофорезу ДНК в агарозному гелі; джерело постійного електричного струму (V – 50 - 250В , I – до 50мА); транслюмінатор з фільтром на 310 нм; ламінарний бокс або бокс для ПЛР; фотоапарат з приставкою для реєстрації результатів ПЛР.

2) Реактиви: Для виділення ДНК з досліджуваних зразків застосовують фенольний або гуанідиновий методи. Використовують такі набори реагентів:

1. Набір для виділення ДНК із біопроб на 100 зразків (зберігають при $+4^\circ\text{C}$): розчин I (лізуючий) 30мл , розчин II (промивний) 10 мл, розчин III (промивний) 200 мл, сорбент 1000 мкл, TE-буфер 5мл .

2. Набір для виділення ДНК/РНК із сироватки та плазми крові на 100 зразків (зберігають при $+4^\circ\text{C}$): денатуруючий розчин – 45 мл, ізопропіловий спирт – 30 мл, промивний розчин – 100 мл, розчин носія – 300 мкл, вода дейонізована – 3 мл, хлороформ – 12 мл.

3. Набір для проведення ПЛР на 110 визначень (зберігати при температурі – 20°C): реакційна суміш 300 мкл, Тад-полімераза (5 од/мкл) 25 мкл, вода дейонізована – 2 мл, масло вазелінове – 2 мл, ДНК контрольна – 50 мкл. Реактив – термостабільну ДНК–полімеразу отримують із спеціального штама *Vac. termophilis*, сконструйованого методами генної інженерії.

4. Набір для приготування реакційної суміші, до складу якої входять: розчин ДНТФ (дезоксинуклеозидтрифосфати), розчин специфічних праймерів, ПЛР-буфер, барвник. Основним реактивом тут є праймери – специфічні для кожного виду ділянки ДНК; їх отримують хімічним синтезом з відповідною послідовністю для даного виду, що складає 20-30 нуклеотидів. Праймери патентуються і строго зберігаються.

Набори призначені для виявлення *in vitro* ДНК збудників інфекційних захворювань у біологічних зразках методом ПЛР з праймерами, специфічними до фрагментів геномів цього збудника і можуть бути використані для діагностики і контролю за специфічною терапією певної інфекції, а також бацилоносійства.

Кожний набір розрахований на проведення аналізу 100 клінічних зразків при наявності ДНК збудників 10 зразків позитивного контрольного зразка та 10 зразків негативного (усього 120 визначень).

Зберігання та експлуатація реактивів:

1. Комплекти для виділення ДНК та проведення електрофорезу повинні зберігатися при температурі 4-10°C.

2. Комплект для проведення ПЛР повинен зберігатися при температурі – 18-25°C.

Хід роботи:

Принципова схема полімеразної ланцюгової реакції представлена студентам у відеофільмі, який вони передивляються перед виконанням практичної роботи.

Схема проведення ПЛР

1. підготовка клінічних зразків (біоптати тканин, крапля крові, сперма, слиз жіночих статевих органів, осад сечі, волосся людини, зішкреби епітеліальних клітин тощо);
2. виділення ДНК зі зразків (ДНК–матриці генів клітин, вірусів і бактерій більш стійкі, ніж РНК, і тому вони придатні для ПЛР після тривалого часу, навіть після тисячолітньої давності їх існування);
3. проведення циклів полімеразної ланцюгової реакції (реакції ампліфікації) – кожний цикл складається з трьох стадій з різними температурними режимами.

На першій стадії при 94°C проходить розділення ланцюгів ДНК (денатурація ДНК), на другій при 50–65°C – приєднання (відпалювання) праймерів до гомологічних послідовностей на ДНК–мішені і на третій при температурі 72°C – синтез нових ланцюгів ДНК, тобто комплементарна добування ДНК шляхом подовження праймера у напрямку 5'–3' з участю ДНК–полімерази в присутності іонів магнію.

Таким чином, у першому циклі ампліфікації синтезуються продукти, які стають матрицями для другого циклу ампліфікації, в результаті якого,

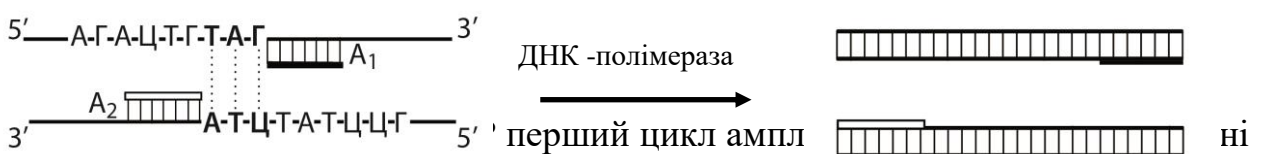
власне, і утворюється досліджуваний специфічний фрагмент ДНК – амплікон. Починаючи з третього циклу, амплікони стають матрицями для синтезу нових ланцюгів, тобто у кожному циклі здійснюється подвоєння кількості копій, що дозволяє за 25–40 циклів напрацювати фрагмент ДНК, обмежений парою відібраних праймерів, у кількості, якої достатньо для її детекції за допомогою електрофорезу;

4. розділення продуктів ампліфікації методом горизонтального електрофорезу в агарозному або поліакриламідному гелі; виявляють смуги фрагментів ДНК (ампліконів) за допомогою флуоресцентного барвника (хромофора) – бромистого етидія;
5. перенесення геля на скло транслюмінатора;
6. аналіз результатів при ввімкнутому транслюмінаторі, а саме виявлення фрагментів аналізованої ДНК у вигляді оранжево-червоних смуг при УФ–випромінюванні з довжиною хвилі 310 нм; кількість ампліконів визначають за інтенсивністю їх флуоресценції. Отримані результати можна документувати фотографуванням гелів з використанням оранжевого або інтерференційного (594 нм) світлового фільтру.

Практична робота студентів передбачає вирішення теоретичної задачі з полімеразної ланцюгової реакції. Для запропонованої ділянки ДНК необхідно написати продукти першого, другого і третього циклів ампліфікації (приєднання нуклеотидів відбувається за принципом комплементарності) і написати структуру амплікону.

Приклад задачі

У хворої з попереднім діагнозом на трихомоніаз для ПЛР використали зішкреби епітеліальних клітин уретри. Після виділення ДНК та приєднання праймерів до кожного з ланцюгів ДНК недобудованими залишились дві ділянки (виділені жирним шрифтом):



другий та третій цикли, до утворення двох кінців ампліконів, які стають матрицями подальших полімеразних реакцій.

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. У медицині метод ПЛР застосовується для діагностики інфекцій шляхом ідентифікації патогенних бактерій і вірусів у біологічних рідинах та біоптатах тканин людини. З метою діагностики кожної інфекції підбираються специфічні системи праймерів для ПЛР. За допомогою ПЛР одну молекулу ідентифікованої ДНК можна виявити в присутності мільйонів інших молекул ДНК. При наявності відповідних наборів можна діагностувати декілька збудників захворювання в одній пробі. Чутливість реакції 97–99 %. ПЛР широко використовують у ранній діагностиці ВІЛ–інфекції, бацилоносійства, вірусних гепатитів тощо, а також для моніторинга і

оцінки специфічної терапії певної інфекції, резистентності та чутливості до антибіотиків.

Крім того метод ПЛР використовують для виявлення спадкових захворювань (фенілкетонурія, гемофілія та ін.), проведення „молекулярної дактилоскопії” у судовій практиці, встановлення батьківства, наявності порушень в геномі при онкологічних захворюваннях тощо.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Обґрунтувати механізм дії антибіотиків – інгібіторів ініціації: стрептоміцину, ауринтрикарбоксілової кислоти, рифаміцину, рифампіцину.
2. Обґрунтувати механізм дії антибіотиків – інгібіторів елонгації: аміцетину, хлорамфеніколу, еритроміцину, циклогексиміду, пуроміцину, тетрациклінів.
3. Обґрунтувати механізм дії антибіотиків – інгібіторів термінації: анізоміцину, хлорамфеніколу, еритроміцину, лінкоцину, стрептоміцину.
4. Пояснити механізм дії інтерферонів.
5. Пояснити механізм дії дифтерійного токсину.
6. Пояснити, які методи генної інженерії можуть бути використані в біології та медицині.
7. У сучасних біохімічних дослідженнях для діагностики спадкових захворювань, виявлення присутності в організмі певних вірусів (в тому числі ВІЛ), ідентифікації особини (генна дактилоскопія у судовій медицині) використовується так звана “ДНК-діагностика”. Який метод використовується з цією метою?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №4

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Генетичний (біологічний) код; його властивості. Характеристика таблиці генетичного коду.
 - 1.1. Дати визначення
Генетичний код – це...
 - 1.2. Структура генетичного коду.
 - 1.3. Описати властивості генетичного коду:
Універсальний – це...
Однонаправлений – це..
Безперервний – це...
Такий, що не перекривається –
Вироджений – це...
2. Рибосомальна білоксинтезуюча система. Компоненти білоксинтезуючої системи рибосом.
 - 2.1. Описати компоненти білоксинтезуючої системи рибосом:
рибосоми, мРНК (іРНК), α-L-амінокислоти, тРНК, аміноацил-тРНК-синтетази, регуляторні білки, коферменти.
 - 2.2. Заповнити таблицю «Склад білоксинтезуючої системи у про- і еукаріотів протягом трансляції»

№ з/п	Стадія трансляції	Прокаріоти	Еукаріоти
1	Активація амінокислот		
2	Ініціація		
3	Елонгація		
4	Термінація		
5	Процесінг і формування третинної структури (посттрансляційні зміни)		

3. Будова транспортних РНК та механізм активації амінокислот. Аміноацил-тРНК-синтетази.

3.1. Зазначити особливості будови транспортних РНК та механізм активації амінокислот. Аміноацил-тРНК-синтетази.

3.2. Намалювати схему взаємодії тРНК з амінокислотами.

4. Етапи та механізми трансляції: ініціація, елонгація, термінація. Ініціюючі та термінуючі кодони мРНК; роль білкових факторів рибосом в трансляції.

4.1. Описати етапи трансляції: ініціація, елонгація (пептидилтрансферазна реакція, реакція транслокації), термінація.

4.2. Описати ініціюючі та термінуючі кодони мРНК; роль білкових факторів ініціації рибосом в трансляції.

5. Регуляція трансляції. Молекулярні механізми контролю трансляції на прикладі біосинтезу глобіну.

5.1. Описати молекулярні механізми контролю трансляції на прикладі біосинтезу глобіну.

5.2. Намалювати схему цАМФ-залежної каскадної системи регуляції трансляції глобіну.

6. Механізми посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів.

6.1. Дати визначення

Посттрансляційна модифікація – це...

6.2. Навести приклади реакцій посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів:

а) модифікація N- та C-кінців -...

б) модифікація гідроксильних, амінних та карбоксильних груп у бічних радикалах пептидів -...

в) приєднання простетичних груп – вуглеводів, гему, коферментів - ...

г) хімічна модифікація ковалентної основи амінокислотних залишків -

...

7. Вплив фізіологічно активних сполук на процеси трансляції. Антибіотики – інгібітори транскрипції та трансляції у прокаріотів та еукаріотів, їх біомедичне застосування.

7.1. Заповнити таблицю механізму дії та властивостей антибіотиків – інгібіторів трансляції.

№ з/п	Етап трансляції	Антибіотики	Механізм дії	Чутливість (прокаріоти, цитоплазма еукаріотів, мітохондрії еукаріотів)
1	Ініціація	...		
2	Елонгація	...		
3	Термінація	...		

8. Біохімічні механізми противірусної дії інтерферонів. Блокування біосинтезу білка дифтерійним токсином (АДФ–рибозилування факторів трансляції).

8.1. Описати механізми противірусної дії інтерферонів

8.2. Пояснити молекулярний механізм дії дифтерійного токсину (АДФ–рибозилтрансферази).

9. Генна інженерія, або технологія рекомбінантних ДНК: загальні поняття, біомедичне значення. Технологія трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК; застосування рестрикційних ендонуклеаз. Клонування генів з метою отримання біотехнологічних лікарських засобів та діагностикумів (гормонів, ферментів, антибіотиків, інтерферонів та ін.).

9.1. Дати визначення

Генна інженерія – це ...

9.2. Біомедичне значення методів генної інженерії:

1) отримання нових генотипів організмів

2) генна терапія

9.3. Описати етапи трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК.

9.4. Клонування генів з метою отримання біотехнологічних лікарських засобів та діагностикумів (гормонів, ферментів, антибіотиків, інтерферонів та ін.).

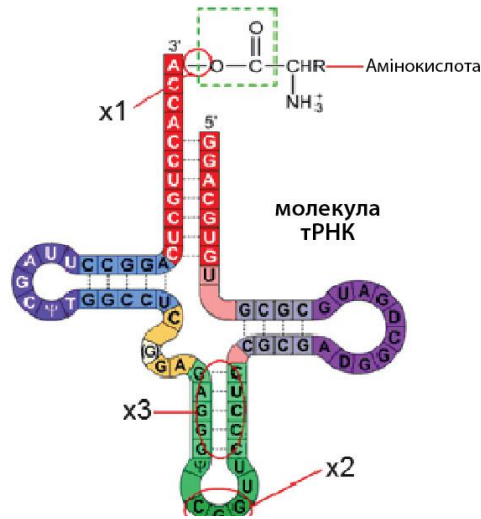
10. Ланцюгова полімеразна реакція; її біомедичне застосування в діагностиці інфекційних та спадкових хвороб людини, ідентифікації особини ("ДНК–діагностика").

10.1. Описати суть ПЛР та навести приклади її застосування.

11. Перетворення інформації зашифрованої у кодонах іРНК у послідовність амінокислот у молекулі білка реалізується за участі тРНК. Використовуючи малюнок нижче назвіть ділянки тРНК та вкажіть їхню роль (x1, x2, x3).

X1 - ?
 X2 - ?
 X3 - ?

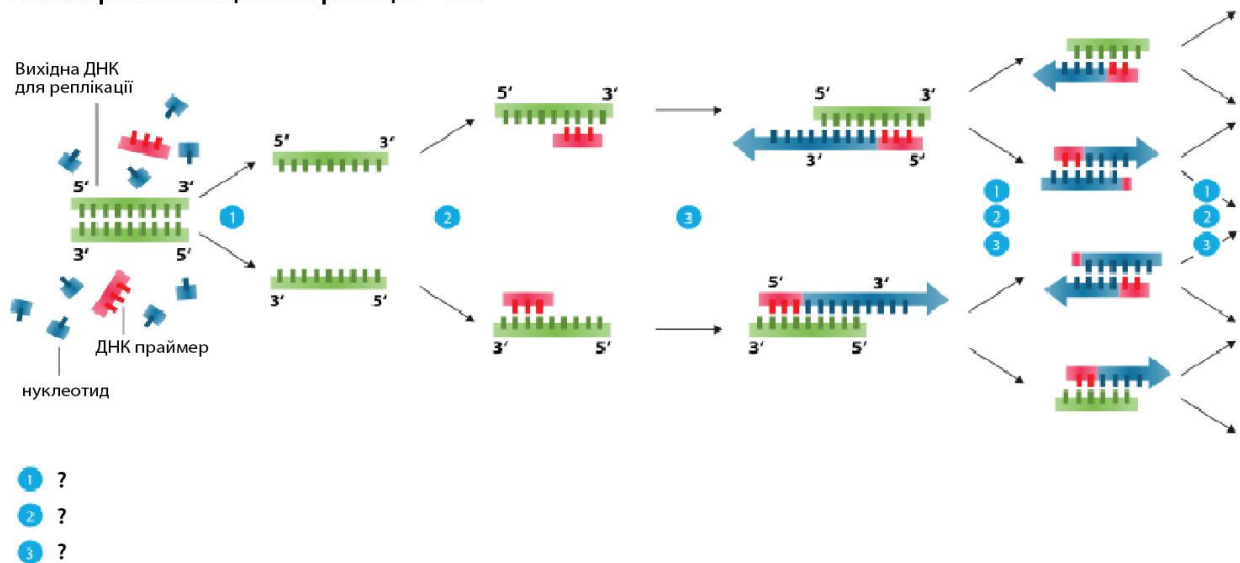
12. Полімеразна ланцюгова (ПЛР або PCR) — експериментальний метод молекулярної біології, спосіб збільшення малих концентрацій фрагментів ДНК в біологічному (пробі). Крім простого



реакція

значного бажаних матеріалі збільшення

Полімеразна ланцюгова реакція – ПЛР

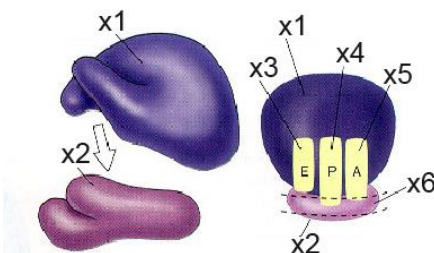


числа копій ДНК (цей процес називається ампліфікацією), ПЛР дозволяє проводити безліч інших маніпуляцій з генетичним матеріалом (введення мутацій, зрощення фрагментів ДНК), і широко використовується в біологічній і медичній практиці, наприклад для клонування генів, введення мутацій, виділення нових генів, секвенування, для створення і визначення генетично модифікованих організмів, діагностики захворювань (спадкових, інфекційних), ідентифікації малих кількостей ДНК, встановлення батьківства. Як правило, ПЛР складається з серії 20-40 повторюваних температурних змін, циклів, причому кожен цикл зазвичай складається з 3 етапів (малюнок нижче). Назвіть етапи ПЛР. Який фермент каталізує крок 3? Поясніть клінічне застосування ПЛР.

13. Рибосома є немембранною органелою клітини, що складається з рРНК та рибосомних білків. Рибосома здійснює біосинтез білків транслюючи з мРНК поліпептидний ланцюг. Таким чином, рибосому можна вважати фабрикою, що виготовляє білки, базуючись на наявній генетичній інформації. Активні (ті що є в процесі трансляції) рибосоми знаходяться переважно у вигляді полісом.

На рисунку вкажіть сайти зв'язування для молекул РНК та субодиниці рибосоми, поясніть їхню роль у процесі трансляції.

- x1 - ?
- x2 - ?
- x3 - ?
- x4 - ?
- x5 - ?
- x6 - ?



14. Назвіть стадії трансляції, що інгібуються антибіотиками зображеними на рисунку:

Матеріали до самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 4

1. Тетрацикліни – це антибіотики широкого спектру дії, які є інгібіторами синтезу білків прокаріот за рахунок впливу на 70 S рибосоми, не впливаючи при цьому на 80 S рибосоми еукаріот. Рибосоми мітохондрій еукаріот за структурою подібні до рибосом прокаріот (70 S). Використовуючи ці дані, поясніть токсичний ефект тетрациклінів.
2. Що розуміють під поняттям ”клінічний зразок” для ПЛР?
3. На чому ґрунтується полімеразна ланцюгова реакція? Назвіть склад реакційної суміші для проведення ПЛР.
4. Охарактеризуйте три стадії циклу синтезу (ампліфікації) специфічної ділянки ДНК–мішені.
5. З якою метою при проведенні ПЛР використовують затравку– праймер? На чому ґрунтується підбір системи праймерів для діагностики кожної інфекції?
6. Яке клініко-діагностичне та практичне значення ПЛР як методу експрес-діагностики?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Для утворення транспортної форми амінокислот для синтезу білка необхідно:	А. *Аміноацил-тРНК В. ГТФ С. мРНК D. Рибосома E. Ревертаза	
2.	Виродженість генетичного коду – це здатність декількох	А. *Метіонін B. Серин	

	триплетів кодувати 1 амінокислоту. А яка амінокислота кодується 1 триплетом?	С. Аланін D. Лейцин E. Лізин	
3.	Генний апарат людини містить біля 30 тисяч генів, а кількість варіантів антитіл сягає мільйонів. Який механізм використовується для утворення нових генів, що відповідають за синтез такої кількості антитіл?	A. *Рекомбінація генів B. Ампліфікація генів C. Реплікація ДНК D. Репарація ДНК E. Утворення фрагментів Оказакі	
4.	У дитини, що хворіє на дифтерію, виявлено фібринозний наліт на мигдаликах. Який процес інгібує дифтерійний токсин?	A. * Синтез білка B. Глюконеогенез C. Фібриноліз D. β -окислення жирних кислот E. Синтез біогенних амінів	
5.	У всіх живих організмів одні і ті ж триплети кодують одні і ті ж амінокислоти, що дозволяє пересадити Е. coli ген інсуліну людини. Як називається ця властивість генетичного коду?	A. *Універсальністю B. Виродженістю C. Надлишковістю D. Триплетністю E. Неперервністю	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Генна інженерія. Клонування. Застосування методів генної інженерії у сучасній медицині.

План:

1. Використання ДНК-технологій для вирощування мікроорганізмів як продуцентів гормонів — інсуліну, гормону росту, соматостатину.
2. Використання ДНК-технологій для синтезу біологічно активних пептидів, факторів згортання крові
3. Використання ДНК-технологій для лікування спадкових захворювань

Рекомендована література:

1. Б. Глик, Дж. Пастернак. Молекулярная биотехнология. Методы и применения. Н. В. Бакакова (пер.с англ.). — М.: Мир, 2003. — 590 с.
2. Слободян В. О. Основи біотехнології: Навч. посіб. / Ін-т менеджменту та економіки. - Івано-Франківськ, 2002. - 188 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 265-286, 290 - 301.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 361 - 395.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 448 – 506.
4. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 205-219.
5. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 305 - 337.
6. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 297 с.
7. Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. – К.: Академперіодика, 2017. – С. 59 - 64.
8. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
10. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 542-618.
11. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Жиравецький М.І. Методи детекції нуклеїнових кислот в діагностиці статевих трансмісивних хвороб // Лаб. діагностика. – 2001. – № 1. – С. 28–34.
2. Кінах М.В., Луцик Б.Д., Захарія К.А. Лабораторна діагностика захворювань, які передаються статевим шляхом. – Львів, 2004. – 176 с.
3. Кольман Я., Рем К. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000. – С. 234–259.
4. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 94 – 126.
5. Основи біохімії за Ленінджером / Девід Л.Нельсон, Майкл М. Кокс. – Львів.: вид-во «БаК», 2015. – С. 315 – 351, 1076 – 1109, 1124 - 1156.

РОЗДІЛ 7. БІОХІМІЯ МІЖКЛІТИННИХ КОМУНІКАЦІЙ. БІОХІМІЯ ЕНДОКРИННОЇ СИСТЕМИ. НЕЙРОЕНДОКРИННА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ.

Тема № 5. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії гормонів білково-пептидної природи на клітини-мішені. Механізми дії гормонів – похідних амінокислот та біогенних амінів. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію.

Мета заняття: Вивчити молекулярні механізми дії гормонів білково-пептидної природи та похідних амінокислот (на прикладі катехоламінів) на клітини-мішені за участю сигнальних молекул-посередників. Засвоїти методи якісного визначення інсуліну, адреналіну в біологічних рідинах. Знати механізми гормональної регуляції гомеостазу кальцію: розподіл Ca^{2+} в організмі, форми кальцію в плазмі крові людини, вклад кісткової тканини, тонкої кишки та нирок в гомеостаз кальцію.

Актуальність теми: Розуміння біохімічних механізмів впливу гормонів білково-пептидної природи на активність внутрішньоклітинних систем дозволяє проаналізувати причини, які лежать в основі розвитку порушень, викликаних розладами у функціонуванні ендокринних залоз, що здійснюють синтез цих гормонів, а також формує у студентів підходи до можливості корекції патологічних станів, що виникають при гіпо- або гіперфункцій відповідних залоз внутрішньої секреції.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти трактувати біохімічні та фізіологічні функції гормонів та біорегуляторів у системі міжклітинної інтеграції життєдіяльності організму людини.
- Вміти трактувати молекулярні механізми дії гормонів білково–пептидної природи та похідних амінокислот (на прикладі катехоламінів) на клітини мішені за участю сигнальних молекулярних посередників.
- Трактувати механізми гормональної регуляції гомеостазу кальцію: розподіл кальцію в організмі, форми кальцію в плазмі крові людини, вклад кісткової тканини, тонкої кишки та нирок в гомеостазі кальцію.
- Вміти провести: а) біуретову пробу на білкову природу інсуліну; б) пробу Фоля на сірковмісні амінокислоти; в) пробу з хлорним залізом на адреналін

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Знати приклади застосування гормонів у медицині.

Базові знання

Дисципліна: біологічна хімія, біоорганічна хімія

Отримані навички: вміти писати структурні формули норадреналіну, адреналіну, реакції синтезу адреналіну з амінокислот попередників. Аналізувати зміни обміну речовин за біохімічними показниками, які характеризують обмін вуглеводів, білків і ліпідів при порушеннях функціонування ендокринних залоз та узагальнювати прогностичну оцінку цих порушень.

Теоретичні питання

1. Гормони та інші біорегулятори у системі міжклітинної інтеграції функцій організму людини. Визначення, властивості. Класифікація гормонів за хімічною будовою, місцем синтезу.
2. Регуляція гормональної секреції за прямим та зворотнім зв'язком в організмі людини (навести приклади). Фактори, що впливають на секрецію та характер дії гормонів.
3. Мішені гормональної дії; типи реакцій клітин на дію гормонів. Рецептори гормонів: мембранні (іонотропні, метаботропні) та цитозольні рецептори, їх молекулярна організація. Білки – трансдуктори.
4. Мембранний і мембранно-цитозольний механізми дії гормонів (похідних амінокислот, пептидних, білкових) за участю наступних месенджерних систем:
 - циклічних нуклеотидів (значення G-білків, цАМФ, цГМФ, серинових, треонінових протеїнкіназ);
 - фосфоінозитидної системи (значення Gq, ІФ₃, ДАГ, системи Ca²⁺/кальмодулін, серинових, треонінових протеїнкіназ);
 - тирозинових протеїнкіназ на прикладі інсулінового рецептора).
5. Гормони гіпоталамусу (ліберини та статини, значення нейрофізичних) і епіфіза (мелатонін). Механізм їх дії.
6. Тропні гормони передньої частки гіпофізу:
 - група "гормон росту (соматотропін) - пролактин - хоріонічний соматомаотропін"; патологічні процеси, пов'язані з порушенням функцій СТГ, соматомединів, пролактину;
 - група глікопротеїнів - тропних гормонів гіпофіза (тиреотропін, гонадотропіни - ФСГ, ЛГ) Хоріонічний гонадотропін;
 - гімейство проопіомеланокортину (ПОМК) – продукти процесингу ПОМК (адренотропін, ліпотропіни, ендорфіни).
7. Гормони задньої частки гіпофіза: вазопресин (антидіуретичний гормон) та окситоцин. Механізм їх дії. Патологія, пов'язана з порушенням продукції АДГ. Використання окситоцину в медичній практиці.
8. Характеристика гормонів підшлункової залози:
 - ендокринна функція підшлункової залози (інсулін, глюкагон, соматостатин, панкреатичний поліпептид):
 - інсулін – будова, біосинтез та секреція; характеристика інсулінових рецепторів, молекулярні механізми дії (вплив на обмін вуглеводів, ліпідів, амінокислот та білків; рістстимулюючі ефекти інсуліну; фактори росту та онкобілки);
 - глюкагон – хімічна природа і біологічна дія гормону;
9. Катехоламіни: адреналін, норадреналін, дофамін. Хімічна природа, реакції синтезу, біологічна дія, рецептори. Їх роль у реалізації стресу.
10. Механізм дії паратгормону і кальцитоніну. Паратгормон – будова, механізм гіперкальціємічної дії. Кальцитріол: біосинтез; вплив на абсорбцію Ca²⁺ та

фосфатів в кишечнику. Кальцитонін – будова, вплив на обмін кальцію і фосфатів.

11. Клініко-біохімічна характеристика порушень кальцієвого гомеостазу (рахіт, остеопороз). Гіперпаратиреоїдизм і гіпопаратиреоїдизм. Розподіл Ca^{2+} в організмі; молекулярні форми кальцію в плазмі крові людини. Роль кісткової тканини, тонкої кишки та нирок в гомеостазі кальцію.

Практична робота

Реакції, що виявляють особливості хімічної структури гормонів інсуліну та адреналіну.

Гормони – біологічно активні органічні речовини різної хімічної природи. Інсулін є простим білком, що містить сірковмісні амінокислоти; адреналін – похідний амінокислоти тирозину.

Дослід 1. Біуретова реакція.

Принцип методу. Інсулін є простим білком і дає характерні кольорові реакції на білок.

Матеріальне забезпечення: 10 % розчин NaOH, CuSO_4 , інсулін.

Хід роботи: До 10 крапель інсуліну додають 5 крапель 10 %-го розчину NaOH і краплю розчину CuSO_4 . Рідина забарвлюється у фіолетовий колір.

Зробити висновок.

Дослід 2. Реакція Фоля.

Принцип методу. Сірковмісні амінокислоти, особливо цистеїн і цистин, при кип'ятінні з лугом втрачають сірку, яка відщеплюється у вигляді сірководню. Сірководень, взаємодіючи з лугом, утворює сульфід, які можна виявити при додаванні плюмбуму ацетату (реактиву Фоля). Сульфід утворюють з ним коричневий або чорний осад плюмбуму сульфід.

Матеріальне забезпечення: реактив Фоля, інсулін.

Хід роботи: До 5 крапель інсуліну додають 5 крапель реактиву Фоля і кип'ятять. Через 1-2 хвилини після відстоювання утворюється бурий або чорний осад сульфід свинцю.

Зробити висновок.

Дослід 3. Реакція з хлорним залізом.

Принцип методу. Адреналін легко окиснюється на повітрі з утворенням адренохрому, який дає смарагдово-зелене забарвлення із феруму хлоридом.

Матеріальне забезпечення: хлорне залізо, аміак, адреналін.

Хід роботи: До 3 крапель розчину адреналіну додають 1 краплю розчину хлорного заліза. Рідина забарвлюється в смарагдово-зелений колір. Якщо додати аміаку спостерігається зміна забарвлення у червоне, а потім – коричневе.

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Вивчення метаболізму гормонів і медіаторів має велике значення для діагностики ендокринних розладів, а також оцінки функціонального стану організму при багатьох інших формах патологій, які пов'язані з порушенням центральної, вегетативної нервової систем, серця, печінки, нирок і інших паренхіматозних органів.

Будь-які порушення в системі гіпоталамус-гіпофіз-кора наднирникових залоз безпосередньо приводять до зміни продукції гормонів наднирників.

При інтерпретації результатів потрібно пам'ятати, що виділення адреналіну у мужчин і жінок майже однакове, за винятком дітей 12-15 років (у хлопчиків більше виділяється ніж у дівчаток) і в 41-50 років (у чоловіків більше, ніж у жінок).

Виділення норадреналіну до віку 8-11 років однакове у дівчат і хлопців, а в наступні періоди екскреція його у жінок вища, ніж у чоловіків. Виділення адреналіну і норадреналіну у різні періоди доби неоднакове. Так, в день воно становить $7,5 \pm 1,1$ і $30,9 \pm 3,5$, а вночі $1,9 \pm 0,84$ і $11,3 \pm 4,2$ мг/хв.

Паління, фізичне навантаження, емоційний стрес викликають екскрецію катехоламінів із сечею. Збільшення екскреції катехоламінів спостерігається при цирозах печінки, при загостреннях виразкової хвороби шлунка і 12-типалої кишки. Порушення екскреції спостерігається в патогенезі уремії.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Пояснити хімічну природу інсуліну за реакцією осадження сульфосаліциловою кислотою. Пояснити специфічність цієї реакції.
2. За допомогою яких реакцій можна виявити білково-пептидні гормони? Які гормони білкової та пептидної природи ви знаєте?
3. Виявлення адреналіну хлоридом заліза (III). Поясніть принцип методу. Яка хімічна природа адреналіну? Напишіть його формулу.
4. Що лежить в основі зміни забарвлення реакційної суміші у біуретовій реакції, реакції Фоля?
5. Що спричинює збільшення екскреції катехоламінів із сечею?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №5

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Гормони та інші біорегулятори у системі міжклітинної інтеграції функцій організму людини. Визначення, властивості. Класифікація гормонів за хімічною будовою, місцем синтезу
 - 1.1. Дати визначення:
гормони - це...
 - 1.2. Вказати властивості гормонів
 - 1.3. Представити схему класифікації гормонів 1) за хімічною будовою, 2) за місцем синтезу.
2. Регуляція гормональної секреції за прямим та зворотнім зв'язком в організмі людини (навести приклади).

- 2.1. Перелічити фактори, що впливають на секрецію та характер дії гормонів(навести приклади)
- 2.2. Представити схему циклічної регуляції гормональної секреції (навести приклади)
3. Мішені гормональної дії; типи реакцій клітин на дію гормонів. Рецептори гормонів: мембранні (іонотропні, метаботропні) та цитозольні рецептори, їх молекулярна організація. Білки – трансдуктори.
 - 3.1. Дати визначення:
мембранні рецептори - це...
 - 3.2. Іонотропні рецептори. Дати характеристику (навести приклади)
 - 3.3. Метаботропні рецептори. Дати характеристику (навести приклади)
 - 3.4. Цитозольні рецептори – це..
 - 3.5. Білки – трансдуктори (дати характеристику, перелічити класи, вказати механізм дії).
4. Мембранний і мембранно-цитозольний механізми дії гормонів (похідних амінокислот, пептидних, білкових) за участю наступних месенджерних систем
 - 4.1. Представити механізм дії циклічних нуклеотидів (значення G–білків, цАМФ, цГМФ, серинових, треонінових протеїнкіназ).
 - 4.2. Представити схему дії фосфоінозитидної системи (значення Gq, ІФ₃ДАГ, системи Ca²⁺/кальмодулін, серинових, треонінових протеїнкіназ).
 - 4.3. Проаналізувати принцип дії тирозинових протеїнкіназ на прикладі інсулінового рецептора.
5. Гормони гіпоталамусу (ліберини та статини, значення нейрофізинів) і епіфіза (мелатонін). Механізм їх дії.
 - 5.1. Дати визначення:
ліберини - це...
статини – це...
 - 5.2. В конспекті дати визначення нейрофізинів та вказати їх значення та механізм дії
 - 5.3. Охарактеризувати значення мелатоніна в процесах реалізації фізіологічних потреб організму
6. Тропні гормони передньої частки гіпофізу.
 - 6.1. Дати характеристику хімічної природи, біологічної дії групи «гормон росту (соматотропін) - пролактин - хоріонічний соматомаотропін»
 - 6.2. Описати властивості тропних гормонів гіпофіза - глікопротеїни (тиреотропін, гонадотропіни - ФСГ, ЛГ, хоріонічний гонадотропін)
 - 6.3. Представити схему утворення фізіологічно активних пептидів із проопіомеланокортину (ПОМК). Пояснити регуляцію їх утворення та фізіологічні ефекти.
7. Гормони задньої частки гіпофіза. Патологія, пов'язана з порушенням продукції АДГ. Використання окситоцину в медичній практиці.
 - 7.1. Вазопресин (антидіуретичний гормон: будова, механізм дії).
 - 7.2. Окситоцин (будова, механізм фізіологічної дії)
 - 7.3. Описати патологію пов'язану з порушенням продукції АДГ.

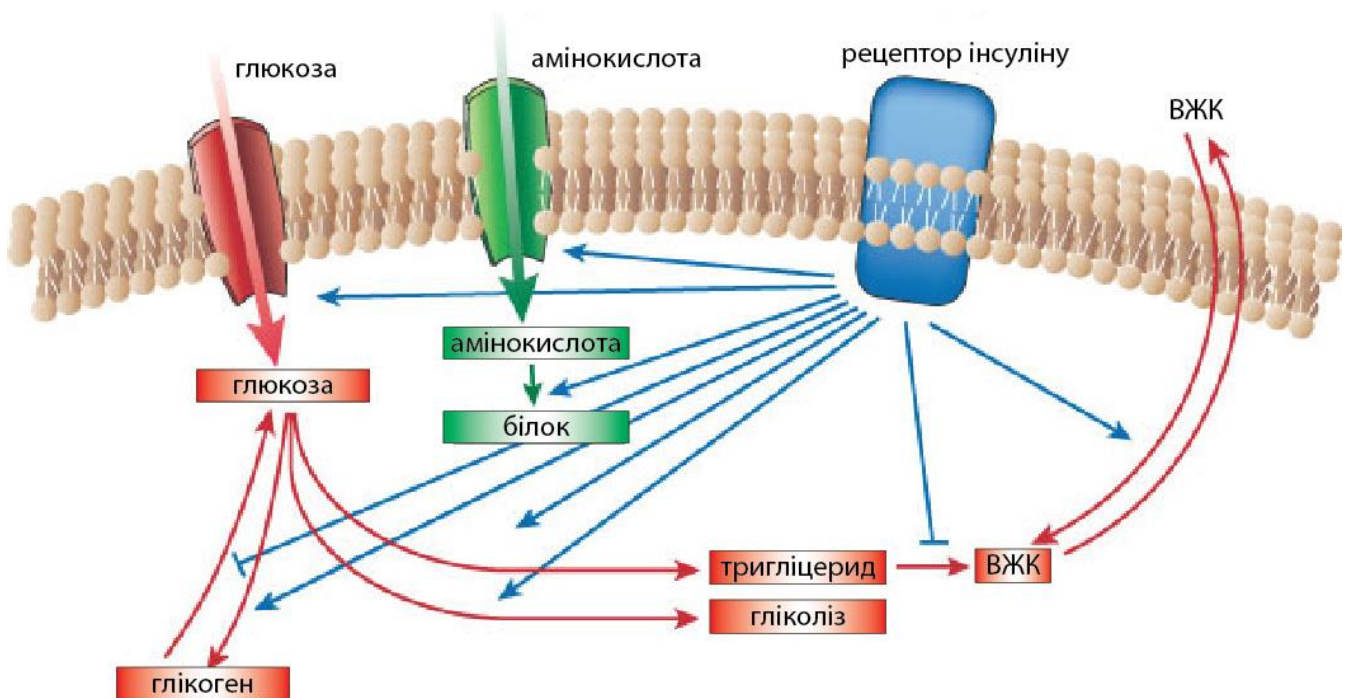
8. Характеристика гормонів підшлункової залози.
- 8.1. Назвати гормони підшлункової залози та
 - 8.2. Вказати на особливості будови, біосинтезу та секреції інсуліну
 - 8.3. Дати характеристику інсулінових рецепторів.
 - 8.3. Описати молекулярні механізми дії
 - 8.4. Описати фактори росту, онкокобілки
 - 8.5. Описати хімічну природу та біологічну дію глюкагону.
9. Катехоламіни: адреналін, норадреналін, дофамін. Хімічна природа, реакції синтезу, біологічна дія, рецептори. Їх роль у реалізації стресу:
- 9.1. Пояснити хімічну будову норадреналіну, адреналіну, дофаміну. Написати реакції їх синтезу.
 - 9.2. Вказати біологічну дію катехоламінів.
 - 9.3. Перелічити рецептори катехоламінів та описати механізм їх дії.
 - 9.4. Вказати роль катехоламінів у реалізації стресу.
10. Механізм дії паратгормону та кальцитоніну. Паратгормон – будова, механізм гіперкальціємічної дії. Кальцитріол: біосинтез, вплив на абсорбція кальцію в кишечнику. Кальцитонін, будова, вплив на обмін кальцію та фосфатів.
- 10.1. Описати будову паратгормону та механізм дії.
 - 10.2. Описати будову та синтез кальцитріолу. Пояснити механізм його гіперкальціємічної дії.
 - 10.3. Описати етапи синтезу гормону та вказати його фізіологічну дію.
 - 10.4. Описати в конспекті будову кальцитоніну та його вплив на обмін кальцію.
 - 10.5. Описати фізіологічний вплив кальцитоніну на обмін фосфатів.
 - 10.6. Роль кісткової тканини, тонкої кишки та нирок у гомеостазі кальцію.
11. Клініко-біохімічна характеристика порушень кальцієвого гомеостазу (рахіт, остеопороз). Гіперпаратиреоїдизм, гіпопаратиреоїдизм. Розподіл кальцію в організмі; молекулярні форми кальцію в плазмі крові людини.
- 11.1. Описати розподіл кальцію в організмі. Вказати норму кальцію у крові.
 - 11.2. Дати визначення
Рахіт –це... Його прояви...
Остеопороз –це Його прояви...
Гіперпаратиреоїдизм –це... Його прояви...
Гіпопаратиреоїдизм - ... Його прояви...
12. Інсулін відіграє ключову роль в регуляції вуглеводного, ліпідного і білкового метаболізмів. Заповніть таблицю (а) і вкажіть загальний ефект інсуліну на вуглеводний, ліпідний і білковий метаболізм за допомогою схеми (б).

а.

Метаболічний шлях	Ефект	Фермент-мішень
<i>(Приклад) Гліколіз</i>	Зростає	Глюкокіназа↑ Фосфофруктокіназа↑ Піруваткіназа↑

Глюконеогенез		
Глікогенез		
Глікогеноліз		
ПФШ		
Ліпогенез		
Ліполіз		
Кетогенез		
Синтез білків		
Розпод білків		

б.



Матеріали до самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 5

1. Час життя більшості гормонів у крові порівняно невеликий. Так, якщо ввести тварині радіоактивно мічений інсулін, то половина введеного гормону інактивується у крові протягом 30 хв. Чому важлива відносно швидка інактивація циркулюючих гормонів? Як може підтримуватися постійний рівень гормону в крові за нормальних умов, якщо врахувати його швидку інактивацію? Якими шляхами організм здійснює швидкі зміни концентрації циркулюючих гормонів в організмі?
2. Вазопресин і окситоцин знаходяться в задній долі гіпофізу. Вкажіть, де вони синтезуються і як потрапляють в задню долю гіпофізу?

3. Які переваги надає організму синтез гормонів у вигляді прегормонів і прогормонів?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1	У хворого сеча у кількості 8 л на добу має питому вагу 1,006. При недостатності функції якого гормону виникає це захворювання?	А.*.Вазопресину В. Інсуліну С. Йодтиронінів D. Глюкокортикоїдів Е. Соматотропіну	
2	Хворий 23 років скаржиться на головний біль, зміну зовнішнього вигляду (збільшення розмірів ніг, кистей, рис обличчя), огрубіння голосу, погіршення пам'яті. Захворювання почалося приблизно 3 роки тому без видимих причин. При огляді - збільшення надбрівних дуг, носа, язика. Аналіз сечі без особливих змін. Причиною такого стану може бути:	А.*Гіперпродукція соматотропіну В. Нестача глюкагону С. Нестача тироксину D. Нестача альдостерону Е. Гіперпродукція кортикостероїдів	
3	Численні ефекти гормону росту здійснюються за допомогою білкових факторів, що утворюються у печінці під впливом соматотропіну. Ці фактори отримали назву:	А. *Соматомедини В. Ліпотропіни С. G-білки D. Ендорфіни Е. Атріопептини	
4	У хворого спостерігається остеопороз кісток, в крові відмічається гіперкальціємія, гіпофосфатемія. Яка причина такого стану?	А. *Посилена секреція паратгормону В. Посилена секреція тироксину С. Пригнічення секреції паратгормону D. Посилена секреція кортикостероїдів Е. Пригнічення секреції кортикостероїдів	
5	Кальцитріол підтримує фізіологічні концентрації кальцію і фосфатів у плазмі крові, що забезпечує умови	А. *Індукує синтез Са -зв'язуючих білків В. Активує синтез	

	для нормальної побудови кісткової тканини. Який молекулярний механізм дії він має?	кальцитоніну в щитовидній залозі С. Активує процес синтезу препаратгормону в паратгормон D. Активує синтез холекальциферолу E. Стимулює секрецію кальцію в нирках	
--	--	--	--

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Ендокринні функції підшлункової залози в нормі і при патології.

План

1. Гормони, що синтезуються підшлунковою залозою (місце синтезу та гормональна дія).
2. Етіологічна (ВООЗ, 1999) та клінічна класифікація цукрового діабету.
3. Діабет поєднаний з гормональними порушеннями.
4. Діабет зумовлений токсичними речовинами та фармакологічними агентами.

Рекомендована література:

1. Склярів О.Я., Сергієнко О.О., Фартушок Н.В. та ін. Обмін вуглеводів. Біохімічні та клінічні аспекти. – Львів: Світ, 2004. – 111 с.
2. Бойко В. В. Порушення зовнішньосекреторної та ендокринної функції підшлункової залози при хронічному панкреатиті / В. В. Бойко, О. М. Песоцький, І. А. Кулик // Медицина сьогодні і завтра. - 2012. - № 3-4. - С. 145-148.
3. Лембрик, І. С. Стан процесів ліпопероксидації та окисних модифікацій білків при захворюваннях підшлункової залози у дітей / І. С. Лембрик, А. М. Ерстенюк // Галицький лікарський вісник. - 2011. - Том 18, N 1. - С. 63-66.
4. Новохатний П. В. Эндокринная функция поджелудочной железы при остром панкреатите / П. В. Новохатний // Запорожский медицинский журнал. - 2014. - № 1. - С. 80-83.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 303 – 334.

2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 396 - 463.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 154-168, 175-191, 203-209.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. – С. 338-365, 370-373.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 220-243.
6. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
7. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярів О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
8. Клінічна біохімія / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 162 - 191.
9. Клиническая биохимия: Учебник для студентов мед.вузов /А.Я.Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Леонов и др. – Харьков: Факт, 2005. – 456 с.
10. Клиническая биохимия: Учебное пособие для вузов / В.Н. Бочков, А.Б. Добровольский, Н. Е. Кушлинский и др. – ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 521 с.
11. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
12. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
13. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 427-452, 669 -684.
14. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.- 497-523с.
2. Граник В.Г. Метаболизм эндогенных соединений: Монография. – М.: Вузовская книга, 2006. – 528 с.
3. Караченцев Ю.І., Хижняк О.О., Бондаренко В.О. та ін. Алгоритми, діагностика та лікування в клінічній ендокринології / за ред. Ю.І.Караченцева, О.О.Хижняк. – К., 2012. – 81 с.
4. Клінічна біохімія: [навч. посіб.] / за ред. О. П. Тимошенко. – К.: ВД «Професіонал», 2005. – 288 с.
5. Клиническая эндокринология. Руководство / Под ред. Н. Т. Старковой. — 3-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Питер, 2002. — 576 с.
6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы, нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками // Биохимия. – 2005. – Т. 70, вып. 1. – с. 33-50.

7. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 147 – 273.
8. Основи біохімії за Ленінджером / Девід Л.Нельсон, Майкл М. Кокс. – Львів.: вид-во «БаК», 2015. – С. 917 – 946.

Тема № 6. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів на клітини-мішені.

Мета заняття: Вміти аналізувати зміни обміну речовин та біохімічних показників, які характеризують обмін вуглеводів, білків і ліпідів при порушеннях функціонування ендокринних залоз, що відповідають за синтез стероїдних та тиреоїдних гормонів та узагальнювати прогностичну оцінку цих порушень.

Актуальність теми: Стероїдним та тиреоїдним гормонам належить важлива роль у механізмі підтримки гомеостазу організму. Шляхом впливу на генетичний апарат клітини вони здатні змінювати інтенсивність обміну речовин в клітинах-мішенях і в організмі в цілому. Усвідомлення механізмів нейрогуморальної регуляції обміну речовин стероїдними та тиреоїдними гормонами дає основу для діагностики правильної та раціональної терапії при ендокринопатіях.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти аналізувати зміни обміну речовин та біохімічних показників, які характеризують обмін вуглеводів, білків і ліпідів при порушеннях функціонування ендокринних залоз та узагальнювати прогностичну оцінку цих порушень;
- Тракувати молекулярні механізми прямої регуляторної дії на геном клітин – мішеней гормонами стероїдної природи;
- Пояснювати біохімічні механізми виникнення та розвитку патологічних процесів та типових проявів порушень ендокринної системи організму;
- Вміти проводити якісне визначення 17-кетостероїдів в сечі.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти пояснювати біохімічні механізми виникнення та розвитку патологічних процесів та типових проявів порушень ендокринної системи організму.
- Вміти тракувати молекулярні механізми прямої регуляторної дії на геном клітин – мішеней гормонів стероїдної природи.

Базові знання

Дисципліна: біологія, біологічна, біоорганічна хімії

Отримані навички: вміти писати структурні формули тиреоїдних та стероїдних, гормонів.

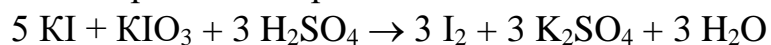
Теоретичні питання

1. Механізм дії (цитозольний) тироїдних гормонів щитоподібної залози та стероїдних гормонів (цитозольні та ядерні рецептори).
2. Тиреоїдні гормони щитоподібної залози:
 - структура та біосинтез тиреоїдних гормонів;
 - біологічні ефекти T_4 та T_3 ;
 - патологія щитоподібної залози; особливості порушень метаболічних процесів за умов гіпер- та гіпотиреозу;
 - механізми виникнення ендемічного зобу і його попередження.
3. Стероїдні гормони: номенклатура, класифікація. Схема генезу стероїдних гормонів з холестеролу.
4. Стероїдні гормони кори наднирників (C_{21} -стероїди):
 - структура, фізіологічні та біохімічні ефекти глюкокортикостероїдів (кортизол, кортикостерон), роль кортизолу в регуляції метаболізму (вуглеводів, білків, ліпідів);
 - біохімічні основи протизапальних властивостей глюкокортикоїдів;
 - структура, фізіологічні та біохімічні ефекти мінералокортикостероїдів (альдостерон); роль альдостерону в регуляції водно-сольового обміну;
 - характеристика гіпер- та гіпокортицизму. Хвороба Іценко-Кушинга, Адісонова хвороба (бронзова), альдостеронізм, хвороба Кона.
5. Стероїдні гормони статевих залоз:
 - жіночі статеві гормони: естрогени – естрадіол, естрон (C_{18} -стероїди), прогестерон (C_{21} -стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти; зв'язок з фазами менструального циклу; регуляція синтезу та секреції;
 - чоловічі статеві гормони (андрогени) – тестостерон, дигідротестостерон (C_{19} -стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти, регуляція синтезу та секреції;
 - клінічне застосування аналогів та антагоністів гормонів статевих залоз.
6. Загальна характеристика гормоноподібних речовин. Біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гостро - ентеро - панкреатичної) – системи тракту. Гастрин. Холецистокінін. Секретин.
7. Біогенні аміни з гормональними та медіаторними властивостями: будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії (серотоніну, мелатоніну, гістаміну). Рецептори біогенних амінів; рецепторна дія лікарських засобів, антагоністи гістамінових рецепторів.
8. Ейкозаноїди: загальна характеристика; номенклатура (простаноїди – простагландини, простацикліни, тромбокساني, лейкотрієни):
 - біосинтез простаноїдів та тромбоксанів; простагландинсинтазний комплекс (циклооксигеназа, пероксидаза), їх біологічні та фармакологічні властивості;
 - біосинтез лейкотрієнів; 5-ліпоксигеназа, їх біологічні властивості;
 - клінічне застосування ейкозаноїдів, аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби як інгібітори синтезу простагландинів.

Практична робота

Дослід 1. Якісна реакція на йод в розчині тироксину.

Принцип методу. При руйнуванні молекули тироксину утворюється йодистий калій, з якого йод легко витісняється йодноватим калієм. Йод, який виділився, дає синє забарвлення з крохмалем.



$\text{I}_2 + \text{крохмаль} \rightarrow \text{синє забарвлення}$

Матеріальне забезпечення: тироксин, 10 % розчин H_2SO_4 , 10 % розчин йодноватого калію, крохмаль, лакмус.

Хід роботи: До 24 крапель охолодженого гідролізату тироксину додають 10 % розчину H_2SO_4 до кислої реакції на лакмус. Після підкиснення додають 3 краплі 10 % розчину йодноватого калію (не потрібно додавати надлишок). При цьому виділяється йод, наявність якого виявляють, додаючи до реакційної суміші декілька крапель розчину крохмалю. За наявності йоду спостерігають утворення сполуки синього забарвлення. Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. При дефіциті йоду у питній воді та продуктах харчування розвивається захворювання ендемічний зоб, який спостерігається у місцевостях, що знаходяться високо над рівнем моря. Гіпофункція щитоподібної залози при ендемічному зобі усувається додаванням солей йоду до кухонної солі або інших харчових продуктів.

Якісна реакція на 17-кетостероїди сечі.

17-кетостероїдами називають всі стероїди, які мають кето-групу біля 17-го вуглецевого атома, такі як андростерон. Вони утворюються із стероїдів, які мають ОН-групу в 17-му положенні (кортизол, кортизон та ін.). Метод визначення базується на реакції 17-кетостероїдів з *m*-динітробензолом у лужному середовищі з утворенням продуктів конденсації фіолетово-рожевого кольору (максимум поглинання в межах 530 нм). Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості 17-кетостероїдів у сечі.

Максимальна екскреція 17-кетостероїдів у чоловіків та жінок спостерігається в 25-річному віці, після чого починається поступове її зниження.

При стресових станах кількість 17-кортикостероїдів в крові і сечі збільшується. При патології вміст в крові 17-кетостероїдів змінюється в залежності від гіпо- чи гіперфункції наднирників. При хворобі Аддісона (гіпофункції) екскреція 17-кетостероїдів низька (1/3 – 1/5 норми), їх вміст зменшується при гіпертиреозі, важких формах хвороб печінки (цироз), пухлинах наднирників (синдром Іценко-Кушінга).

Паралельне визначення вільних 17-кетостероїдів у сечі дає можливість більш повно оцінити функціональний стан кори наднирників.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Виявлення йодовмісних гормонів. Поясніть принцип методу. Які гормони відносяться до цієї групи.

2. Яким методом можна виявити метаболіти гормонів стероїдної природи? Які гормони відносяться до цієї групи? Поясніть принцип методу.
3. Чим пояснити виникнення синього забарвлення розчину у якісній реакції на тироксин?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №6

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Механізм дії (цитозольний) тироїдних гормонів щитоподібної залози та стероїдних гормонів (цитозольні та ядерні рецептори).
 - 1.1. Представити схеми механізму дії тироїдних та стероїдних гормонів
2. Тироїдні гормони щитоподібної залози
 - 2.1. В конспекті написати структуру та реакції біосинтезу тироїдних гормонів
 - 2.2. Охарактеризувати біологічні ефекти T_4 та T_3 ; особливості порушень метаболічних процесів за умов гіпер- та гіпотиреозу.
 - 2.3. Проаналізувати механізми виникнення ендемічного зобу і його попередження, особливості порушень метаболічних процесів за умов гіпер- та гіпотиреозу
3. Стероїдні гормони
 - 3.1. Подати схему генезу стероїдних гормонів з холестеролу
4. Стероїдні гормони кори наднирників (C_{21} -стероїди):
 - 4.1. Пояснити біохімічні ефекти глюкокортикостероїдів (кортизол, кортикостерон)
 - 4.2. Описати біохімічні ефекти мінералокортикостероїдів (альдостерон); роль альдостерону в регуляції водно-сольового обміну.
 - 4.3. Дати характеристику основ протизапальних властивостей глюкокортикоїдів.
 - 4.4. Характеристика гіпер- та гіпокортицизму. Хвороба Іценко-Кушинга, Адісонова хвороба (бронзова), альдостеронізм, хвороба Кона
5. Стероїдні гормони статевих залоз:
 - 5.1. Описати фізіологічні та біохімічні ефекти жіночих статевих гормонів, зв'язок з фазами менструального циклу: естрогени – естрадіол, естрон (C_{18} -стероїди), прогестерон (C_{21} -стероїди).
 - 5.2. Регуляція синтезу та секреції жіночих статевих гормонів
 - 5.3. Описати фізіологічні та біохімічні ефекти чоловічих статевих гормонів: тестостерон, дигідротестостерон (C_{19} -стероїди)
 - 5.4. Регуляція синтезу та секреції чоловічих статевих гормонів.
 - 5.5. Клінічне застосування аналогів та антагоністів статевих залоз.
6. Загальна характеристика гормоноподібних речовин. Біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гастро - ентеро - панкреатичної) – системи тракту. Гастрин. Холецистокінін. Секретин.
 - 6.1. Вказати у конспекті хімічну природу та місце синтезу гастрину, холецистокініну, секретину

- 6.2. Охарактеризувати біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гостро – ентеро - панкреатичної) –зони.
7. Біогенні аміни з гормональними та медіаторними властивостями: будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії (серотоніну, мелатоніну, гістаміну).
- 7.1. Рецептори біогенних амінів (класифікація,реалізація гормональної відповіді)
- 7.2. Будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії серотоніну
- 7.3. Будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії мелатоніну
- 7.4. Будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії гістаміну
- 7.5. Рецепторна дія лікарських засобів
- 7.6. Антагоністи гістамінових рецепторів
8. Ейкозаноїди: загальна характеристика; номенклатура (простаноїди – простагландини, простацикліни, тромбоксани, лейкотрієни).
- 8.1. Подати схеми процесів біосинтезу простаноїдів, лейкотрієнів;
- 8.2. Вказати біологічні та фармакологічні властивості простаноїдів, лейкотрієнів
- 8.3. Навести приклади клінічного застосування ейкозаноїдів
- 8.4. Аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби як інгібітори синтезу простагландинів.

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 6

1. Хворий довгий час отримував кортикостероїдні гормони, а потім різко припинив їх приймати. Які зміни в обміні речовин можливі?
2. При захворюванні жінок на рак молочної залози, одним із засобів лікування є усунення яєчників. Крім цього додатково вводять чоловічі статеві гормони. Поясніть біохімічні основи такого лікування.
3. При ураженні наднирників розвивається характерна пігментація шкіри, м'язова слабкість, різке порушення водно-сольового обміну, обмін білків і вуглеводів. Чим це пояснити?
4. 33-річна пацієнтка скерована до Консультації Тиреоїдної Патології сімейним лікарем. Протягом 6 місяців відчувала неспокій, швидко втому, підвищену чутливість до тепла, втрату ваги тіла при збереженому апетиті, серцебиття та підвищену пітливість. При обстеженні встановлено: пульс 130 уд/хв, теплі і вологі долоні, тремтіння, сповільнене закриття повік і екзофтальм, а також м'який, збільшений зуб. Результати тестування: тироксин – 260 нмоль/л (норма 50 – 150).

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Як тироксин впливає на процеси тканинного дихання і окислювального фосфорилування у хворої тиреотоксикозом?	А. *Роз'єднує процес тканинного дихання і окислювального фосфорилування. В. Блокує транспорт електронів по ланцюгу цитохромів. С. Викликає гідроліз АТФ. D. Знижує активність ФАД-дегідрогенази. Е. Знижує активність НАД-дегідрогеназ	
2.	Арахідонова кислота як незамінний компонент їжі є попередником біологічно активних речовин. Вкажіть які сполуки синтезуються з неї:	А. *Простагландин Е1 В. Холін С. Норадреналін D. Етаноламін Е. Трийодтиронін	
3.	У хворого виявлена аденома, що походить з клітин клубочкової зони кори наднирників. В результаті цього розвинувся первинний гіперальдостеронізм або хвороба Кона. На обмін якого іону впливає цей гормон?	А. * Натрію В. Хлору С. Магнію D. Кальцію Е. Заліза	
4.	При надлишковій секреції гормону у хворого виник екзофтальм, з'явилась тахікардія, дратівливість та зхуднення. Про який гормон йде мова?	А. * Тироксин В. Адреналін С. Дезоксикортикостерон D. Тестостерон Е. Естрадіол	
5.	При підвищенні функції щитовидної залози спостерігається втрата ваги та підвищення температури тіла. Які біохімічні процеси при цьому активуються?	А *Катаболізм В Анаболізм С Неоглюкогенез D Ліпогенез Е Стероїдогенез	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Перетворення арахідонової кислоти в організмі людини та вплив її продуктів на біохімічні процеси.

План

1. Джерела арахідонової кислоти в організмі людини.
2. Шляхи використання арахідонової кислоти:
 - 1) циклооксигеназний
 - 2) ліпооксигеназний
 - 3) окиснювальний за участю цитохрому P450

Рекомендована література:

1. Біохімічний фенотип аспіринової тріади / Г. М. Ерстенюк, В. І. Попович, І. В. Кошель та ін. // Галицький лікарський вісник. - 2011. - Том 18, N 3. - С. 14-17.
2. Подплетня О. А. Еволюція уявлень про вплив НПЗЗ на метаболізм арахідонової кислоти / О. А. Подплетня // Фармакологія та лікарська токсикологія: наук. - практ. мед. вид. - 2011. - N 1. - С. 3-12.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 334 – 350.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 396- 463.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С.154-174, 180-182, 191-203.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. – С. 366 – 369, 374 - 390.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 220-243.
6. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2004. – 191 с.
7. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 192 - 200.
8. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
10. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 427-452, 644 -649.
11. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
2. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы, нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками. // Биохимия. – 2005. – том 70, вып. 1. – с. 33 – 50.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 147 – 273.

Тема №7. Дослідження нервової тканини. Патохімія психічних порушень.

Мета заняття: Знати склад і біохімічні особливості обміну речовин у нервовій тканині, її функціонування в нормі і при деяких захворюваннях. Оволодіти методом визначення холінестерази.

Актуальність теми: Головний і спинний мозок є основними органами, через які реалізується функція ЦНС в організмі людини. Нервова тканина має особливості метаболізму в залежності від віку людини, від механізму виникнення патологічного стану в ній. При багатьох захворюваннях нервової системи і особливо при стресах важливо знати вміст не тільки нейромедіаторів, а й активність відповідних їм ензимів, наприклад, ацетилхолінестерази в сироватці крові.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти пояснювати особливості хімічного складу білої і сірої речовин мозку;
- Пояснювати роль нейромедіаторів у розвитку алкоголізму та наркоманії;
- Аналізувати зміни активності ацетилхолінестерази при різних захворюваннях;
- Аналізувати відмінності спинномозкової рідини від плазми крові;
- Знати принцип методу визначення активності холінестерази в сироватці крові титраметричним методом Мішеля.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти трактувати особливості обміну речовин мозкової тканини.
- Вміти аналізувати зміни активності ацетилхолінестерази при різних захворюваннях.

Базові знання

Дисципліна: біологія, біологічна, біоорганічна хімії.

Отримані навички: знати склад і біохімічні особливості обміну речовин у нервовій тканині та роль нейромедіаторів у патогенезі розвитку психічних порушень.

Теоретичні питання

1. Особливості біохімічного складу та метаболізму нервової тканини
 - хімічний склад головного мозку;
 - нейроспецифічні білки та ліпіди (гангліозиди, цереброзиди, холестерол);
 - особливості амінокислотного складу мозку;

- роль системи глутамінової кислоти; ГАМК – шунт.
2. Енергетичний обмін в головному мозку людини:
 - значення аеробного окислення глюкози;
 - зміни в умовах фізіологічного сну та наркозу;
 3. Нейромедіатори (ацетилхолін, норадреналін, дофамін, серотонін, збуджувальні та гальмівні амінокислоти).
 4. Молекулярні основи біоелектричних процесів на мембранах нейронів.
 5. Рецептори для нейромедіаторів та фізіологічно активних сполук
 6. Пептидергічна система головного мозку. Опіодні пептиди (енкефаліни, ендорфіни, динорфіни).
 7. Порушення обміну медіаторів та модуляторів головного мозку при психічних розладах.
 8. Нейрохімічні механізми дії психотропних засобів (нейролептиків, антидепресантів, анксиолітиків, ноотропів).
 9. Ферменти, що забезпечують біосинтез та розщеплення нейромедіаторів (декарбоксилази амінокислот, ацетилхолінестераза, моноаміноксидаза, діаміноксидаза).

Практична робота

Дослід 1. Визначення активності холінестерази в сироватці крові титриметричним методом Мішеля.

Принцип методу. Метод оснований на ферментативному гідролізі ацетилхоліну з утворенням ацетатної кислоти, яку визначають титруванням за допомогою натрію гідроксиду.

Матеріальне забезпечення: 1,5% ацетилхолін, 1% фенолфталеїн, 0,01М натрію гідроксид, термостат, пробірки.

Хід роботи. В дві пробірки вносять по 1мл ацетилхоліну 1,5%, далі в одну з них (дослідну) додають 1мл досліджуваної сироватки, а в другу пробірку (контрольну) додають 1 мл попередньо інактивованої (при 56°C протягом 30 хв) сироватки. У кожену із пробірок вносять 2 – 3 краплі фенолфталеїну, після чого проводять титрування за допомогою 0,01 М натрію гідроксиду.

Розрахунок. Вираховують різницю $V = V_d - V_k$, де V_d - кількість мл 0,01М NaOH, яка пішла на титрування дослідної проби; V_k - кількість мл 0,01М NaOH, яка пішла на титрування контрольної проби.

Нормальні величини: 2 – 4 мл 0,01М натрію гідроксиду, який пішов на титрування 1 мл сироватки.

Нормальні значення активності: 45 – 95 мкмоль/(с-л).

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Активність холінестерази (ХЕ) у здорових людей може значно коливатися, проте у однієї і тієї самої особи вона досить стабільна. ХЕ (бутирилхолінестераза) належить до секреторних ензимів клітин печінки. На відміну від більшості інших ензимів її активність у крові при захворюваннях цього органу знижується, оскільки порушуються механізми синтезу ензиму в гепатоцитах. Значне зниження активності ХЕ спостерігається

при гострих і хронічних гепатитах, цирозах печінки, злоякісних пухлинах печінки.

Визначення активності ХЕ у сироватці крові використовують найчастіше як прогностичний критерій при гострих і особливо хронічних ураженнях паренхіми печінки фосфороорганічними отрутами. Ступінь зниження активності ензиму відображає важкість і поширення ураження печінкових клітин.

Активність ХЕ у сироватці незначно підвищується при деяких психічних захворюваннях, особливо при маніакально-депресивному психозі, стані тривоги та депресивних неврозх, при шизофренії, розсіяному склерозі, особливо у пацієнтів з прогресуючою формою патологічного процесу, який супроводжується чіткою демієлінізацією.

Значне підвищення активності АХЕ а навколоплідних водах може свідчити про серйозні ураження нервової системи плода.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. У чому полягає принцип методу Мішеля визначення активності холінестерази у сироватці крові? Яке клініко-діагностичне значення визначення холінестерази крові.
2. Написати хімічні реакції утворення ацетилхоліну (вказати фермент).
3. Написати хімізм реакції розщеплення ацетилхоліну (вказати фермент)
4. Вказати нормальні значення активності холінестерази в сироватці крові:

Інструктивно-методичні матеріали до теми №7

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Особливості біохімічного складу та метаболізму нервової тканини
 - 1.1. Описати хімічний склад головного мозку
 - 1.2. Описати нейроспецифічні білки та ліпіди (гангліозиди, цереброзиди, холестерол
 - 1.3. Дати характеристику амінокислотного складу мозку; роль системи глутамінової кислоти; ГАМК – шунт
2. Енергетичний обмін в головному мозку людини.
 - 2.1. Пояснити значення аеробного окислення глюкози; описати зміни енергетичного обміну в умовах фізіологічного сну та наркозу
3. Нейромедіатори (ацетилхолін, норадреналін, дофамін, серотонін, збуджувальні та гальмівні амінокислоти).
 - 3.1. Дати характеристику та біологічну роль кожного нейромедіатора
4. Молекулярні основи біоелектричних процесів на мембранах нейронів.
 - 4.1. Принцип дії натрій-калієвої АТФази.
 - 4.2. Потенціал дії, потенціал спокою
5. Рецептори для нейромедіаторів та фізіологічно активних сполук
 - 5.1. Перелічити рецептори, дати їх характеристику та вказати механізм реалізації біохімічної відповіді.

6. Пептидергічна система головного мозку. Опіодні пептиди (енкефаліни, ендорфіни, динорфіни).

6.1 Дати характеристику енкефалінам, ендорфінам, динорфінам.

6.2 Вказати їх роль в роботі нервової системи

7. Порухення обміну медіаторів та модуляторів головного мозку при психічних розладах.

7.1. Зазначити біохімічні порушення в обміні нейромедіаторів при

а) хворобі Паркінсона;

б) епілепсії;

в) шизофренії;

г) маніакально-депресивному синдромі

8. Нейрохімічні механізми дії психотропних засобів (нейролептиків, антидепресантів, анксиолітиків, ноотропів).

8.1. Дати визначення поняттям:

Нейролептики – це...

Антидепресанти – це ...

Анксиолітики – це...

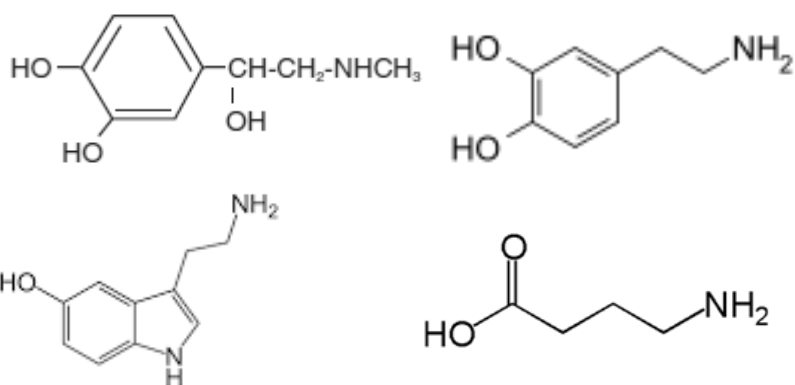
Ноотропи – це...

8.2. Пояснити механізми дії психотропних засобів, навести приклади.

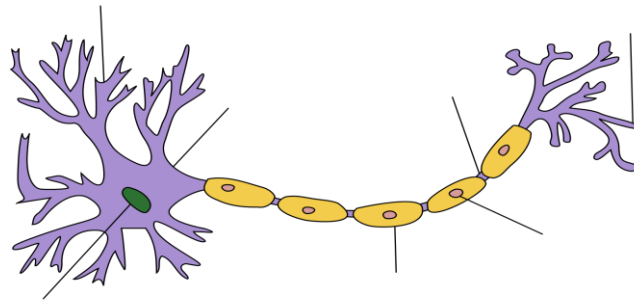
9. Ферменти, що забезпечують біосинтез та розщеплення нейромедіаторів (декарбоксилази амінокислот, ацетилхолінестераза, моноаміноксидаза, діаміноксидаза).

9.1. Дати характеристику ферментам, що каналізують синтез та розщеплення нейромедіаторів написати схеми реакцій, що каталізуються цими ферментами

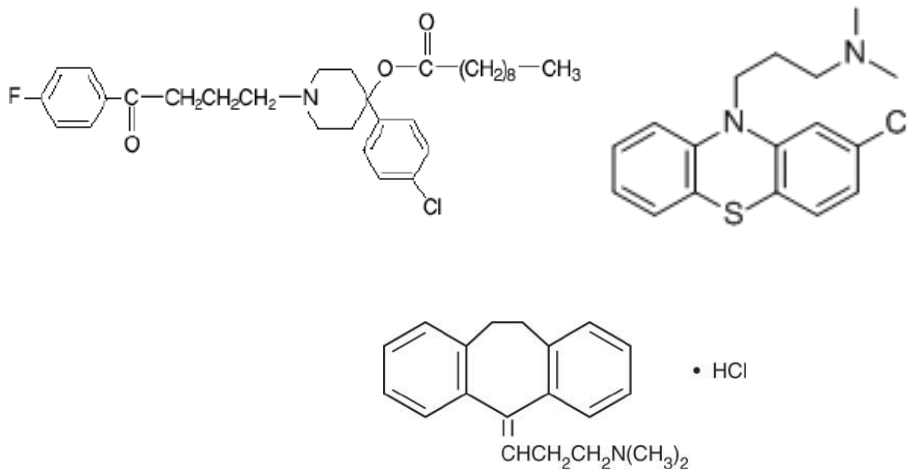
10. Підпишіть наведені структурні формули нейротрансмітерів та біологічно активних речовин і напишіть реакції їх утворення:



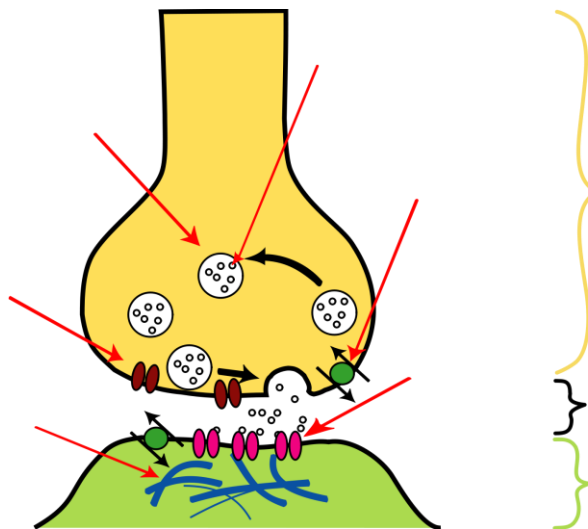
11. Підпишіть структурні компоненти нейрона:



12. Підпишіть психотропні речовини і поясніть механізми їх дії та застосування в медицині:



13. Підпишіть структурні компоненти синапса:



Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 7

1. За нестачі в організмі людини тіаміну виникає багато неврологічних симптомів: втрата рефлексів, підвищена збудливість, затьмарення свідомості. Поясніть чому нестача тіаміну негативно позначається на роботі мозку.
2. Основним енергетичним субстратом головного мозку є глюкоза. Відомо, що

глікоген – гомополісахарид, який складається із залишків глюкози, відкладається як енергетичний запас організму в печінці та м'язах. Чому мозкова тканина не створює енергетичного резерву у вигляді глікогену?

3. Глутамінова кислота, яка транспортується кров'ю до тканин мозку перетворюється там на глутамін, концентрація якого у крові, що йде від мозку підвищена. Назвіть джерело додаткової кількості глутаміну. Яке біохімічне значення мають ці перетворення і як вони відбуваються?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Фармакологічні ефекти антидепресантів пов'язані з блокуванням (інгібуванням) ними ферменту, який каталізує розпад таких біогенних амінів, як норадреналін, серотонін в мітохондріях нейронів головного мозку. Який фермент бере участь у цьому процесі?	A.*Моноамінооксидаза B. Трансаміназа C. Декарбоксілаза D. Пептидаза E. Ліаза	
2.	Дитина 9-ми місяців харчується синтетичними сумішами, не збалансованими за вмістом вітаміну В ₆ . У дитини спостерігається пелагроподібний дерматит, судомі, анемія. Розвиток судом може бути пов'язаний з дефіцитом утворення:	A. *ГАМК B. Гістаміна C. Серотоніна D. ДОФА E. Дофаміна	
3.	У людини почуття страху викликається синтезом у лімбічній системі мозку диоксифенілаланіну (ДОФА). З якої речовини йде його синтез?	A. *Тирозину B. Глутамінової кислоти C. Триптофану D. Лізину E. 5-оксітриптофану	
4.	Травма мозку викликала підвищене утворення аміаку. Яка амінокислота приймає участь у видаленні аміаку з цієї тканини?	A. *Глутамінова B. Тирозин C. Валін D. Триптофан E. Лізин	

5.	Хворі на алкоголізм отримують основну масу калорій із спиртними напоями. У них може виникнути характерна недостатність тіаміну (синдром Верніке-Корсакова), при якій спостерігаються порушення функцій нервової системи, психози, втрата пам'яті. Зі зниженням активності якого ферменту пов'язаний цей процес?	А. *Піруватдегідрогеназа В. Алкогольдегідрогеназа С. Трансаміназа D. Альдолаза E. Гексокіназа	
----	---	---	--

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Порушення обміну медіаторів та модуляторів головного мозку при психічних розладах

План:

1. Порушення обміну медіаторів та модуляторів головного мозку при шизофренії.
2. Порушення обміну нейромедіаторів при хворобі Паркінсона.
3. Особливості обміну серотоніну при маніакально-депресивному стані

Рекомендована література:

1. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы, нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками // Биохимия. – 2005. – Т. 70, вып. 1. – с. 33-50.
2. Павлов, С. В. Вплив селективних модуляторів естрогенових рецепторів на систему глутатіону при експериментальній ішемії головного мозку: матеріали науково-практичної конференції "Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакологічної корекції" 3-4 листопада 2011р., м Тернопіль / С. В. Павлов // Медична хімія = Medical Chemistry : наук. журн. - 2011. - Том 13, N 4. - С. 16-18.
3. 2HSP - опосредованные механизмы нейропротекторного действия селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (SERM): тези доповідей IV Національного з'їзду фармакологів України. 10-12 жовтня 2011р., м. Київ / И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов, С. В. Павлов [и др.] // Фармакологія та лікарська токсикологія : наук.-практ. мед. вид. - 2011. - N 5. - С. 24.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 507 – 525.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. С. 625 – 644.
 3. Гонський Я.І.,Максимчук Т.П. Біохімія людини.-Тернопіль:Укрмедкнига, 2002. – 744с.
 4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. – С. 601 – 620.
 5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 437-450.
 6. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
 7. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 317 - 346.
 8. Практикум з біологічної хімії / За ред. проф. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.

Додаткова:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 384 с.
2. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
3. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення /За ред. проф. Склярова О.Я., Київ: Здоров'я, 2004. – 191с.
4. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія / Склярів О., Сольські Я., Великий М., Фартушок Н., Бондарчук Т., Дума Д. – Львів: Кварт.- 2008. – 218 с.
5. Бородкина Л.Е., Тюренков И.Н., Ковтун В.В. Хроническая алкоголизация и ГАМК-ергическая система. (Обзор литературы) // Экспер. и клин. фармакология. – 2002. – Т.65, № 3. – С.75 – 79.
6. Вільм Ф. Ганонг. Фізіологія людини.- Львів: БаК, 2002. – 767с.
7. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 5-14, 35-81.
8. Скорій П.Г. Нервові хвороби. - Львів: ЛДМУ ім. Д. Галицького, ч.1,2. – 1050 с.

ТЕМА № 8. ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ ПЕРЕТРАВЛЕННЯ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН (БІЛКІВ, ВУГЛЕВОДІВ, ЛІПІДІВ) У ТРАВНОМУ ТРАКТІ.

Тема № 8. Дослідження процесу перетравлення поживних речовин (білків, вуглеводів, ліпідів) у травному тракті

Мета заняття: засвоїти біохімічні аспекти процесу травлення в шлунку та кишках, оволодіти методами визначення компонентів шлункового соку (вміти

визначати складові компоненти шлункового соку) та інтерпретувати отримані результати; вивчити механізми патохімічних процесів, що виникають під час патологічних процесів органів травної системи.

Актуальність теми: У зв'язку з тим, що відсоток людей з патологією органів травної системи щорічно зростає, знання механізмів виникнення гастроентерологічних захворювань є необхідним для правильної та своєчасної їх діагностики та подальшого лікування. Якісна та кількісна оцінка секретів травних залоз (залози шлунка, підшлункова залоза) є важливим діагностичним критерієм для корекції патохімічних процесів стану травних залоз.

Уміння та навички, які потрібно набуті в результаті виконання роботи:

- Вміти трактувати фізіологічні потреби та енергетичну цінність основних поживних речовин – складових компонентів харчування людини: білків, вуглеводів, ліпідів, вітамінів, мікроелементів.
- Пояснювати біохімічні механізми ферментативних процесів травлення та надходження до тканин складових компонентів нутрієнтів при спадкових та набутих порушеннях синтезу та активності ферментів розщеплення білків, вуглеводів і ліпідів.
- Пояснювати виникнення основних патологічних процесів у шлунку та кишках, пов'язаних із порушенням травлення.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти пояснювати причини змін хімічного вмісту шлункового соку при різних захворюваннях.

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна, біологічна хімії.

Отримані навички: вміти писати структурні формули амінокислот, реакції дезамінування, декарбоксилування, трансамінування.

Теоретичні питання

1. Потреби організму людини в поживних речовинах – вуглеводах, ліпідах, білках. Енергетична цінність основних поживних речовин. Раціональне харчування. Азотистий баланс організму. Вміст поживних речовин у поширених продуктах харчування.
2. Характеристика процесу травлення в шлунку: механізм активації та специфічність дії ферментів (пепсин, гастрин, ренін). Біохімічні аспекти активування та стимуляції виділення ферментів.
3. Механізм утворення та роль хлоридної кислоти. Кислотність шлункового соку та форми її вираження; кількісні показники в нормі та за умов патології (за методом рН-метрії).
4. Травлення білків у тонкій кишці: протеолітичні ферменти підшлункової залози та тонкої кишки, механізм їх активування та специфічність дії. Механізми всмоктування продуктів гідролізу білків.
5. Характеристика процесів гниття білків у товстій кишці.

6. Травлення ліпідів у травному тракті. Специфічність дії ліполітичних ферментів, роль жовчних кислот у травленні ліпідів. Особливості всмоктування продуктів гідролізу ліпідів.
7. Травлення вуглеводів у травному тракті. Гліколітичні ферменти. Механізм всмоктування вуглеводів у травному тракті.
8. Регуляція процесів травлення гормонами ГЕП-системи.
9. Біохімічні зміни при порушенні функцій шлунка, їх клініко-біохімічна характеристика.
10. Гострий і хронічний панкреатит: механізм виникнення, патохімічна характеристика змін секреторної функції підшлункової залози. Види стеатореї (панкреатична, гепатогенна, ентерогенна), їх характеристика.
11. Спадкові ферментопатії недостатності дисахаридаз кишки (непереносимість лактози та сахарози).

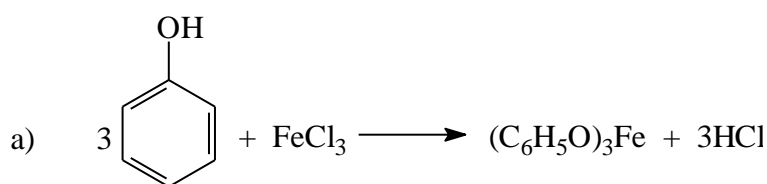
Практична робота

Дослід № 1. Реакція на молочну кислоту (реакція Уффельманна)

Принцип методу: молочна кислота в присутності заліза феноляту (реактив Уффельманна), забарвленого у фіолетовий колір, утворює заліза лактат жовто-зеленого кольору:

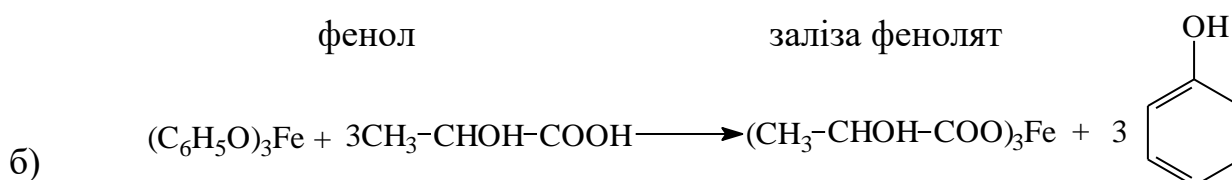
Матеріальне забезпечення: патологічний шлунковий сік, 1 % розчин фенолу, 3 % розчин FeCl₃, піпетки, пробірки, штатив.

Хід роботи: До 5 мл 1% розчину фенолу додають 2 – 3 краплі 3 % розчину заліза хлорного. Утворюється заліза фенолят фіолетового кольору, до якого додають по краплях патологічний шлунковий сік, в якому відсутня вільна хлоридна кислота. При наявності в шлунковому соку молочної кислоти утворюється жовто-зелене забарвлення внаслідок утворення заліза лактату .



фенол

заліза фенолят



заліза фенолят

молочна кислота

заліза лактат

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Виявлення молочної кислоти в шлунковому соку проводять з метою дослідження інтенсивності процесів молочнокислого бродіння в шлунку (непрямий доказ відсутності чи низької концентрації хлоридної кислоти). Існує думка, що наявність молочної кислоти в шлунковому соку є наслідком метаболічних процесів ракових клітин.

Дослід № 2. Уреазний метод виявлення в шлунковому соку *Helicobacter pylori*.

Принцип методу: у гастробіоптаті виявляють ензим уреазу, яка каталізує гідроліз сечовини. Аміак, що утворюється, зміщує рН розчину в лужний бік і в присутності фенолфталеїну утворюється рожеве забарвлення.

Матеріальне забезпечення: патологічний шлунковий сік, 0,5 % спиртовий розчин фенолфталеїну, 1 % розчин сечовини, піпетки, пробірки, штатив.

Хід роботи: До 1 – 2 мл патологічного шлункового соку додають 1 – 2 мл сечовини і 2 – 3 краплі фенолфталеїну. Вміст пробірок перемішують, залишають на декілька хвилин при кімнатній температурі і спостерігають за появою рожевого забарвлення в пробірці.

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. За умов норми шлунок натще майже не містить бактеріальної флори. Не зважаючи на бактерицидну дію хлоридної кислоти, у шлунку в невеликій кількості наявні ентерококи, молочнокислі бактерії, стрептококи, стафілококи, гриби, а кількість мікроорганізмів не перевищує 1 000 мікробних тіл у 1 мл шлункового соку. Мікробна флора шлунка змінюється при дуодено-гастральному рефлюксі та зниженні моторики тонкої кишки. Спіралеподібний грамнегативний мікроорганізм *Helicobacter pylori* (*Hp*) може спричинювати розвиток хронічних захворювань травного тракту. Основною причиною цього є висока адгезивна спорідненість цих бактерій до мембран епітеліальних клітин слизової оболонки шлунка, яка створює умови для дії бактеріальних ензимів, що виділяються *Hp* у великій кількості (уреаза, ліпаза, фосфоліпаза, протеаза та каталаза) і пошкоджують слизову оболонку. *Hp* виявляють при виразці дванадцятипалої кишки у 92 – 100 % хворих, гастритах – у близько 90 %, виразці шлунка – у 70 – 80 %, раку шлунка – до 80 %, диспепсії без виразок у 40 – 70 % хворих.

Визначення загальної кислотності, загальної хлоридної кислоти, вільної хлоридної кислоти та зв'язаної хлоридної кислоти в одній порції шлункового соку.

Шлунковий сік титрують 0,1 н розчином NaOH у присутності змішаних індикаторів за принципом суміші сильної та слабкої кислот. Сильною кислотою в шлунковому соку є хлоридна кислота, точка еквівалентності якої при титруванні лежить у нейтральному середовищі. Слабкою кислотою є зв'язана хлоридна кислота, групи-COОН білків, органічні кислоти, кислі фосфати, точка еквівалентності яких при титруванні з сильною кислотою лежить у слабо лужному середовищі.

У нормі вміст вільної хлоридної кислоти коливається в межах 20 – 40

ммоль/л, зв'язаної – 10 – 20 ммоль/л, а загальна кислотність (сума всіх кислореагуючих речовин: вільної HCl, зв'язаної HCl, кислих фосфатів, молочної кислоти тощо) становить 40 – 60 ммоль/л.

Визначення кислотності шлункового соку важливе для діагностики та правильного вибору методу лікування низки захворювань шлунка та дванадцятипалої кишки. У хворих на дуодентальну виразку, а також при гіперацидному гастриті відбувається збільшення вмісту вільної хлоридної кислоти (гіперхлоргідрія) і загальної кислотності (гіперацидітас). Зменшення кількості вільної хлоридної кислоти (гіпохлоргідрія) і загальної кислотності (гіпоацидітас) характерне для хронічного атрофічного гастриту. Гіпохлоргідрію, ахлоргідрію, ахілію (повна відсутність хлоридної кислоти та пепсину) спостерігають у хворих на рак шлунка.

Сучаснішим є метод інтрагастральної рН-метрії, його широко застосовують при обстеженні гастроентерологічних хворих, він базується на виникненні різниці потенціалів між електродами (до 5), один із яких призначений для порівняння. Згідно цього методу рН у межах 1,6 – 2,2 відповідає нормоацидності, рН у межах 3,6 – 6,9 – значній гіпоацидності, рН 0,9 – 1,2 – значній гіперацидності (Чорнобровий В.М., 1998).

Бензидинова проба на кров.

Реакція базується на окисненні бензидину до п-хінондіїміду киснем, який утворюється при розкладі гідрогену пероксиду під дією гемоглобіну крові.

У шлунку кров може з'являтися внаслідок кровотечі з його стінок при виразковій хворобі шлунка, з варикозно розширених вен стравоходу, при легневих і носових кровотечах, екстирпації зуба, а також може потрапляти в шлунок з їжею.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Пояснити принцип методу визначення кислотності шлункового вмісту: загальної кислотності, вільної та зв'язаної соляної кислоти. Клініко-діагностичне значення цих показників.
2. Пояснити принцип методу виявлення в шлунковому вмісті молочної кислоти. Пояснити причини появи у шлунковому вмісті молочної кислоти?
3. Пояснити принцип методу виявлення в шлунковому вмісті "кров'яних пігментів" бензидиновою пробою. Пояснити причини появи їх у шлунковому вмісті. Яка чутливість цього методу?
4. Пояснити принцип уреазного методу виявлення в шлунковому соку *Helicobacter pylori*. Клініко-діагностичне значення визначення цієї бактерії у шлунковому вмісті.

Інструктивно-методичні матеріали до теми №8

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Потреби організму людини в поживних речовинах – вуглеводах, ліпідах, білках. Енергетична цінність основних поживних речовин. Раціональне харчування. Азотистий баланс організму. Вміст поживних речовин у поширених продуктах харчування.

1.1. Дати коротку характеристику (у вигляді таблиці) вуглеводам, білкам, ліпідам за схемою:

- добова потреба,
- енергетична цінність,
- в яких продуктах переважають.

1.2. Дати визначення поняттю:

Раціональне харчування - це...

1.3. Назвати незамінні компоненти харчової дієти людини (незамінні амінокислоти, незамінні жирні кислоти).

1.4. Дати визначення поняттям:

азотистий баланс – це...

азотиста рівновага – це...

негативний азотистий баланс – це...

позитивний азотистий баланс – це....

повноцінні білки – це...

неповноцінні білки – це...

Навести приклади.

2. Характеристика процесу травлення в шлунку: механізм активації та специфічність дії ферментів (пепсин, гастрин, ренін). Біохімічні аспекти активування та стимуляції виділення ферментів.

2.1. Дати визначення

ендопептидази – це... Навести приклади

екзопептидази – це... Навести приклади

2.2. Охарактеризувати ферменти шлункового соку за схемою:

- назва,
- особливості будови,
- рН оптимум,
- особливості активації (при наявності),
- специфічність дії.

3. Механізм утворення та роль гідрохлоридної кислоти. Кислотність шлункового соку та форми її вираження; кількісні показники в нормі та за умов патології (за методом рН-метрії).

3.1. Написати реакції утворення хлоридної кислоти.

3.2. Перелічити основні функції хлоридної кислоти в шлунку.

3.3. Дати визначення поняттям:

загальна кислотність – це..., за умов норми становить...

зв'язана HCl – це..., за умов норми становить...

вільна HCl – це..., за умов норми становить...

3.4. Дати характеристику кислотності (у базальну і стимульовану фазу секреції) за показниками рН метрії:

- за умов норми,
- при гіперацидності,
- при гіпоацидності,
- при анацидності.

4. Травлення білків у тонкій кишці: протеолітичні ферменти підшлункової залози та тонкої кишки, механізм їх активування та специфічність дії. Механізми всмоктування продуктів гідролізу білків.

4.1. Охарактеризувати протеолітичні ферменти підшлункового соку та тонкої кишки за схемою:

- назва,
- особливості будови,
- рН оптимум,
- особливості активації (при наявності),
- специфічність дії.

4.2. Охарактеризувати процес котранспорту амінокислот.

4.3. Схематично відобразити механізм дії гама-глутамільного циклу, пояснити.

5. Характеристика процесів гниття білків у товстій кишці.

5.1. Дати визначення поняттю «гниття білків у товстій кишці».

5.2. Написати реакції утворення скатола, індолу, крезолу, фенолу, путресцину, кадаверину, агматину.

6. Травлення ліпідів у травному тракті. Специфічність дії ліполітичних ферментів, роль жовчних кислот у травленні ліпідів. Особливості всмоктування продуктів гідролізу ліпідів.

6.1. Охарактеризувати процес травлення ліпідів за схемою:

- де відбувається,
- характеристика ліполітичних ферментів: назва, рН оптимум, специфічність дії.

6.2. Назвати жовчні кислоти, вказати їх роль у процесі травлення ліпідів, описати механізм ентерогепатичної циркуляції.

6.3. Охарактеризувати особливості всмоктування продуктів гідролізу ліпідів.

7. Травлення вуглеводів у травному тракті. Гліколітичні ферменти. Механізм всмоктування вуглеводів у травному тракті.

7.1. Охарактеризувати гліколітичні ферменти (назва, рН оптимум, специфічність дії), що беруть участь у травленні вуглеводів у порожнині рота та тонкої кишки.

7.2. Описати шляхи всмоктування моносахаридів у епітеліоцити тонкої кишки (полегшена дифузія та ко-транспорт) та з епітеліоцитів у кров і печінку.

8. Регуляція процесів травлення гормонами ГЕП-системи.

8.2. Охарактеризувати у вигляді таблиці найважливіші гормони ГЕП-системи за схемою:

- назва,

- місце утворення,
- ефект.

9. Біохімічні зміни при порушенні функцій шлунка, їх клініко-біохімічна характеристика.

9.1. Дати визначення поняттю «функціональні розлади шлунка».

9.2. Охарактеризувати функціональну ахілію за схемою:

- причини виникнення.
- клінічні прояви,
- діагностичні критерії виявлення.

9.3. Охарактеризувати функціональну шлункову гіперсекрецію за схемою:

- причини виникнення.
- клінічні прояви,
- діагностичні критерії виявлення.

10. Гострий і хронічний панкреатит: механізм виникнення, патохімічна характеристика змін секреторної функції підшлункової залози. Види стеатореї (панкреатична, гепатогенна, ентерогенна), їх характеристика.

10.1. Охарактеризувати гострий (хронічний) панкреатит за схемою:

- причини виникнення,
- механізм виникнення,
- клінічні прояви,
- діагностичні критерії виявлення.

10.2. Охарактеризувати панкреатичну, гепатогенну, ентерогенну стеаторею за схемою:

- причини виникнення,
- механізм виникнення,
- клінічні прояви,
- діагностичні критерії виявлення.

11. Спадкові ферментопатії недостатності дисахаридаз кишки (непереносимість лактози та сахарози).

11.1. Охарактеризувати непереносимість лактози за схемою:

- види,
- причина виникнення,
- час появи,
- клінічні прояви.

11.2. Дати характеристику непереносимості сахарози за схемою:

- причина виникнення,
- час появи,
- клінічні прояви.

12. Заповніть таблицю, вказавши у відповідних полях, скільки кілокалорій дає 1 г наведених нутрієнтів, а також рекомендовані добові потреби в білках, жирах і вуглеводах, як і співвідношення між ними для дорослого індивіда масою тіла 75 кг.

Нутрієнт	Ккал в 1 г	Добова потреба в г	Рекомендована частка від добового калоражу
Білки			
Вуглеводи			
Жири			

13. Заповніть таблицю, вказавши, в яких відділах травного тракту і за участі яких ферментів відбувається травлення наведених нутрієнтів.

Нутрієнт	Відділ травного тракту	Ферменти
Білки		
Вуглеводи		
Жири		

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 8

- У пацієнта підозрюють хронічний панкреатит, оскільки у нього спостерігають явища гіповітамінозів, цукрового діабету, панкреатичної диспепсії (відраза до жирної їжі, кашкоподібний смердючий стілець). Які лабораторні дослідження потрібно провести для підтвердження попереднього діагнозу?
- Пацієнт госпіталізований зі скаргами на біль в епігастральній ділянці та лівому підребер'ї, втрату ваги, апетиту, посилене слиновиділення, часті проноси. Лабораторно спостерігають гіпохромну анемію, зростання швидкості осідання еритроцитів, зниження активності α -амілази, трипсину та хімотрипсину в дуоденальному вмісті. Який попередній діагноз можна поставити? Які дослідження потрібно здійснити додатково?
- У гастробіоптаті пацієнта Д. з виразковою хворобою шлунка виявлено *Helicobacter pylori*. Визначення активності якого ензиму використовується для цього?
- Під час дослідження секреторної функції шлунка виявлено гіпохлоргідрію. Активність яких ензимів шлункового соку при цьому буде знижуватися?
- Під час комплексного обстеження у шлунковому соку пацієнта виявлена речовина, наявність якої свідчить про надмірну інтенсивність процесів молочнокислого бродіння в шлунку (непрямий доказ відсутності чи низької концентрації хлоридної кислоти). Яка це речовина? Назвіть причини появи її у шлунковому соці.
- У пацієнта підозрюють хронічний панкреатит, оскільки у нього спостерігають явища гіповітамінозів, цукрового діабету, панкреатичної диспепсії (відраза до жирної їжі, кашкоподібний смердючий стілець). Які лабораторні дослідження потрібно провести для підтвердження попереднього діагнозу?

7. Пацієнт госпіталізований зі скаргами на біль в епігастральній ділянці та лівому підребер'ї, втрату ваги, апетиту, посилене слиновиділення, часті проноси. Лабораторно спостерігають гіпохромну анемію, зростання швидкості осідання еритроцитів, зниження активності α -амілази, трипсину та хімотрипсину в дуоденальному вмісті. Який попередній діагноз можна поставити? Які дослідження потрібно здійснити додатково?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	При споживанні їжі, що містить білок глютен, розвивається целиакія (глютенова хвороба), яка характеризується дегенерацією кишкових ворсинок із втратою їх абсорбтивної функції, діареєю і стеатореєю, здуттям живота, втратою ваги та іншими позакишковими проявами. Глютен є білком:	<p>A. *Пшениці B. Кукурудзи C. Рису D. Суниць E. Яєць</p>	
2.	Молодим батькам добре відомо, що моторика травного тракту немовлят на кілька порядків вища ніж у дорослих. Який ензим сприяє швидкому осадженню і перетравленню білків - казеїногенів молока в шлунку дітей?	<p>A. *Ренін B. Пепсин C. Трипсин D. Хімотрипсин E. Проеластаза</p>	
3.	У чоловіка 60-ти років, який страждає на хронічну кишкову непрохідність, посилюється гниття білків у товстій кишці. Підтвердженням цього процесу є:	<p>A. *Індиканурія B. Глюкозурія C. Креатинурія D. Білірубінурія E. Гіперурикурія</p>	
4.	Перетравлення білків у шлунку є початковою стадією розщеплення білків у травному тракті людини. Назвіть ферменти, які беруть участь в перетравленні білків у шлунку:	<p>A. *Пепсин, гастрин B. Трипсин, катепсини C. Хімотрипсин, лізоцим D. Ентероптидаза, еластаза E. Карбоксипептидаза, амінопептидаза</p>	

5.	Внаслідок лапароскопічного видалення жовчного міхура в пацієнта виникла стеаторея. Назвіть основний прояв цього порушення:	<p>А. *Наявність великої кількості жиру в калових масах</p> <p>В. Надмірна кількість триацилгліцеролів у плазмі крові</p> <p>С. Наявність триацилгліцеролів у сечі</p> <p>Д. Велика кількість неперетравлених м'язових волокон у калі</p> <p>Е. Жирові відкладення в клітинах паренхіматозних органів</p>	
----	--	---	--

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Сучасні вимоги до компонентів раціонального харчування. Роль харчових добавок.

План

1. Дати визначення поняттю раціонального харчування та вимоги до нього.
2. Співвідношення поживних речовин в раціоні харчування.
3. Функції харчових добавок.
4. Негативні наслідки вживання харчових добавок.

Рекомендована література:

1. Гігієна харчування з основами нутриціології / Аністратенко Т.І., Білко Т.М., Благодарова О.В., Ципріян В.І. – Підручник – К.: Медицина, 2007. – 544 с.
2. Нутриціологія / Дуденко Н.В., Павлоцька Л.Ф., Цихановська І.В. та ін. – Навч. посібник – Х.: Світ Книг, 2013. – 560 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 351 – 370.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2007. – С. 465 – 481.

3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 288 – 290, 357 – 363, 397 – 403.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. – Тернопіль: ТДМУ, 2015. – с. 391-418.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 437-450.
6. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярова – К.: Медицина, 2007. – С. 314 – 329.
7. Клінічна біохімія / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Медицина, 2006. – С. 201 – 227.
8. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
10. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 502 - 522.
11. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія: Посібник / Склярів О., Сольські Я., Великий М., Фартушок Н., Бондарчук Т., Дума Д. – Львів: Кварт. – 2008. – 335 с.
2. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 274 – 298.
4. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я.Склярова. – К.”Здоров’я”, 2002, С.209 – 219.
5. Склярів О.Я., Косий Є.Р., Склярів Є.Я. «Основи гастроентерології».- Львів, Кварт, 2011. – 289 с.
6. Современные подходы к молекулярной диагностике и типированию клинических изолятов *Helicobacter pylori* / Говорун В.М., Момыналиев К.Т., Смирнова О.В. и др.// РЖГГК. – 2002. - № 3. – С.57 – 64.
7. Справочник по лабораторным методам исследования. Под ред. проф. Л.А. Даниловой. – М. – С.-Пб. – Нижний Новгород – Воронеж – Ростов-на-Дону – Екатеринбург – Самара – Киев – Харьков – Минск: – 2003. – 733 с.

Тема № 9. Дослідження функціональної ролі водорозчинних (коферментних) та жиророзчинних вітамінів у метаболізмі та реалізації

клітинних функцій.

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

Актуальність теми: Водорозчинні та жиророзчинні вітаміни беруть участь в обміні речовин як коферменти і активатори багатьох ферментативних та не ферментативних процесів. Порушення засвоєння та надходження вітамінів в організм або патологія їх обміну, знижує інтенсивність енергетичного та пластичного обмінів, що супроводжується порушенням функцій ряду органів, зниженням імунітету до вірусних та інфекційних захворювань, втратою організмом здатності адаптуватись до різних несприятливих факторів.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Уміти оцінювати роль водорозчинних та жиророзчинних вітамінів в обміні речовин в нормі та при розвитку гіпо – та гіпервітамінозів, їх попередження та лікування.
- Пояснювати роль вітаміноподібних речовин у процесах метаболізму.
- Пояснювати роль біологічно активних добавок (БАДів), як компонентів харчування людини та їх вплив на організм.
- Вміти проводити визначення різних водорозчинних та жиророзчинних вітамінів у біологічних рідинах; вміти інтерпретувати отримані дані;

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти трактувати роль водорозчинних, жиророзчинних вітамінів та вітаміноподібних речовин у процесах життєдіяльності та функціонування клітин та цілісного організму;
- Пояснювати застосування антивітамінів як інгібіторів ферментів при інфекційних захворюваннях та при патологіях системи гомеостазу;
- Пояснювати причини розвитку гіпо- та авітамінозів;

Теоретичні питання

1. Вітаміни як незамінні біологічно-активні компоненти харчування, що необхідні для організму людини. Історія відкриття вітамінів. Розвиток вітамінології в Україні.
2. Екзо- і ендогенні гіпо- та авітамінози, їх причини та наслідки. Гіпервітамінози: можливі причини та наслідки.
3. Вітаміни В₁ і В₂, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині.
4. Будова, властивості вітаміну Н та пантотенової кислоти. Роль коферментів карбоксибіотину і КоASH в обмінних процесах. Основні джерела, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині.

5. Антианемічні вітаміни (B_{12} , фолієва кислота), їх будова, участь коферментів у обміні речовин, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині.
6. Вітаміни B_6 та РР, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині.
7. 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.
8. Вітаміни групи D, будова, біологічна роль, механізм дії, добова потреба, джерела для людини, ознаки гіпо- та гіпервітамінозів, авітаміноз.
9. Вітамін А, будова, біологічна роль, механізм дії, добова потреба, джерела для людини, ознаки гіпо-, гіпервітамінозів.
10. Вітаміни Е, F, будова, біологічна роль, механізм дії, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки гіпо-, гіпервітамінозів, застосування в медицині.
11. Антигеморагічні вітаміни (K_2 , K_3) та їх водорозчинні форми, будова, біологічна роль, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки недостатності, застосування в медицині.
12. Провітаміни, антивітаміни. Визначення, приклади, механізм їх дії та застосування у практичній медицині.
13. Вітаміноподібні речовини: визначення, структура та біологічна роль.
14. Сучасні вітамінні препарати та їх профілактичне та лікувальне застосування в медичній практиці. Біологічно активні добавки (БАДи).

Практична робота

Дослід 1. Відновлення метиленової синьки аскорбіновою кислотою.

Принцип методу. Аскорбінова кислота здатна відновлювати метиленовий синій, який переходить при цьому у безколірну лейкосполуку.

Матеріальне забезпечення: 0,01 % розчин метиленового синього, 10 % розчин Na_2CO_3 , 1 % витяжка з шипшини, дистильована вода, пробірки.

Хід роботи: У дві пробірки додають по одній краплі 0,01 % розчину метиленової синьки і 10 % розчину Na_2CO_3 . В першу пробірку додають 5 крапель 1 % витяжки з шипшини, в другу – стільки ж дистильованої води. Пробірки одночасно нагрівають. У пробірці з витяжкою з шипшини рідина знебарвлюється.

Зробити висновок. Пояснити отриманий результат.

Дослід 2. Реакція з феруму хлоридом на виявлення вітаміну Е.

Принцип методу. Спиртовий розчин α -токоферолу окиснюється феруму хлоридом до токоферилхінону червоного кольору.

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

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

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

Клініко-діагностичне значення. За сучасними уявленнями головна функція токоферолів полягає в тому, що вони служать антиоксидантами по відношенню до ненасичених ліпідів. Завдяки наявності в молекулі лабільного атому водню α -токоферол взаємодіє з пероксидними радикалами ліпідів, відновлюючи їх в гідропероксиди і перериваючи таким чином ланцюгову реакцію пероксидації.

Більшість проявів недостатності токоферолу залежить, мабуть, від припинення здійснюваної вітаміном інгібуючої дії на аутоокиснення ненасичених жирних кислот, що входять у склад клітинних і субклітинних мембран: гемолітична анемія у недоношених дітей; атрофія сім'яників і безплідність; розсмоктування плоду на ранніх стадіях вагітності; м'язова дистрофія, що супроводжується втратою внутрішньоклітинних азотистих компонентів та білків м'язів. Безпосередня причина м'язової дистрофії – вивільнення лізосомальних гідролаз внаслідок дефекту мембрани лізосом.

Добова потреба для дорослої людини 20 – 30 мг, концентрація в сироватці крові 3500 – 8000 нмоль/л.

З мембранною патологією, мабуть, пов'язані ділянки некрозу, що спостерігаються при авітамініозі Е в печінці, тканині мозку, особливо мозочка.

Найбільш багаті на вітамін Е рослинні масла: соняшникове, кукурудзяне, бавовняне, оливкове. Особливо високий його вміст у маслі, отриманому із зародків пшениці, вівса, зеленого горошку. Випускають препарат синтетичного α -токоферолу ацетату в рослинному маслі для внутрішнього прийому і для внутрішньом'язових ін'єкцій. Застосовують в якості антиоксиданту при м'язовій дистрофії, порушенні репродуктивної функції у жінок і чоловіків, гемолітичній анемії у новонароджених, в комплексній терапії серцево-судинних захворювань, очних та печінкових захворювань тощо.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Виявлення вітаміну С реакцією з метиленовим синім. Поясніть принцип методу.
2. Виявлення вітаміну Е реакцією з феруму хлоридом. Поясніть принцип методу.
3. У пацієнтки спостерігається порушення перебігу вагітності, існує загроза викидня. Дефіцит яких вітамінів може спостерігатися за такого стану?
4. Які лікарські препарати є аналогами вітамінів і мають антигеморагічну дію?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №9

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Вітаміни як незамінні біологічно-активні компоненти харчування, що необхідні для організму людини. Історія відкриття вітамінів. Розвиток вітамінології в Україні.

1.1. Представити загальну класифікацію вітамінів, їх роль та значення для живих організмів, історію їх відкриття та вивчення. Вчені, які займалися вивчення вітамінів в Україні.

2. Екзо- і ендогенні гіпо- та авітамінози, їх причини та наслідки. Гіпервітамінози: можливі причини та наслідки.

2.1. Представити причини та наслідки розвитку ендо- та екзогенних гіпо- та авітамінози, гіпервітамінозів.

2.2. Дати визначення ключовим термінам:

Гіповітаміноз – це...

Авітаміноз – це..

Гіпервітаміноз – це...

3. Вітаміни В₁ і В₂, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині.

3.1. Представити структурні формули вітамінів та їх коферментів. Описати роль коферментів. 3.2. Назвати добову потребу та джерела

3.1. Дати визначення гіповітамінозам і описати біохімічні зміни

Поліневрит – це...

Бері-бері – це...

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

4.1. Представити будову вітамінів Н та пантотенової кислоти, коферментну роль, джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині.

5. Антианемічні вітаміни (В₁₂, фолієва кислота), їх будова, участь коферментів у обміні речовин, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині.

5.1. Представити структурні формули фолієвої кислоти, коферментну роль (вітаміну В₁₂, фолієвої кислоти), джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині.

5.2. Дати визначення

фактор Касла – це ...

6. Вітаміни В₆ та РР, їх будова, коферментна роль, джерела для людини, добова потреба, ознаки гіповітамінозу, застосування у медицині.

6.1. Представити структурні формули вітамінів В₆ та РР, коферментну роль, джерела для людини, добову потребу. Ознаки гіповітамінозу; застосування у медицині.

6.2. Дати визначення

Пелагра – це...

7. 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.

7.1. Дати визначення

Цинга або скорбут – це...

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

8.1. Дати визначення

Рахіт – це...

Остеопороз – це...

Остеомаляція – це...

Активна форма вітаміну D₃ - це...

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

9.1. Дати визначення

Гемералопія – це...

Кератомаліяція – це...

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

10.1. Назвати жирні кислоти, які входять до складу вітаміну F

11. Антигеморагічні вітаміни (K₂, K₃) та їх водорозчинні форми, будова, біологічна роль, джерела для людини, механізм дії, добова потреба, ознаки недостатності, застосування в медицині.

11.1. Представити структурні формули вітамінів (K₂, K₃) та їх водорозчинних форм (вікасол), біологічну роль, механізм дії, добову потребу, джерела для людини, ознаки гіповітамінозу та авітаміноз, застосування в медицині.

12. Провітаміни, антивітаміни. Визначення, приклади, механізм їх дії та застосування у практичній медицині.

12.1. Зазначити будову провітамінів, антивітамінів, біологічну роль, механізм дії, джерела для людини (провітамінів), застосування в медицині.

12.2. Дати визначення ключовим термінам:

Провітаміни – це... Навести приклади

Антивітаміни – це... Навести приклади

Ізоніазид – це...

Дикумарол – це...

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

13.1. Зазначити будову вітаміноподібних речовин, біологічну роль, механізм дії, джерела для людини.

13.2. Дати визначення ключовим термінам:

Вітаміноподібні речовини – це... Навести приклади.

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

14.1. В конспекті зазначити класифікацію біологічно активних добавок та сучасних вітамінних препаратів, значення у профілактиці різних

патологічних станів та допоміжних засобів при лікуванні різних патологій.
Навести приклади сучасних лікарських препаратів.

14.2. Дати визначення ключовим термінам:

Біологічно активні добавки (БАДи) – це...

14. Заповніть таблицю, вказавши недостатність яких вітамінів призводить до розвитку вказаних патологічних станів:

Недостатність вітаміну	Патологічний стан
	Цинга
	Пелагра
	Рахіт
	Нічна сліпота
	Геморагії
	Невиношування вагітності
	Бері-бері
	Мегалобластна анемія

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 9

- Для комплексного лікування виразки шлунка, крім традиційних препаратів, хворому було рекомендовано вживати сік свіжої капусти. Наявність якої речовини сприяє лікувальному ефекту?
- Пілотам і водіям транспорту, що працюють в умовах переключення уваги від освітлених приладів до темряви, необхідно збільшувати добову потребу вітаміну А. Поясніть біохімічний механізм даного явища.
- У результаті передозування дикумаролу при лікуванні тромбофлебіту виникла кровотеча. Що лежить в основі її розвитку? Який вітамін може запобігти цій кровотечі?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	У хворого виявлено дистрофію скелетної мускулатури. Нестача якого вітаміну може до цього призвести ?	А. *Е В. С С. В ₁ D. А Е. D	
2.	При надмірному вживанні якого вітаміну може виникати гіпервітаміноз?	А. *А В. В ₆ С. С	

		D. Н E. РР	
3.	Із деяких овочів (томати, дині, морква) виділили каротини. До яких речовин вони належать?	A. *Провітамінів B. Антивітамінів C. Коензимів D. Кофакторів E. Гормонів	
4.	У пацієнта діагностовано гіповітаміноз D, зумовлений порушенням синтезу провітаміну. Який субстрат є вихідним для синтезу цього провітаміну?	A. *Холестерин B. Аланін C. Етаноламін D. Метіонін E. Серин	
5.	Який з перерахованих вітамінів запобігає розвитку вільнорадикального окиснення ?	A. *Токоферол B. Нафтохінон C. Кобаламін D. Біотин E. Холекальциферол	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Ендогенні гіповітамінози. Причини та механізми розвитку при захворюваннях травної та серцево-судинної систем.

План:

1. Ендогенні гіповітамінози. Клінічні прояви, лікування.
2. Механізм розвитку гіповітамінозів при захворюваннях травної та серцево-судинної системи.
3. Біологічно-активні добавки та їх вплив на організм людини.

Рекомендована література:

1. Ших А.В., Махова А.А. Витамины в клинической практике. – М.: Практическая Медицина, 2013. – 368 с.
2. Харчова хімія / Євлаш В.В., Торяник О.І. та ін. – Навч. Посібник. – Х.: Світ книг, 2012. - 504 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 370 – 384.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2009. – С. 121 – 128, 481-501.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 71 – 74, 98 – 102, 107 – 124.
4. Біологічна хімія / Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін.- Харків: Основа, 2000.– С. 426 – 442.

5. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - 419 - 451 с.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 244-277.
7. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярів – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
8. Клінічна біохімія / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 116 – 142, 162-221.
9. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярів. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 167-179.
- 10.Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. – К.: Академперіодика, 2017. – С. 67 - 73.
- 11.Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
- 12.Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
- 13.Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 116-164.
- 14.Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000. – 470 с.
2. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 278 – 279.

РОЗДІЛ 9. БІОХІМІЯ КРОВІ

Тема № 10. Дослідження кислотно-основного стану крові та дихальної функції еритроцитів. Патологічні форми гемоглобінів.

Мета заняття: Вміти аналізувати біохімічний склад крові та пояснювати діагностичну роль білків плазми крові, оцінити зміни показників кінцевих продуктів метаболізму в крові. Вміти проводити дослідження гемоглобіну, знати функцію гемоглобіну та його похідних, мати уявлення про гемоглобінопатії та їх розповсюдження.

Актуальність теми: Дихальна функція еритроцитів здійснюється за рахунок гемоглобіну. Завдяки здатності приєднувати кисень при його високому парціальному тиску і віддавати – при низькому молекула гемоглобіну виконує свою основну функцію транспортера кисню: приєднує його в капілярах альвеол легень та віддає тканинам у венозних капілярах. Крім транспорту кисню від

легень до капілярів периферичних тканин, гемоглобін відіграє також суттєву роль у перенесенні до легень вуглекислого газу.

У діагностиці невідкладних станів важлива роль належить визначенню кислотно-основного стану, парціального тиску кисню та вуглекислого газу крові, стану буферних систем крові, іонного складу позаклітинної рідини, осмолярності біологічних рідин, дисоціації гемоглобіну тощо.

Уміння та навички, які потрібно набуті в результаті виконання роботи:

- Вміти оцінювати значення різних форм гемоглобінів в еритроцитах здорової людини і пояснювати виникнення патологічних форм гемоглобінів, використовувати їх визначення в діагностиці патологічних станів;
- Знати молекулярні механізми виникнення патологічних форм гемоглобінів та зміну основних біохімічних показників крові для діагностики функціонального стану організму людини

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти трактувати результати біохімічного аналізу крові для оцінки стану здоров'я людини, механізму регуляції та підтримки кислотно-основного стану;
- Вміти пояснювати виникнення патологічних форм гемоглобінів, використання їх визначення в діагностиці патологічних станів.
- Вміти трактувати механізм участі гемоглобіну в транспорті кисню і діоксиду вуглецю в легневих капілярах та капілярах периферичних тканин.

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна, біологічна хімії

Отримані навички: вміти писати структурні формули гему, похідних гемоглобіну.

Теоретичні питання

1. Кров – внутрішнє середовище організму. Склад крові, плазми, сироватки крові. Формені елементи крові: еритроцити, лейкоцити, тромбоцити. Об'єм крові, рН крові.
2. Гомеостатичні, фізико-хімічні і біологічні властивості крові.
3. Гемоглобін, його структура (особливості первинного, вторинного, третинного та четвертинного рівнів структурної організації, будова гему) і властивості.
4. Фізіологічні типи гемоглобіну різних етапів розвитку організму. Похідні гемоглобіну, їх значення.
5. Патологічні форми гемоглобіну. Гемоглобінози: гемоглобінопатії (на прикладі серповидноклітинної анемії) і таласемії.
6. Дихальна функція еритроцитів (зв'язування кисню, його транспорт, газообмін у тканинах, транспорт CO₂). Ефект кооперативності. Ефект Бора. Залежність ступеня оксигенації від парціального тиску кисню. Крива дисоціації оксигемоглобіну і міоглобіну.

7. Кислотно-основний стан. Регуляція рН рідин в організмі: порушення кислотно-основного стану: ацидоз метаболічний та респіраторний; алкалоз метаболічний та респіраторний. Механізми їх виникнення. Гормональні механізми регуляції кислотно-основного стану та осмотичного тиску.
8. Буферні системи крові, їх види: роль буферних систем крові в підтриманні постійності рН крові.
9. Основні типи гіпоксії, механізм їх виникнення, методи діагностики:
 - гіпоксія, викликана зниженням pO_2 у повітрі, що вдихається;
 - гіпоксія внаслідок розвитку патологічного процесу (легеневий тип, серцево-судинний, тканинний і гемічний).

Практична робота

Дослід 1. Виявлення оксигемоглобіну $(HbO_2)Fe^{2+}$.

Принцип методу. У разі отримання похідних гемоглобіну (окси-, карбокси-, метгемоглобіну) використовують їх властивості, зокрема те, що оксигемоглобін – нестійка сполука, карбоксигемоглобін – стійка сполука, метгемоглобін – утворюється під дією окиснювачів. Досліджують ці похідні методом спектрального аналізу. Пігменти крові вибірково поглинають промені світла певної довжини хвилі, світло, що проходить, дає характерні спектри поглинання.

Матеріальне забезпечення: спектроскоп, натрію дитіоніт, розчин крові.

Хід роботи: У мірний циліндр на 50 мл вливають 1 мл дефібринованої крові і розводять дистильованою водою до позначки. Відмічають колір розчину, відбирають у пробірку 10 мл розчину оксигемоглобіну і закріплюють у щілині спектроскопа. Під час розглядання в спектроскопі видно дві чіткі смуги поглинання в жовто-зеленій частині спектра. У 2-у пробірку відмірюють приблизно 10 мл оксигемоглобіну для отримання іншого похідного. Перша пробірка служить контролем для подальших досліджень.

Зробити висновок. Звернути увагу на те, що вивчення спектрів поглинання дає можливість виявити оксигемоглобін.

Дослід 2. Виявлення дезоксигемоглобіну $(Hb)Fe^{2+}$.

Хід роботи: До розчину оксигемоглобіну в 2-й пробірці додають 2 –3 крупинки натрію дитіоніту $Na_2S_2O_4$ і обережно змішують. Відмічають зміну кольору. Розчин гемоглобіну обережно переливають із пробірки в пробірку для доступу кисню і переходу дезоксигемоглобіну в оксигемоглобін. Відмічають зміну кольору і перевіряють спектр поглинання. В спектроскопі видно широку полосу поглинання між Фраунгоферовими лініями Д і Е, характерними для оксигемоглобіну.

Зробити висновок. Звернути увагу на спектр поглинання гемоглобіну, який значно відрізняється від оксигемоглобіну.

Клініко-діагностичне значення. Концентрація гемоглобіну в крові жінок 120 – 140 г/л, а у чоловіків 130 – 140 г/л. Зменшення концентрації гемоглобіну є

основним показником при анемії. Рівень зниження гемоглобіну у крові залежить від форми анемії.

Підвищення концентрації гемоглобіну в крові спостерігається при мієлопроліферативних захворюваннях і симптоматичних еритроцитозах, що відмічається при різних станах.

У судовій і клінічній медицині широко використовують методи якісного визначення гемоглобіну, проби Тейхмана, бензидинову, спектральний аналіз похідних гемоглобіну.

У клініці для діагностики цукрового діабету використовується рівень глікозильованого гемоглобіну. Глікозильований гемоглобін – це комплекс глюкози з мінорною фракцією А гемоглобіну. В нормі його концентрація становить 5-7 % від загальної кількості гемоглобіну.

Дослід 3. Визначення геміну (Fe^{3+}).

Хід роботи: 1. Визначення лужного геміну (ОН). До розчину оксигемоглобіну додають 2 – 3 краплі 5 % розчину натрію гідроксиду і нагрівають до зміни кольору. Спостерігають зникнення спектра оксигемоглобіну.

2. Визначення кислого геміну. До розчину оксигемоглобіну додають 2 – 3 краплі 5 % розчину хлоридної кислоти. Спостерігають зміну кольору і зникнення спектра оксигемоглобіну.

Зробити висновок. Звернути увагу на вплив кислот і лугів на властивості гемоглобіну.

Клініко-діагностичне значення. У судово-медичних експертизах ідентифікацію крові проводять за утворенням геміну.

Дослід 4. Колоїдна (осадова) проба Вельтмана на визначення стану білків крові.

Принцип методу. Реакція ґрунтується на флокуляції білків у сироватці крові, яку нагрівають до однократного закипання після додавання її до розчину певної (залежить від колоїдної стабільності системи) кількості кальцію хлориду.

Матеріальне забезпечення: пробірки, 0,5 % розчин кальцію хлориду, сироватка крові.

Хід роботи: До 4,9 мл дистильованої води додають 0,1 мл сироватки крові, вміст пробірки перемішують шляхом її перевертання і потім приливають 0,1 мл 0,5 % розчину хлориду кальцію. Вміст пробірки струшують і нагрівають над газовим пальником до закипання суміші. Потім пробірку охолоджують і дивляться крізь неї на світло.

Якщо пластівці в пробірці не з'являються, то до розчину додають ще 0,1 мл $CaCl_2$ і знову нагрівають до кипіння. Процедура повторюють до випадання пластівчастого осаду.

Результати оцінюють за загальною кількістю кальцію хлориду в цій реакції.

Клініко-діагностичне значення. Використання осадових проб з діагностичною метою базується на зміні розчинності білків плазми крові при деяких захворюваннях. Сольові розчини викликають преципітацію білків, що проявляється помутнінням розчинів або утворенням пластівців. Результати осадових проб можуть бути показовими при захворюваннях печінки, а також при інших захворюваннях, які супроводжуються диспротеїнеміями з переважанням грубодисперсних глобулінових фракцій. До колоїдних проб відносяться тимолова, сулемова, Вельтмана. Норма для проби Вельтмана становить 0,4 – 0,5 мл кальцію хлориду. Утворення пластівців при додаванні CaCl_2 менше норми спостерігається при паренхіматозному ураженні печінки, малярії, більше норми – при ревматизмі, туберкульозі легень.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Клініко-діагностичне значення визначення концентрації гемоглобіну крові, похідних гемоглобіну. гемінової групи гемоглобіну. Поясніть принцип методу.
2. Клініко-діагностичне значення використання колоїдних (осадових) проб.
3. Які відомі найважливіші причини метаболічного та респіраторного ацидозів?
4. Таласемії відносяться до вроджених дефектів синтезу гемоглобінів, при яких у мутантних формах гемоглобінів відсутні α - або β -ланцюги. Які зміни крові характерні для β -таласемії ?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №10

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Кров – внутрішнє середовище організму. Склад крові, плазми, сироватки крові. Форменні елементи крові: еритроцити, лейкоцити, тромбоцити. Об'єм крові, рН крові.
2. Гомеостатичні, фізико-хімічні і біологічні властивості крові.
 - 2.1. Дати характеристику наступним функціям крові:
 - дихальна
 - трофічна
 - екскреторна
 - захисна
 - регуляторна
3. Гемоглобін, його структура (особливості первинного, вторинного, третинного та четвертинного рівнів структурної організації, будова гему) і властивості.
 - 3.1. Указати хімічні зв'язки, які утворюють різні рівні структурної організації гемоглобіну.
 - 3.2. Написати структурну формулу гему IX, зазначити складові частини гему.
 - 3.3. Навести властивості гемоглобіну

4. Фізіологічні типи гемоглобіну різних етапів розвитку організму. Похідні гемоглобіну, їх значення.

4.1. Дати характеристику фізіологічним типам гемоглобіну (примітивні Р (Говер 1, Говер 2), фетальний, А1, А2) за схемою

Тип гемоглобіну	Склад (тип субодиниць)	Етап розвитку організму

4.2. Вказати процентний вміст різних видів гемоглобіну у новонародженої дитини і дорослої людини.

4.3. Описати похідні гемоглобіну – оксигемоглобін, дезоксигемоглобін, карбгемоглобін, карбоксигемоглобін, метгемоглобін, ціанметгемоглобін

Похідне гемоглобіну	Валентність феруму	Місце приєднання похідних	Місце та умови утворення	Властивості

5. Патологічні форми гемоглобіну. Гемоглобінози: гемоглобінопатії (на прикладі серповидноклітинної анемії) і таласемії.

5.1. Дати визначення

Гемоглобінози – це...

Таласемії – це... Навести приклади.

Пояснити генетичні дефекти гемоглобіну при різних видах таласемій. Описати α -таласемію.

Гемоглобінопатії – це... Навести приклади.

Описати серповидноклітинну анемію (причини, дефект в структурі гемоглобіну, клінічні прояви).

6. Дихальна функція еритроцитів (зв'язування кисню, його транспорт, газообмін у тканинах, транспорт CO₂). Ефект кооперативності. Ефект Бора. Залежність ступеня оксигенації від парціального тиску кисню. Крива дисоціації оксигемоглобіну і міоглобіну.

6.1. Описати дихальну функцію еритроцитів (зв'язування кисню, його транспорт, газообмін у тканинах, транспорт CO₂).

6.2. Ефект Бора. Пояснити залежність ступеня оксигенації гемоглобіну від парціального тиску кисню. Зобразити графічно криву дисоціації оксигемоглобіну і міоглобіну. Пояснити ефект кооперативності.

7. Кислотно-основний стан. Регуляція рН рідин в організмі: порушення кислотно-основного стану: ацидоз метаболічний та респіраторний; алкалоз метаболічний та респіраторний. Механізми їх виникнення. Гормональні механізми регуляції кислотно-основного стану та осмотичного тиску.

7.1. Пояснити регуляцію рН рідин в організмі. Дати визначення різних видів порушень кислотно-основного стану:

метаболічний ацидоз – це...

респіраторний ацидоз – це...
метаболический алкалоз – це...
респіраторний алкалоз – це...

Пояснити механізми їх виникнення.

7.2. Гормональні механізми регуляції кислотно-основного стану та осмотичного тиску

8. Буферні системи крові, їх види: роль буферних систем крові в підтриманні постійності рН крові.

8.1. Дати характеристику буферних систем крові: бікарбонатна, фосфатна, білкова, гемоглобінова.

9. Основні типи гіпоксії, механізм їх виникнення, методи діагностики.

9.1. Дати визначення

Гіпоксія – це...

Екзогенна гіпоксія – це ...

Ендогенна гіпоксія – це...

9.2. Описати види ендогенної гіпоксії

Вид гіпоксії	Причини виникнення	Показники крові рО ₂ , рСО ₂
Дихальний		
Циркуляторний, (серцево-судинний)		
Гемічнийт(кровяной)		
Тканинний (гістотоксичний)		

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 10

1. Концентрація гемоглобіну в крові 90 г/л. Назвіть можливі наслідки для організму.
2. При яких захворюваннях можуть відбутися зміни первинної структури молекули гемоглобіну?
3. Хворий віком 34 роки поступив у клініку з температурою тіла 38°C, запах ацетону з рота (рН 7,56, рСО₂ 17 мм. рт. ст., НСО₃⁻ 9 мекв/л). Яка можлива причина такого стану?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
-------	--------------------------	------------------------------------	-----------

1.	Для транспортування CO ₂ із тканин до легень необхідна участь ферменту	<p>A. *Карбоангідрази</p> <p>B. Декарбоксилази</p> <p>C. Карбоксилази</p> <p>D. Каталази</p> <p>E. Цитохромоксидази</p>	
2.	Людина тривалий час перебувала в умовах високогір'я. Які зміни в її крові будуть спостерігатися?	<p>A. Зменшення спорідненості гемоглобіну до кисню</p> <p>B. Зменшення кількості лейкоцитів</p> <p>C. Збільшення спорідненості гемоглобіну до кисню</p> <p>D. Зменшення частоти пульсу</p> <p>E. Збільшення кількості лейкоцитів</p>	
3.	У хворого при аналізі крові виявлено, що еритроцити мають форму півмісяця. Концентрація гемоглобіну - 78 г/л, кількість еритроцитів - $3,5 \cdot 10^{12}$. Які зміни в структурі гемоглобіну призводять до такої форми еритроцитів?	<p>A. Глутаміну на гліцин</p> <p>B. Серину на валін</p> <p>C. Метіоніну на тирозин</p> <p>D. Глутамінової кислоти на валін</p> <p>E. Лейцину на лізин</p>	
4.	В легенях вугільна кислота (H ₂ CO ₃) за допомогою фермента розкладається до води та вуглекислого газу, який виділяється з повітрям. Який фермент каталізує цю реакцію?	<p>A. *Карбоангідраза</p> <p>B. Каталаза</p> <p>C. Пероксидаза</p> <p>D. Цитохром</p> <p>E. Цитохромоксидаза</p>	
5.	У немовляти внаслідок неправильного годування виникла виражена діарея. Одним з основних наслідків діареї є екскреція великої кількості бікарбонату натрію. Яка форма порушення кислотно-лужного балансу має місце у цьому випадку?	<p>A. * Метаболічний ацидоз</p> <p>B. Метаболічний алкалоз</p> <p>C. Респіраторний ацидоз</p> <p>D. Респіраторний алкалоз</p> <p>E. Не буде порушень кислотно-лужного балансу</p>	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Оцінка стану системи крові та її біохімічних функцій.

План:

1. Поняття про систему крові, її гуморальну регуляцію, гомеостаз і гомеокінез.

2. Аналіз параметрів гомеостазу: об'єму крові, кислотно-лужної рівноваги, осмотичного тиску, кількісного та якісного складу плазми та формених елементів крові, концентрації гемоглобіну, гематокритного показника, колірного показника, швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ).

3. Біохімічна основа методів дослідження функцій системи крові: кількості гемоглобіну, ШОЕ, осмотичної стійкості еритроцитів, часу зсідання крові, визначення групи крові в системі АВО.

Рекомендована література:

1. Гарбузова В. Ю. Фізіологія крові. Навч. посіб. – Суми: СумДУ, 2007. – 145 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 385 – 399.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 502 - 517.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 553 – 556.
4. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - 452 -463 с.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 407-408.
6. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
7. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
8. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Бишевський А.Ш., Терсенов О.А., Біохімія для лікаря. – Київ, Укр. центр духовної культури, 2001. – 395 с.
2. Клиническая биохимия: Учебник для студентов мед. вузов / А. Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Леонов и др. – Харьков: Факт, 2005. – 456 с.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 319 – 331.

Тема № 11. Дослідження білків плазми крові: білки гострої фази запалення, власні та індикаторні ферменти. Дослідження небілкових азотовмісних і безазотистих компонентів крові.

Мета заняття: Знати основні білки плазми крові та вміти використовувати їх кількісні показники для діагностики гіпер- і гіпопротеїнемій, диспротеїнемій, парапротеїнемій, спадкових захворювань, пов'язаних з недостатнім синтезом тих чи інших білків крові. Знати небілкові азотовмісні сполуки крові, що складають залишковий азот та засвоїти методи визначення залишкового азоту і середніх молекул крові та вміти застосовувати отримані показники в діагностиці захворювань.

Актуальність теми: У плазмі крові виявлено і описано понад 100 білків, які відрізняються між собою за фізико-хімічними та функціональними властивостями. Серед них є транспортні білки, ферменти, інгібітори ферментів, гормони, фактори коагуляції, антитіла, антикоагулянти, антиоксиданти та інші.

Білки плазми визначають її властивості: колоїдно-осмотичний тиск і, тим самим, постійний об'єм крові, в'язкість крові, підтримання постійного рН крові та функції, а саме: захисну, регуляторну, терморегуляторну, дихальну, трофічну тощо.

Залишковий азот є важливим показником стану білкового обміну. Значення небілкового азоту і його окремих компонентів проводиться з метою діагностики порушень функції нирок, печінки, ендогенної інтоксикації при ряді захворювань та оцінки ступеня ниркової недостатності.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти провести розділення білків на фракції методом висолювання.
- Розуміти молекулярно-біохімічні механізми змін вмісту в плазмі крові секреторних та тканинних ферментів.
- Знати основні азотовмісні небілкові сполуки, їх метаболічне походження.
- Оволодіти спектрофотометричним методом визначення середніх молекул.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Знати діагностичне значення зростання в крові вмісту білків „гострої фази” запальних процесів.
- Вміти визначити залишковий азот крові.
- Вміти давати оцінку отриманим результатам і використати їх у клініко - діагностичних цілях.

Базові знання

Дисципліна: біологія, біоорганічна, біологічна хімії

Отримані навички: знати основні білки плазми крові, походження ензимів крові, компоненти залишкового азоту.

Теоретичні питання

1. Основні групи білків плазми крові, їх склад та вміст в нормі і при патології. Фактори, що впливають на вміст білків у плазмі крові: гіпер-, гіпо-, диспротеїнемії. Парапротеїнемії. Навести приклади.
2. Альбуміни і глобуліни. Суть методу електрофорезу білків плазми крові. Електрофореграми при різних захворюваннях.

3. Глікопротеїни крові, їх будова, біологічна роль, зміна складу при захворюваннях.
4. Білки гострої фази запалення: С-реактивний білок, церулоплазмін, гаптоглобін, кріоглобулін, α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулін, інтерферон, фібронектин. Їх діагностичне значення.
5. Ферменти плазми крові: власні (секреторні), екскреторні та індикаторні (тканинні) ферменти. Їх клініко-діагностичне значення.
6. Калікреїн-кінінова та ренін-ангіотензинова системи, їх біологічна роль в нормі і при патології.
7. Діагностичне значення дослідження активності ферментів та ізоферментів плазми крові: креатинфосфокінази, ЛДГ, АсАТ, АлАТ, амілази, ліпази, холінестерази сироватки крові.
8. Поняття про загальний і залишковий азот крові. Небілкові азотвмісні компоненти крові. Діагностичне значення їх визначення.
9. Безазотисті органічні та неорганічні сполуки крові, їх метаболічне походження. Молекули середньої маси (середні молекули), їх метаболічне походження. Клініко-діагностичне значення їх визначення.
10. Азотемія, її види та причини виникнення, диференціювання їх в клініці.

Практична робота

Дослід 1. Визначення залишкового азоту крові (метод Боданського).

Принцип методу. Залишковий азот крові визначають у безбілковому фільтраті після осадження білків крові; безбілковий фільтрат мінералізують концентрованою сульфатною кислотою. При цьому азот всіх азотвмісних сполук у вигляді аміаку зв'язується з сульфатною кислотою і утворює амонію сульфат, який з реактивом Несслера утворює сполуку жовто-оранжевого кольору. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації азоту.

Матеріальне забезпечення: кров, 10 % розчин трихлорацетатної кислоти, сульфатна кислота концентрована, гідрогену пероксид концентрований, 12,5 М розчин натрію гідроксиду, реактив Несслера, стандартний розчин (1 мл розчину амонію сульфату містить 0,05 мг азоту), лакмусовий папір, мікропіпетки, ФЕК, термостійкі пробірки.

Хід роботи:

1. Отримання безбілкового фільтрату.

У центрифужну пробірку наливають 2,8 мл 10 % розчину трихлорацетатної кислоти і 0,2 мл крові. Суміш ретельно перемішують, залишають на 15 хв і центрифугують.

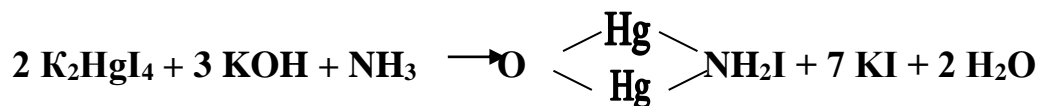
2. Мінералізація.

У пробірку з тугоплавкого скла вносять 0,5 мл центрифугату, добавляють 0,05 мл концентрованої сульфатної кислоти. Спалювання здійснюють на пісочній бані. При спалюванні пробірка повинна торкатися тільки верхнього шару піску. Спочатку випаровується вода – досліджувана рідина буріє. Пробірку знімають з бані, дають їй охолонути, добавляють у пробірку 2 краплі гідрогену пероксиду концентрованого і знову ставлять для спалювання до

знебарвлювання рідини. Слід перевірити колір рідини у пробірці після її охолодження, оскільки часто рідина, яка здається безбарвною у гарячому стані, при охолодженні темнішає.

Після охолодження мінераліза́т розводять дистильованою водою і нейтралізують до слабколужної реакції.

Кольорова реакція (несслеризація). У пробірку відбирають 4 мл досліджуваного розчину і додають 0,5 мл реактиву Несслера (K_2HgI_4), внаслідок чого вміст пробірки забарвлюється у жовтий колір різної інтенсивності залежно від вмісту азоту:



комплексна сполука

Одночасно з дослідною пробою обробляють стандартну пробу і контрольну (замість стандартного розчину амонію сульфату додають воду) проби. Дослідну і стандартну проби спектрофотометрують порівняно з контролем на реактиви при довжині хвилі 440 – 450 нм (фіолетовий світлофільтр) у кюветі товщиною 0,5 см.

Контрольні проби повинні мати легкий жовтуватий відтінок. Більш насичений колір контролю свідчить про наявність у дистильованій воді азоту (аміаку).

Розрахунок проводять за формулою:

$$C_d = C_{ст} * (A_d/A_{ст}) = 21,42 A_d/A_{ст},$$

де C_d – концентрація залишкового азоту в досліді, ммоль/л;

A_d – екстинкція дослідної проби;

$C_{ст}$ – концентрація залишкового азоту в стандарті ($C_{ст} = 21,4$ ммоль/л);

$A_{ст}$ – екстинкція стандартної проби.

Вміст залишкового азоту в нормі в крові становить 14,3 – 25 ммоль/л, (20 – 35 мг %). Коефіцієнт перерахунку з мг/100 мл у ммоль/л – 0,714.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Визначення небілкового азоту і його окремих компонентів проводиться з метою: діагностики порушень видільної функції нирок та оцінки ступеня ниркової недостатності; оцінки сечовиноутворюючої функції печінки і виявлення печінкової недостатності; оцінки кількісних змін середніх молекул, які накопичуються в організмі при різних захворюваннях, що супроводжуються ендогенними інтоксикаціями.

Для початкових стадій деяких захворювань характерно не стільки підвищення залишкового азоту крові взагалі, скільки зміни у кількісному вмісті компонентів залишкового азоту, співвідношенням між ними та загальним азотом.

Ретенційна (ниркова) азотемія зустрічається при гломерулонефритах, пієлонефриті, туберкульозі та амілоїдозі нирок. Позаниркові ретенційні азотемії зумовлені порушенням гемодинаміки і, відповідно, зниженням клубочкової

фільтрації. Вони виникають у результаті серцево-судинної декомпенсації, при локальному порушенні кровообігу в ниркових артеріях. Продукційна азотемія спостерігається при кахексії, лейкозах, новоутвореннях, кишковій непрохідності, лікуванні глюкокортикоїдами. Азотемія зустрічається у недоношених дітей.

Зменшення вмісту залишкового азоту спостерігається при недостатньому харчуванні, зокрема білковому, тяжкій печінковій недостатності, некрозі печінки, іноді при вагітності.

Дослід 2. Визначення рівня середніх молекул (СМ).

Рівень середніх молекул у сироватці крові визначають методами гель-хроматографії на сефадексі, високовольтного електрофорезу, іонообмінної хроматографії і спектрофотометрії.

Спектрофотометричний метод належить до експрес-методів.

Принцип методу. Полягає у вимірюванні на спектрофотометрі при $\lambda=254$ і $\lambda=280$ нм оптичної густини сироватки крові, звільненої від високомолекулярних білків, ліпідів. Визначають дві фракції середніх молекул (СМ): ті, що містять ароматичні амінокислоти (виявляють при $\lambda=280$ нм), і ті, що не містять ароматичних амінокислот (виявляють при $\lambda=254$ нм).

Матеріальне забезпечення: сироватка крові, 10 % розчин трихлорацетатної кислоти, 10 % розчин натрію гідроксиду, мікропіпетки, піпетки, спектрофотометр.

Хід роботи: У центрифужну пробірку вміщують 1 мл сироватки крові, додають 0,5 мл 10 % розчину трихлорацетатної кислоти. Після перемішування проводять осадження білків на центрифугі при 3000 об/хв протягом 30 хв. До 0,5 мл центрифугату додають 4,5 мл дистильованої води, перемішують, вимірюють оптичну густину на СФ при $\lambda=254$ нм і 280 нм у кюветі з товщиною шару 1 см порівняно з контролем (контроль: 0,25 мл 10 % розчину трихлорацетатної кислоти змішують з 4,75 мл дистильованої води).

Рівень середніх молекул виражають у одиницях, що кількісно дорівнюють показникам екстинкції. Нормальним рівнем СМ у сироватці крові можна вважати значення до 0,246 ум.од. при $\lambda=254$ і до 0,296 ум.од. при $\lambda=280$.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

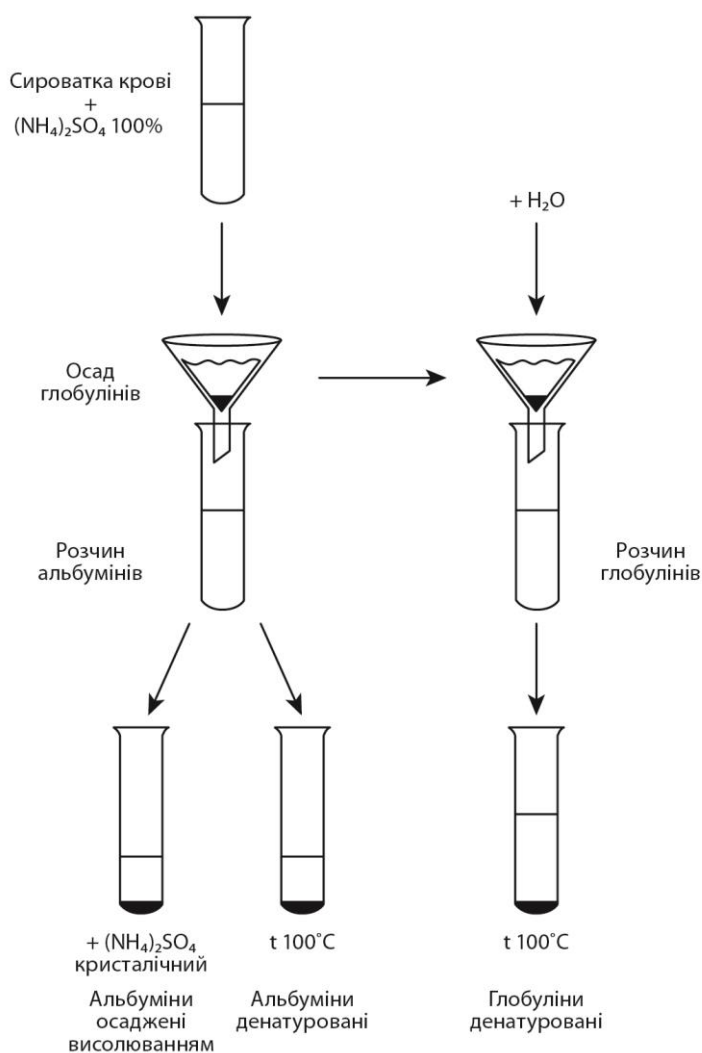
Клініко-діагностичне значення. Рівень СМ у сироватці крові хворих є одним з критеріїв клінічного перебігу і оцінки ефективності лікування цілого ряду захворювань. Кількість їх у крові значно збільшується при таких патологічних станах, як опікові хвороби, недостатність функції печінки і нирок, запальні процеси, ендогенна інтоксикація, злоякісні утворення тощо. Проведення ряду детоксикаційних заходів (гемодіаліз, гемосорбція тощо) впливає на рівень СМ, тому визначення їх рівня в динаміці захворювань і лікуванні необхідно використовувати тільки з метою оцінки ступеня тяжкості патології та ефективності лікувальних заходів, а не з метою діагностичного тесту.

Фракціонування білків плазми крові методом висолювання: визначення альбумінів і глобулінів плазми крові.

Білки можна виділити з розчинів у вигляді осадів. Існує багато різних способів осадження білків. Осадження білків концентрованими розчинами нейтральних солей (амонію сульфату, натрію хлориду тощо) називають висолюванням. Більшість реакцій висолювання, а також реакції зі спиртом, ацетоном є зворотними.

Якщо до розчинів білків додавати солі лужних і лужноземельних металів, то їх іони адсорбуються молекулами білків, знімають з них електричні заряди і перетворюють їх на електронейтральні. Надалі колоїдні частки укрупнюються, що зумовлює утворення осаду. Реакцію висолювання зумовлює дегідратація молекул білка з одночасною нейтралізацією електричних зарядів. Процес висолювання білків є оборотною реакцією, оскільки осад білка можна знову розчинити шляхом розведення його водою або зменшення концентрації солей діалізом. Для висолювання білків потрібна різна концентрація солей. Це дає змогу отримати різні білкові фракції.

Білки осаджують за різних концентрацій солей. Деякі з них випадають в осад вже за концентрації амонію сульфату приблизно до 1/10 від насичення, глобуліни – за напівнасичення, альбуміни – за повного насичення.



Фракціонування білків методом висолювання використовують у клінічній практиці для одержання нативних білків з біологічних рідин, для добування білків, що мають кристалічний вигляд, виділення препаратів ферментів і гормонів.

Осадження білків застосовується при виділенні їх з тканин, розділенні суміші білків, для виявлення у різних біологічних рідинах. Методом висолювання виділяють три фракції білків плазми крові: альбуміни, глобуліни, фібриноген. В нормі вміст альбумінів крові становить 40 – 45 г/л, глобулінів – 20 – 30 г/л.

Схема розділення альбумінів та глобулінів крові шляхом висолювання амонію сульфатом

При різних захворюваннях печінки (цирози, гепатити), при нефрозах, хронічних захворюваннях шлунка, новоутвореннях травного тракту концентрація альбумінів крові знижується. При гострих інфекційних захворюваннях, ревматизмі зростає концентрація α_2 -глобулінів. Концентрація β – глобулінів зростає при гепатитах, мієломній хворобі, а γ – глобулінів – при хронічних процесах, хронічних поліартритах.

Для розділення альбумінів і глобулінів у пробірку вливають 2 – 3 мл сироватки крові, додають рівний об'єм насиченого розчину амонію сульфату, перемішують. В осад випадають глобуліни (50 % насичення розчину), які мають відносно велику молекулярну масу і невеликий заряд. Осад відфільтровують. До осаду на фільтрі додають невелику кількість води, в отриманому розчині містяться глобуліни, наявність яких виявляють шляхом кип'ятіння, спостерігають утворення осаду. Фільтрат з розчином альбумінів розливають у дві пробірки.

У першу пробірку додають кристалічний амоній сульфат до повного насичення (100 % насичення розчину). В осад випадають альбуміни. Вміст другої пробірки кип'ятять, спостерігають утворення осаду альбумінів.

Під час денатурації відбувається руйнування нативної просторової структури білкової молекули, що проявляється зменшенням або повною втратою їх розчинності, зміною хімічних властивостей білків, втратою специфічної біологічної активності. У практичній діяльності використовують в'язучі речовини (танін, танальбін, протаргол тощо), які денатурують поверхневий шар білків слизової травного тракту з утворенням плівки коагульованого білка. Остання покриває слизову і таким чином зменшує її механічне та хімічне подразнення.

Явище денатурації білків широко використовують у промисловості (при випіканні хліба, дубінні шкіри тощо).

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Клініко-діагностичне значення визначення альбумінів і глобулінів крові.
2. Принцип методу визначення залишкового азоту крові. Клініко-діагностичне значення його визначення.
3. При гепатиті, інфаркті міокарда в плазмі крові різко зростає активність аланін- і аспартатамінотрансфераз. Які причини зростання активності цих ферментів?
4. При аналізі крові хворого визначені залишковий азот і сечовина. Частка сечовини в залишковому азоті значно зменшена. Для захворювання якого органа характерний даний аналіз?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №11

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Основні групи білків плазми крові, їх склад та вміст в нормі і при патології. Фактори, що впливають на вміст білків у плазмі крові: гіпер-, гіпо-, диспротеїнемії. Парапротеїнемії. Навести приклади.
 - 1.1. Охарактеризувати альбуміни, глобуліни та фібриноген крові.
 - 1.2. Дати визначення ключовим словам:
 - Гіперпротеїнемія - це... Причиною може бути... Приклади..*
 - Гіпопротеїнемія – це... Причиною може бути... Приклади..*
 - Диспротеїнемія - це... Причиною може бути... Приклади..*
 - Парапротеїнемія – це... Причиною може бути... Приклади..*
2. Альбуміни і глобуліни. Суть методу електрофорезу білків плазми крові. Електрофореграми при різних захворюваннях.
 - 2.1. Пояснити принцип розділення білків крові методом електрофорезу
 - 2.2. Зобразити електрофореграму білків крові в нормі та позначити напрямок змін окремих груп білків при різних захворюваннях
3. Глікопротеїни крові, їх будова, біологічна роль, зміна складу при захворюваннях.
 - 3.1. Дати визначення
 - Глікопротеїни – це...*
 - 3.2. Назвати вуглеводи які входять до складу глікопротеїнів
 - 3.3. Назвати зв'язки якими вуглеводи приєднані до білкової частини
 - 3.4. Назвати групи білків, які відносяться до глікопротеїнів
 - 3.5. Описати зміни складу глікопротеїнів крові при різних захворюваннях
4. Білки гострої фази запалення: С-реактивний білок, церулоплазмін, гаптоглобін, кріоглобулін, α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулін, інтерферон, фібронектин. Їх діагностичне значення.
 - 4.1. Дати визначення
 - Білки гострої фази – це...*
 - 4.2. Дати характеристику наступним білкам крові: С-реактивний білок, церулоплазмін, гаптоглобін, кріоглобулін, α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулін, інтерферон, фібронектин. Вказати їх діагностичне значення.
5. Ферменти плазми крові: власні (секреторні), екскреторні та індикаторні (тканинні) ферменти. Їх клініко-діагностичне значення.
 - 5.1. Заповнити таблицю

Ферменти плазми крові	Приклади	Місце їх синтезу	Напрямок змін (збільшення або зменшення щодо норми)	Патології, при яких спостерігаються зміни
власні (секреторні)	-		↓	
екскреторні	-		↑	

	-			
індикаторні (тканинні)	- - -		↑	

6. Калікреїн-кінінова та ренін-ангіотензинова системи, їх біологічна роль в нормі і при патології.

6.1. Представити схему калікреїн-кінінової системи крові. Вказати біологічну роль кінінів в нормі та при патології. Пояснити принцип лікувальної дії інгібіторів кініноутворення.

6.2. Представити схему ренін-ангіотензинової системи крові. Вказати біологічну роль ангіотензину II в нормі та при патології. Пояснити принцип лікувальної дії інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ).

7. Діагностичне значення дослідження активності ферментів та ізоферментів плазми крові: креатинфосфокінази, ЛДГ, АсАТ, АлАТ, амілази, ліпази, холінестерази сироватки крові.

7.1. Заповнити таблицю

Ферменти, ізоферменти	Характер змін	Причини змін	Патології, при яких спостерігаються зміни активності ферментів
Креатинфосфокінази ММ ВВ МВ			
Лактатдегідрогенази ЛДГ1 ЛДГ2 ЛДГ3 ЛДГ4 ЛДГ5			
АсАТ			
АлАТ			
альфа-амілаза			
Ліпаза панкреатична			
Холінестераза сироваткова			

8. Поняття про загальний і залишковий азот крові. Небілкові азотвмісні компоненти крові. Діагностичне значення їх визначення.

8.1. Дати визначення

Загальний азот крові - це...

Залишковий азот крові – це...

Резидуальний азот крові – це...

8.2. Заповнити таблицю

Компоненти залишкового азоту крові	Норма у крові	Клініко-діагностичне значення

8.3. Пояснити клініко-діагностичне значення коефіцієнта:

Азот сечовини/залишковий азот × 100%

9. Безазотисті органічні та неорганічні сполуки крові, їх метаболічне походження. Молекули середньої маси (середні молекули), їх метаболічне походження. Клініко-діагностичне значення їх визначення.

9.1. Заповнити таблицю

Безазотисті органічні та неорганічні сполуки крові	Їх метаболічне походження	Клініко-діагностичне значення їх визначення.
Вуглеводи - - -		
Ліпіди - -		
Органічні кислоти - -		
Вітаміни - -		
Гормони - -		
Неорганічні сполуки - -		

9.2. Дати визначення

Молекули середньої маси – це... До них належать... Клініко-діагностичне значення їх визначення...

10. Азотемія, її види та причини виникнення, диференціювання їх в клініці.

10.1. Дати визначення

Азотемія – це...

10.2. Заповнити таблицю

Тип азотемії	Причини азотемії	Які компоненти крові збільшуються
Відносна		
Абсолютна продукційна		
Абсолютна ретенційна		
Ретенційна ниркова		
Ретенційна позаниркова		

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 11

1. Вміст альбумінів у плазмі крові – 15 г/л. Як називається такий стан та які його наслідки для організму?
2. У хворих з постійною протеїнурією можуть з'явитися набряки. Пояснити причину такого стану.
3. Дитина переохворіла на інфекційне захворювання. Які зміни в білкових фракціях сироватки крові можна при цьому очікувати?
4. Як за вмістом залишкового азоту крові та загального азоту сечі диференціювати ретенційну і продукційну азотемії?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Біохімічний аналіз сироватки крові пацієнта з гепатолентикулярною дегенерацією (хвороба Вільсона-Коновалова) виявив зниження вмісту церулоплазміну. Концентрація яких іонів буде підвищена в сироватці крові цього пацієнта?	А. *Мідь В. Кальцій С. Фосфор Д. Калій Е. Натрій	
2.	У сироватці крові пацієнта встановлено підвищення активності гіалуронідази. Визначення якого біохімічного показника сироватки крові дозволить підтвердити припущення про	А. *Сіалові кислоти В. Білірубін С. Сечова кислота Д. Глюкоза Е. Галактоза	

	патологію сполучної тканини?		
3.	Хвора 46-ти років довгий час страждає прогресуючою м'язовою дистрофією (Дюшена). Зміни рівня якого ферменту крові є діагностичним тестом в даному випадку?	А. *Креатинфосфокінази В. Лактатдегідрогенази С. Піруватдегідрогенази Д. Глутаматдегідрогенази Е. Аденилаткінази	
4.	В основі ліполізу (мобілізації жирних кислот (з жирових депо) лежить ферментативний процес гідролізу жиру до жирних кислот та гліцерину. Утворені жирні кислоти надходять в кров і транспортуються в складі:	А. *Альбумінів В. Глобулінів С. ЛПВЩ(ліпопротеїнів високої щільності) Д. ЛПНЩ (ліпопротеїнів низької щільності) Е. Хіломікронів	
5.	При гострих запальних процесах в плазмі крові з'являється "білок гострої фази", визначення якого має діагностичне значення. Який це білок?	А. *С-реактивний білок В. Альбумін С. Міоглобін Д. Гемоглобін Е. Карбгемоглобін	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Оцінка показників азотистого обміну та зміни вмісту азотовмісних небілкових компонентів крові.

План

1. Поняття про азотистий обмін та азотистий баланс.
2. Клініко-діагностичне значення визначення вмісту сечовини, азоту амінокислот, сечової кислоти, креатину, креатиніну та аміаку в сироватці крові.
3. Біохімічна основа методів визначення вмісту сечовини, азоту амінокислот, сечової кислоти, креатину, креатиніну та аміаку в сироватці крові.

Рекомендована література:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 399 – 413.

2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 502 - 512.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 736 с.
4. Гонський Я. І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
5. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - 465 -474 с.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 348-373.
7. Клінічна біохімія / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 48-49, 98-105.
8. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярів. – К.: Здоров'я, 2002. – 297 с.
9. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
10. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H. Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
11. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 487-501.
12. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Бишевський А.Ш., Терсенов О.А., Біохімія для лікаря. – Київ, Укр. центр духовної культури, 2001. – 395 с.
2. Камышников В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили / МЕДпрессинформ – Москва, 2005. – 320 с.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 319 – 331.

Тема № 12. Дослідження згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові. Дослідження біохімічних закономірностей реалізації імунних процесів. Імунодефіцитні стани.

Мета заняття: Знати роль компонентів згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем в підтриманні агрегатного стану крові. Давати характеристику біохімічним компонентам імунної системи, знати біохімічні механізми виникнення імунодефіцитних станів.

Актуальність теми: Згортання крові є складним фізіологічно-біохімічним процесом, захисною реакцією організму на крововтрату. Знання біохімічної характеристики згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові є необхідними для розуміння механізмів підтримання агрегатного стану крові за

умов норми та при численних захворюваннях, а також для їх своєчасної корекції фармпрепаратами.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Тракувати біохімічні механізми функціонування згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові.
- Знати роль компонентів згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові в патохімії синдрому дисемінованого внутрішньо судинного зсідання крові, атеросклерозу та гіпертонічної хвороби.
- Характеризувати клітинні та біохімічні компоненти імунної системи.
- Пояснювати механізми виникнення імунодефіцитних станів.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти пояснювати причини вроджених порушень згортання крові

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна та біологічна хімії

Отримані навички: будова глутамінової кислоти, будова вітаміну К

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика системи гемостазу в організмі людини: судинно-тромбоцитарний і коагуляційний гемостаз.
2. Згортальна система крові; характеристика компонентів (факторів) згортання. Механізми активації та функціонування каскадної системи згортання крові; внутрішній та зовнішній шляхи коагуляції.
3. Роль вітаміну К у реакціях коагуляції (карбоксилювання глутамінової кислоти, роль у зв'язуванні іонів кальцію). Лікарські засоби – агоністи та антагоністи вітаміну К.
4. Спадкові та набуті порушення судинно-тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу.
5. Антизгортальна система крові, характеристика антикоагулянтів.
6. Фібринолітична система крові: етапи та компоненти фібринолізу. Лікарські засоби, що впливають на процеси фібринолізу. Активатори плазміногену та інгібітори плазміну.
7. Синдром дисемінованого внутрішньо судинного зсідання крові. Зсідання крові, тромбоутворення і фібриноліз при атеросклерозі та гіпертонічній хворобі.
8. Імуноглобуліни: структура, біологічні функції, механізми регуляції синтезу імуноглобулінів. Біохімічні характеристики окремих класів імуноглобулінів людини.
9. Медіатори та гормони імунної системи: інтерлейкіни, інтерферони, білково-пептидні фактори регуляції росту та проліферації клітин.
10. Біохімічні компоненти системи комплементу людини; класичний та альтернативний (пропердиновий) механізми активації.
11. Біохімічні механізми імунодефіцитних станів: первинні (спадкові) та вторинні імунодефіцити.

Практична робота

Дослід 1. Реакція з цистеїном на вікасол.

Принцип методу. Розчин вікасолу в лужному середовищі за присутності цистеїну забарвлюється в лимонно-жовтий колір.

Матеріальне забезпечення: 0,05 % розчин вікасолу, 0,025 % розчин цистеїну (зберігають у холодильнику), 20 % розчин їдкого натру, пробірки, піпетки.

Хід роботи. У пробірку наливають 5 – 10 крапель 0,05 % спиртового розчину вікасолу, додають 5 – 10 крапель 0,025 % розчину цистеїну та 2,5 мл розчину їдкого натру. Спостерігають утворення лимонно-жовтого кольору.

Зробити висновок. Пояснити отриманий результат.

Клініко-діагностичне значення. Основною активною формою вітаміну К є менахіон МК-4, що утворюється з нафтохінонів рослинного і бактеріального походження в тканинах.

Найбільш вивчена функція вітаміну К – його зв'язок з процесом згортання крові. Він необхідний для синтезу в печінці білкових чинників коагуляції: протромбіну (чинник II), проконвертину (чинник VII), чинника Крістмаса (IX), чинника Стюарта (X). Вітамін К сприяє включенню додаткових карбоксильних груп у залишки глутамату попередників протромбіну. Таким чином завершується синтез “повної” молекули протромбіну, тобто її посттрансляційна модифікація. Приєднання додаткових груп $-COO^-$ необхідне для оптимального зв'язування Ca^{2+} , що активує перетворення протромбіну в тромбін.

Його роль у цьому процесі зводиться або до транспорту HCO_3^- -іонів, що включаються в γ -положення залишку глутамінової кислоти, або до активації водню γ -вуглецевого атому глутамінової кислоти, або до активації одного з ензимів реакції карбоксилювання.

Сучасні дані дозволяють вважати, що вітамін К, подібно до інших жиророзчинних вітамінів, впливає на стан мембран клітин і субцелюлярних структур, будучи складовою частиною ліпопротеїнів цих мембран.

Добова потреба для дорослої людини 1 – 2 мг, концентрація в сироватці крові 400 – 600 нмоль/л.

Нестача даного вітаміну частіше розвивається як ендогенна, викликана порушенням утворення його в кишечнику (стерилізація кишечника сульфаніламідними препаратами або антибіотиками), або порушенням всмоктування (недостатня продукція жовчі або непрохідність жовчовивідних шляхів, захворювання печінки). До недостатності може призводити і застосування препаратів із властивостями антивітамінів К (наприклад, антикоагулянтів посередньої дії). Основні ознаки недостатності – кровотечі при невеликих пошкодженнях, коагулопатії у новонароджених (до появи мікрофлори в кишечнику).

Нафтохінони поступають в організм людини, головним чином, з їжею рослинного походження: шпинат, коренеплоди, фрукти, а також синтезуються бактеріями тонкої кишки. Вміст вітаміну К в продуктах харчування значно

перевищує мінімальні щоденні потреби і тому, недостатність цього вітаміну при нормальному живленні і фізіологічних умовах всмоктування ліпідів, явище рідкісне.

У медичній практиці використовуються препарати вітаміну К і його синтетичний водорозчинний аналог – вікасол. Призначають їх при патологічних станах, що супроводжуються гіпопротромбінемією і кровотечами.

Дослід № 2. Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Принцип методу. Метод ґрунтується на преципітації великоглобулярних імунних комплексів, які циркулюють у крові, високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з подальшим обліком результатів прямим спектрофотометруванням при довжині хвилі $\lambda = 450$ нм.

Матеріальне забезпечення: сироватка крові, 0,1 М боратний буфер (рН = 8,4), 4 % розчин поліетиленгліколю-6 000, спектрофотометр, пробірки.

Хід роботи. У контрольну пробірку вносять 2,7 мл 0,1 М боратного буферу (рН 8,4) і 0,3 мл розведеної в три рази боратним буфером сироватки крові; у дослідну – 0,3 мл розведеної сироватки та 2,7 мл 4 % розчину поліетиленгліколю-6 000. Обидві пробірки витримують 1 год при кімнатній температурі, вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі $\lambda = 450$ нм. Отриманий показник оптичної густини множать на тисячу і виражають в умовних одиницях.

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Визначення циркулюючих імунних комплексів є важливим тестом для дослідження ступеня тяжкості та активності патологічного процесу. У нормі їх рівень коливається в межах 30 – 100 ум.од. Розміри ЦІК впливають на їх імунобіологічну активність і роль у патогенезі захворювань. ЦІК великих і середніх розмірів є найбільш патогенними, оскільки можуть взаємодіяти з системою комплементу, згортальною, калікреїн-кініновою й іншими регуляторними системами організму та чинити цитопатогенний вплив на клітинні мембрани.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. У новонародженої дитини з'явилися симптоми геморагічної хвороби у зв'язку з гіповітамінозом К. Розвиток захворювання зумовлений особливою біологічною роллю вітаміну К. Якою?
2. У якості антикоагулянтів використовують різноманітні речовини. Поясніть механізм дії гепарину.
3. Пацієнтові необхідно провести екстирпацію кількох зубів. У коагулограмі – зниження показників згортальної системи крові. Стоматолог призначив синтетичний аналог антигеморагічного вітаміну. Який синтетичний аналог використовують у медичній практиці?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №12

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Загальна характеристика системи гемостазу в організмі людини: судинно-тромбоцитарний і коагуляційний гемостаз.

1.1. Дати визначення поняттям:

коагуляція – це...

судинно-тромбоцитарний гемостаз – це...

коагуляційний гемостаз – це...

1.2. Описати або схематично відобразити етапи судинно-тромбоцитарного гемостазу

1.3. Охарактеризувати та вказати роль у формуванні «білого тромба»:

- рецепторів мембран тромбоцитів,

- фактора Віллебранда,

- колагену.

1.4. Схематично відобразити етапи синтезу тромбоксану A_2 та простацикліну. Вказати їх роль у формуванні тромба.

1.5. Схематично відобразити етапи коагуляційного гемостазу.

2. Згортальна система крові; характеристика компонентів (факторів) згортання. Механізми активації та функціонування каскадної системи згортання крові; внутрішній та зовнішній шляхи коагуляції.

2.1. Охарактеризувати фактори згортання крові за схемою:

- номер,

- назва,

- природа,

- функція.

2.2. Схематично відобразити зовнішній і внутрішній шляхи активації протромбінази, утворення тромбіну та фібрину.

2.3. Описати та схематично зобразити будову фібриногену і пояснити механізм його перетворення на фібрин.

3. Роль вітаміну К у реакціях коагуляції (карбоксилювання глутамінової кислоти, роль у зв'язуванні іонів кальцію). Лікарські засоби – агоністи та антагоністи вітаміну К.

3.1. Назвати вітамін К-залежні фактори згортання крові.

3.2. Написати реакції утворення:

- гама-карбоксиглутамінової кислоти,

- гама-карбоксиглутамату кальцію.

3.3. Назвати патології, пов'язані з дефектами утворення вітамін К-залежних факторів згортання крові, вказати їх основні клінічні прояви.

3.4. Назвати лікарські препарати – агоністи вітаміну К, описати їх механізм дії і причини застосування.

3.5. Назвати лікарські препарати – антагоністи вітаміну К, описати їх механізм дії і причини застосування.

4. Спадкові та набуті порушення судинно-тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу.

4.1. Охарактеризувати спадкові порушення судинно-тромбоцитарного гемостазу за схемою:

- назва синдрому,
- причина виникнення,
- який процес порушується.

4.2. Пояснити причини виникнення набутих тромбоцитопатій, пов'язаних з порушенням реакцій вивільнення, назвати фармпрепарати, що спричиняють дані патології.

4.3. Назвати причини виникнення та основні прояви порушень коагуляційного гемостазу:

- гемофілії,
- афібриногенемії,
- дисфібриногенемії,
- тромбофілії.

5. Антизгортальна система крові, характеристика антикоагулянтів.

5.1. Дати характеристику первинним антикоагулянтам: антитромбіну III, гепарину, протеїну C, α_2 -макрोगлобуліну, α_1 -антитрипсину.

5.2. Назвати вторинні антикоагулянти.

5.3. Назвати патологічні антикоагулянти

6. Фібринолітична система крові: етапи та компоненти фібринолізу. Лікарські засоби, що впливають на процеси фібринолізу. Активатори плазміногену та інгібітори плазміну.

6.1. Дати визначення поняттю «фібриноліз».

6.2. Описати зовнішній і внутрішній механізми активації фібринолізу.

6.3. Схематично відобразити етапи фібринолізу.

6.4. Описати механізм дії фібринолізину, урокінази, тканинного активатора плазміногену, назвати покази для їх застосування.

7. Синдром дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові.

7.1. Охарактеризувати синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові за схемою:

- причини виникнення,
- механізм утворення РФМК,
- етапи розвитку (фаза гіперкоагуляції, фаза гіпокоагуляції).

8. Імуноглобуліни: структура, біологічні функції, механізми регуляції синтезу імуноглобулінів. Біохімічна характеристика окремих класів імуноглобулінів людини.

8.1. Дати визначення поняттям:

іmunна система – це...

антигени – це...

антитіла – це...

8.2. Схематично зобразити і пояснити структуру імуноглобуліна

8.3. Дати визначення поняттю «імуноглобуліни», охарактеризувати п'ять класів імуноглобулінів

8.4. Описати механізми регуляції синтезу імуноглобулінів.

Дати визначення поняттям:

інтерлейкіни – це...

інтерферони – це...

колонієстимулюючі фактори (КСФ) – це...

трансформуючі фактори росту (ТФР) – це...

9. Медіатори та гормони імунної системи: інтерлейкіни, інтерферони, білково-пептидні фактори регуляції росту та проліферації клітин.

9.1. У вигляді таблиці дати характеристику основних представників цитокінів за схемою:

- назва,
- місце синтезу,
- біологічна дія.

10. Біохімічні компоненти системи комплементу людини; класичний та альтернативний (пропердиновий) механізми активації.

10.1. Дати визначення поняттю:

система комплементу – це...

10.2. Назвати основні білки комплементу, пояснити систему їх позначень.

10.3. Відобразити схематично та описати класичний, альтернативний та пектиновий шляхи активації системи комплементу.

11. Біохімічні механізми імунодефіцитних станів: первинні (спадкові) та вторинні імунодефіцити.

11.1. Дати визначення поняттям:

первинні імунодефіцитні стани – це...

вторинні імунодефіцитні стани – це...

11.2. Назвати основні класи первинних імунодефіцитів і їх патохімічні прояви.

11.3. Описати патохімічний механізм виникнення набутого синдрому імунодефіциту людини.

11.4. Назвати та коротко охарактеризувати тести для виявлення ВІЛ-інфікованих.

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 12

1. У пацієнта виявлено схильність до рецидивуючих тромбозів. Які дослідження варто провести для виявлення причини цього захворювання?
2. У дитини 12 років спостерігається підвищення температури до 39 °С, больові відчуття в області горла під час ковтання, збільшення піднижньощелепних лімфатичних вузлів. Педіатр встановив діагноз – гострий тонзиліт. Які, на вашу думку, цитокіни беруть участь у протидії запальному процесу, що відбувається?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	У 6-ти місячної дитини спостерігались часті та сильні підшкірні кровотечі. Призначення синтетичного аналога вітаміну К (вікасолу) дало позитивний ефект. У гама-карбоксилуванні глутамінової кислоти якого з перерахованих нижче білків згортальної системи крові бере участь цей вітамін?	<p>A. *Протромбіну</p> <p>B. Фібриногену</p> <p>C. Фактора Хагемана</p> <p>D. Антигемофільного глобуліну А</p> <p>E. Фактора Розенталя</p>	
2.	У хворого після захворювання печінки виявлено знижений вміст протромбіну в крові. Це призведе, перш за все, до порушення:	<p>A. Першої фази коагуляційного гемостазу</p> <p>B. Судинно-тромбоцитарного гемостазу</p> <p>C. Фібринолізу</p> <p>D. Другої фази коагуляційного гемостазу</p> <p>E. Антикоагулянтних властивостей крові</p>	
3.	У пацієнта спостерігаються великі кровотечі навіть при несуттєвих пошкодженнях кровоносних судин. Йому встановлений діагноз – «гемофілія В», причиною якої є порушення синтезу фактора	<p>A. *Кристмаса</p> <p>B. Віллебранда</p> <p>C. Стюарта</p> <p>D. Розенталя</p> <p>E. Хагемана</p>	
4.	У дворічної дитини кишковий дисбактеріоз, на тлі якого з'явився геморагічний синдром. Найвірогіднішою причиною геморагій у цієї дитини є	<p>A. Нестача вітаміну К</p> <p>B. Гіпокальціємія</p> <p>C. Активація тромбопластину тканин</p> <p>D. Гіповітаміноз РР</p> <p>E. Дефіцит фібриногену</p>	
5.	Пацієнту після імплантації серцевого клапана систематично вводять непрямі антикоагулянти. Його стан ускладнився кровотечею. Зі зменшенням у крові якої сполуки це пов'язано?	<p>A. Протромбіну</p> <p>B. Гепарину</p> <p>C. Креатину</p> <p>D. Церулоплазміну</p> <p>E. Гаптоглобіну</p>	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. СНІД – молекулярний механізм виникнення, патохімічні зміни.

План:

1. Морфологія ВІЛ, критерії діагностики ВІЛ та СНІД, молекулярний механізм виникнення.
2. Лабораторна діагностика СНІДу і встановлення ВІЛ інфікованості.
3. Механізми порушення регуляції кровотворення та цитопенії при інфікуванні ВІЛ.

Рекомендована література:

1. Мікробіологія: Посібник у трьох частинах. Частина третя “Медична вірусологія” / Патратій В.К., Дейнека С.Є., Сокол А.М. та ін. – Чернівці: Медик, 2006. – 164 с
2. І. В. Євстигнєєв. Гематологічні прояви ВІЛ-інфекції. // Клінічна імунологія, алергологія, інсектологія. № 5-6 (34), 2010. –С. 40-44.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 414 – 435.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 518 - 545.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. – Т.: Укрмедкнига, 2002 – С. 288 – 290, 357 – 363, 397 – 403, 530 – 546, 574 – 584.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 474 -504.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 374-381.
6. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярова – К.: Медицина, 2007. – С. 61 – 65.
7. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 279 – 303, 347 – 371.
8. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я.Склярова. – К.: Здоров'я. – 2002. – С. 249 – 255.

Додаткова:

1. Виговська Я.І. Дисеміноване внутрішньосудинне зсідання крові. Український журнал гематології та трансфузіології. 2002, № 3, с. 60 – 65.
2. Галяутдинов Г.С., Корнилова Ю.Л. Антитромбин III: фізіологія и клиническоское значение. Гематология и трансфузиология, 2002, т. 47, № 6, С. 31 – 35.

3. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – Москва: Мир, 2000. – 470 с.
4. Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д. Посібник з лабораторної імунології. – Львів. – 2002. – 173 с.
5. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 319 – 331.
6. Северин Е.С. Биохимия: учебник. – 2-е изд., испр. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. – С 667 – 682.
7. Справочник по лабораторным методам исследования. Под ред. проф. Л.А. Даниловой. – М. – С.-Пб. – Нижний Новгород – Воронеж – Ростов-на-Дону – Екатеринбург – Самара – Киев – Харьков – Минск: – 2003. – 733 с.
8. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
10. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

РОЗДІЛ 10. БІОХІМІЯ ТКАНИН, ОРГАНІВ ТА ФІЗІОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

Тема № 13. Дослідження обміну кінцевих продуктів катаболізму гемму. Патобіохімія жовтяниць.

Мета заняття: Засвоїти біохімічні основи метаболізму гемму. Навчитися за біохімічними показниками крові та сечі проводити диференційну діагностику жовтяниць. Знати основні біохімічні функції печінки в обміні вуглеводів, ліпідів, простих і складних білків, у знешкодженні токсичних речовин.

Актуальність теми: У печінці відбувається метаболізм білірубину – продукту розпаду гемму. Порушення процесів метаболізму білірубину викликають захворювання жовтяниці, діагностика яких проводиться за біохімічними показниками крові та сечі. Печінка займає центральне місце в обміні речовин, підтримуючи гомеостаз внутрішнього середовища організму. З цим органом пов’язані найголовніші детоксикаційні реакції речовин ендогенного та екзогенного походження.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Тракувати біохімічні закономірності функцій печінки: вуглеводної, ліпідрегулюючої, білоксинтезуючої, сечовиноутворювальної, пігментної, жовчоутворювальної;
- Пояснювати біохімічні основи розвитку недостатності функцій печінки за умов хімічного, біологічного та радіаційного ураження;

- Вміти визначати білірубін у сироватці крові. Давати оцінку проведеним дослідженням і робити висновок.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Аналізувати диференційні зміни біохімічних показників крові та сечі (вільний та кон'югований білірубін) з метою оцінки патобіохімії жовтяниць;
- Пояснювати роль печінки в забезпеченні нормоглікемії (синтез і катаболізм глікогену, глюконеогенез) та при патологічних змінах – гіпо-, гіперглікемії, глюкозурії;

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна, біологічна хімії

Отримані навички: знати основні шляхи метаболізму білків, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, гормонів, вітамінів; будову гему IX.

Теоретичні питання

1. Гомеостатична роль печінки в обміні речовин цілісного організму. Біохімічні функції гепатоцитів. Роль печінки в обміні вуглеводів, ліпідів, білків, синтезі сечовини, обміні пігментів, синтезі жовчі. Біохімічний склад жовчі.
2. Порушення біохімічних процесів в печінці при окремих захворюваннях (цитолітичний, холестатичний та інші синдроми). Діагностика біохімічних синдромів.
3. Роль печінки в обміні жовчних пігментів. Хімізм реакцій розриву тетрапірольного кільця гему, розпаду вердоглобіну, перетворення білівердину на білірубін, утворення білірубіндиглюкуроніду. Катаболізм гемоглобіну до кінцевих продуктів.
4. Патобіохімія жовтяниць: гемолітична (передпечінкова), паренхіматозна (печінкова), обтураційна (післяпечінкова), їх діагностика. Фізіологічна жовтяниця новонароджених, способи її корекції.
5. Спадкові жовтяниці: синдром Криглера-Найяра (“кон'югаційна жовтяниця”), хвороба Жільбера (“абсобційна жовтяниця”), синдром Дабіна-Джонсона (“екскреційна жовтяниця”); їх причини і прояви.

Практична робота

Дослід 1. Визначення вмісту білірубіну в сироватці крові.

Принцип методу. Білірубін взаємодіє з діазореактивом з утворенням азобілірубіну рожевого кольору. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації білірубіну і може бути визначена фотометрично при зеленому світлофільтрі (довжина хвилі 530-560 нм). Кон'югований білірубін дає швидко (пряму) реакцію. Реакція некон'югованого білірубіну значно повільніша. Додаванням акселераторів (кофеїн та ін.) вільний білірубін можна перевести в розчинний стан і визначити кількість загального білірубіну. При використанні буферного розчину без акселераторів визначається кон'югований

білірубін, а при використанні буферного розчину з акселераторами – загальний білірубін. Кількість некон'югованого білірубину дорівнює різниці між кількістю загального і прямого білірубину.

Визначення вмісту білірубину рекомендують виконувати відразу ж після отримання проб, щоб попередити його окиснення на світлі; вплив прямого сонячного світла може бути причиною 50% зниження вмісту білірубину вже через одну годину. Проби повинні бути проаналізовані протягом 2 год з момента забору крові, якщо вони зберігаються при кімнатній температурі, і в темряві, або протягом 12 год при умові зберігання при температурі 2-8 °С в темряві. Гемоліз еритроцитів прямо пропорційно знижує показники кількості білірубину, який визначається у сироватці крові; виражена ліпемія обумовлює підвищені показники білірубину.

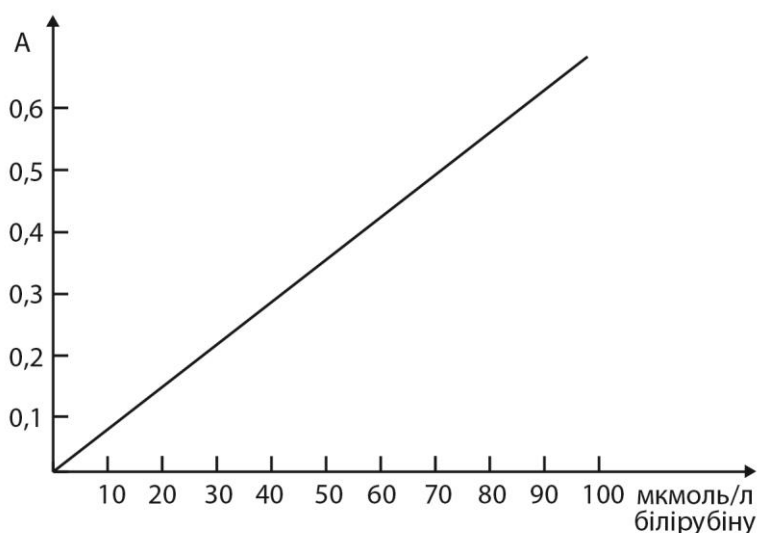
Матеріальне забезпечення: сироватка крові; реагент 1 без акселератора; реагент 1 з акселератором; реагент 2; пробірки; дистильована вода; піпетки; ФЕК.

Хід роботи:

Визначення проводять за схемою:

Реактиви	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
	Зв'язаний білірубін	Зв'язаний білірубін	Загальний білірубін	Загальний білірубін
Реагент 1 без акселератора	3 мл	3 мл	-	-
Реагент 1 з акселератором	-	-	3 мл	3 мл
Реагент 2	0,075 мл	0,075 мл	0,075 мл	0,075 мл
Сироватка крові	0,4 мл	-	0,4 мл	-
Вода дистильована	-	0,4 мл	-	0,4 мл

Суміші швидко перемішують і точно через 5 хв визначають оптичну густину при зеленому світлофільтрі (560 нм) проти контрольних проб з дистильованою водою. Кількість білірубину визначають за калібрувальною кривою.



Крива залежності оптичної густини розчину білірубину від його концентрації

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. У нормі вміст загального білірубину становить 1,7-20,5 мкмоль/л (0,1-1,2 мг/100 мл), некон'югованого – 1,7-17,1 мкмоль/л (0,1-1,0 мг/100 мл), кон'югованого 0,86-4,30 мкмоль/л (0,05-0,25 мг/100 мл). Токсична дія високих концентрацій білірубину крові проявляється ураженням центральної нервової системи, виникненням некротичних ділянок в паренхіматозних органах, пригніченням клітинного імунітету, розвитком анемії внаслідок гемолізу еритроцитів. Важливу роль в токсичній дії білірубину відіграє його фотосенсибілізуюча дія. Білірубін, як метаболіт протопорфірину, одного з найбільш активних фотосенсибілізаторів, здатний, використовуючи квантову енергію світла, переводити хімічно інертний молекулярний кисень у надзвичайно активну, синглетну форму. Синглетний кисень руйнує будь-які біологічні структури, окиснює ліпіди мембран, нуклеїнові кислоти, амінокислоти білків. У наслідок активації ним перекисного окиснення ліпідів і відщеплення глікопротеїнів, а також високомолекулярних пептидів мембран виникає гемоліз еритроцитів. Нагромадження в крові білірубину вище 27,4-34,2 мкмоль/л призводить до відкладання його в тканинах і появи жовтяниці. В залежності від причини жовтяниці може бути надпечінкова (гемолітична), печінкова (паренхіматозна), підпечінкова (обтураційна).

При гемолітичній жовтяниці печінка не встигає зв'язувати велику кількість вільного білірубину, що утворюється внаслідок підсиленого гемолізу еритроцитів. У результаті в плазмі крові спостерігається підвищений вміст білірубину (до 90-100 мкмоль/л) за рахунок вільного білірубину. Така форма жовтяниці спостерігається при гемолітичній, перніціозній анемії.

При паренхіматозній жовтяниці внаслідок пошкодження гепатоцитів знижується кон'югаційна здатність печінки, знижується синтез жовчі, кон'югований білірубін частково попадає назад у кров. Білірубінемія різного ступеня, яка при цьому спостерігається, розвивається за рахунок фракції як зв'язаного, так і вільного білірубину. Паренхіматозна жовтяниці виникає при жирових гепатозах (стеатозах), гепатитах (вірусних, токсичних), цирозах печінки.

При обтураційній жовтяниці внаслідок закупорки (камінцями, пухлиною) жовчних протоків жовч переповнює їх і попадає в русло крові. Білірубінемія, яка при цьому розвивається, характеризується значною вираженістю (до 170-700 мкмоль/л) в основному за рахунок фракції зв'язаного білірубину.

У новонароджених внаслідок стерильності кишки білірубін не перетворюється у похідні (метаболіти), але активно всмоктується у кров, зумовлюючи гіпербілірубінемію. Крім того, у новонароджених часто

спостерігається тимчасова понижена активність білірубінглюкуронілтрансферази, що є причиною жовтяниці новонароджених, яка характеризується високим вмістом у крові некон'югованого білірубіну.

Захворювання, що викликають зростання некон'югованого білірубіну: гемолітична анемія, перніціозна анемія, жовтяниця новонароджених, хвороба Жільбера, синдром Криглера-Найяра, синдром Ротора.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Поясніть принцип методу визначення вмісту білірубіну та його фракцій в сироватці крові колориметричним діазометодом.
2. Яка концентрація білірубіну в крові здорової людини? Клініко-діагностичне значення визначення фракцій білірубіну.

Інструктивно-методичні матеріали до теми №13

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Гомеостатична роль печінки в обміні речовин цілісного організму. Біохімічні функції гепатоцитів. Роль печінки в обміні вуглеводів, ліпідів, білків, синтезі сечовини, обміні пігментів, синтезі жовчі. Біохімічний склад жовчі.

1.1. Описати особливості морфологічної організації печінки

1.2. Пояснити причини центрального місця печінки в регуляції та інтеграції між органного обміну речовин.

1.3. Назвати біохімічні функції печінки і дати їм характеристику.

1.4. Пояснюючи роль печінки у вуглеводному обміні пояснити центральну роль глюкозо-6-фосфату у саморегуляції вуглеводного обміну. Пояснити алостеричну регуляцію вуглеводного обміну фруктозо-2,6-бифосфатом.

Додаткова література 1 (с.553-554).

1.5. Описати біохімічний склад печінкової і міхурової жовчі. Назвати фільтраційні і секреторні компоненти печінкової жовчі. Описати основні функції жовчі. Для підготовки питання використати додаткову літературу 1 (с.565-566).

2. Порушення біохімічних процесів в печінці при окремих захворюваннях (цитолітичний, холестатичний та інші синдроми). Біохімічна діагностика синдромів.

2.1. Дати визначення синдромів, які використовують для діагностики захворювань печінки, і вказати біохімічні показники, за якими їх оцінюють:

Цитолітичний синдром – це.... Біохімічні критерії – зростання у крові

...

Холестатичний синдром – це... Біохімічні критерії – зростання у крові...

Синдром печінково-клітинної недостатності – це.. Біохімічні критерії - ..

(Для відповіді на це питання використати матеріали посилань додаткової літератури 2 (с.233 – 239), 5).

3. Роль печінки в обміні жовчних пігментів. Хімізм реакцій розриву тетрапірольного кільця гему, розпаду вердоглобіну, перетворення білівердину на білірубін, утворення білірубіндиглюкуроніду. Катаболізм гемоглобіну до кінцевих продуктів.

3.1. Написати хімічні реакції розпаду гему до прямого білірубіну формулами і словами до кінцевих продуктів (стеркобілін, уробілін). Вказати локалізацію реакцій (ретикуло-ендотеліальна система, кров, гепатоцити, кишка); зазначити назви ензимів, метаболітів і колір останніх.

3.2. Дати визначення та пояснити назви:

Загальний білірубін крові – це...

Непрямий (некон'югований, вільний) білірубін – це..

Прямий (кон'югований, зв'язаний) білірубін – це...

3.3. Вказати норми загального, прямого і непрямих білірубінів у крові дорослих і немовлят. Пояснити причину розходження нормальних показників у дорослих і немовлят.

4. Патобіохімія жовтяниць: гемолітична (передпечінкова), паренхіматозна (печінкова), обтураційна (післяпечінкова), їх діагностика. Фізіологічна жовтяниця новонароджених, способи її корекції.

4.1. Пояснити причини виникнення жовтяниць. Вказати біохімічні показники крові та сечі, за якими проводять диференційну діагностику жовтяниць. Пояснити причини зміни кольору калових мас при різних видах жовтяниць.

4.2. Заповнити таблицю «Диференційна діагностика жовтяниць»

Вид жовтяниці	Надпечінкова	Печінкова	Підпечінкова
Причини			
Характер змін некон'югованого білірубіну крові			
Характер змін кон'югованого білірубіну крові			
Зміни кольору калових мас			
Характер змін пігментів калових мас			
Зміни кольору сечі			

Характер змін пігментів сечі			
------------------------------	--	--	--

4.3. Пояснити лікувальний ефект УФ-опромінення та індукторів глюкуронілтрансферази (фенобарбітал, зиксорін) при фізіологічній жовтяниці новонароджених; вказати чинники до їх використання.

5. Спадкові жовтяниці: синдром Криглера-Найяра (“кон’югаційна жовтяниця”), хвороба Жільбера (“абсобційна жовтяниця”), синдром Дабіна-Джонсона (“екскреційна жовтяниця”); їх причини і прояви.

5.1. Назвати молекулярні причини спадкових жовтяниць; клініко-біохімічні показники крові та сечі, характерні для цих захворювань; вказати шляхи можливої корекції

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 13

- У хворого на гепатит показник де Рітіса (відношення активності АсАТ до активності АлАТ) становить 0,50. Про що це свідчить? Як внутрішньоклітинна локалізація цих ензимів впливає на зростання їх активності у крові при цитолітичних процесах різного ступеня?
- У хворого вміст альбумінів у крові становить 15 г/л при нормі 32-55 г/л, протромбіновий час – 40 с при нормі 12-20 с. Про які біохімічні порушення це свідчить і до яких наслідків може призвести?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Кал хворого вміщує багато нерозщепленого жиру і має сірувато-білий колір. Укажіть причину цього явища.	А. *Обтурація жовчної протоки В. Недостатня активація пепсину соляною кислотою С. Гіповітаміноз D. Ентерит E. Подразнення епітелія кишечника	
2.	При ненадходженні чи недостатньому утворенні в організмі людини ліпотропних факторів у неї розвивається жирове переродження печінки.	А. *Холін В. Холестерин С. Триацилгліцериди D. Жирні кислоти E. Рибофлавін	

	Яку з наведених речовин можна віднести до ліпотропних ?		
3.	При жировій інфільтрації печінки порушується синтез фосфоліпідів. Вкажіть, яка з перелічених речовин може посилювати процеси метилування в синтезі фосфоліпідів?	A. *Метіонін B. Аскорбінова кислота C. Глюкоза D. Гліцерин E. Цитрат	
4.	У хворого, виснаженого голодуванням, в печінці та нирках підсилюється процес:	A. *Глюконеогенезу B. Синтезу сечовини C. Синтезу білірубіна D. Утворення гіпурової кислоти E. Синтезу сечової кислоти	
5.	У хворого на цироз печінки появились набряки. Яка можлива причина їх появи?	A. * Зменшення вмісту альбумінів у крові B. Зменшення вмісту в крові гаптоглобіну C. Збільшення вмісту в крові трансферину D. Збільшення вмісту гама-глобулінів у крові E. Зниження вмісту глюкози у крові	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Зміни біохімічних показників при хронічному гепатиті, цирозі, жовчочкам'яній хворобі, дискінезії та холециститі, їх діагностична оцінка. Зв'язок порушень екскреторної функції печінки з порушеннями процесів травлення в кишці, діагностика цих порушень.

План:

1. Біохімічні синдроми при захворюваннях гепато-біліарної системи
2. Біохімічні показники крові та сечі при захворюваннях гепато-біліарної системи
3. Порушення процесів травлення при захворюваннях гепато-біліарної системи

Рекомендована література:

1. Клінічна біохімія: Підручник для студентів медичних ВНЗ. / За ред. Циганенко А.Я.- 2-е вид., перероб. і доп. - Х.: Факт, 2005. - 456 с.
2. Клиническая биохимия/ Под ред. Ткачука В.А. - Москва: Изд-во "ГОЭТАР-МЕД", 2004. - 506 с.

3. Основы клинической биохимии: Пособие для студ. Медико-диагностического факультета/ С.В.Лелевич и др. - Гродно: ГрГМУ, 2013. - 184 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 436 – 455.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 560 -584.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 634 – 654.
4. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
5. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 505 — 510, 517 — 525.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 330-347.
7. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярів О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
8. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко – діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Здоров'я, 2003. – 192 с.
9. Клінічна біохімія: Підручник / За ред.. О.Я.Склярів. – К.:Медицина, 2006. – С. 227 – 251.
- 10.Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярів. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 3 – 46, 167 – 179.
- 11.Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
- 12.Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
- 13.Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – Москва: Мир, 2000. – 470 с.
2. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.1. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 356 – 372.
3. Основы диагностики та лікування гепатитів і цирозів печінки. Лекції та власні дослідження. / За ред. доц. Панчишин Ю.М., проф. Радченко О.М. – Львів: ЛНМУ імені Данила Галицького, 2010. – 276 с.

Тема № 14. Дослідження процесів біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів. Мікросомальне окиснення, цитохром P-450.

Мета заняття: Вміти трактувати біохімічні механізми функціонування детоксикаційної системи печінки: реакції мікросомального окиснення та кон'югації в біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів. Вміти пояснювати біохімічні основи розвитку недостатності функцій печінки за умов хімічного, біологічного та радіаційного ураження.

Актуальність теми: У печінці знешкоджуються ендотоксини та ксенобіотики, які є чужорідними для нормальних метаболічних шляхів, можуть змінювати і порушувати перебіг обмінних процесів, а в умовах перебігу патології лікарські засоби можуть нормалізувати метаболізм і тим самим зумовити видужування хворого. Знання кінетики всмоктування, транспорту, розподілу, метаболізму речовин в організмі є основою для розробки лікарських форм із заданими властивостями.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Трактувати фази метаболізму ксенобіотиків;
- Аналізувати типи реакцій модифікації та кон'югації ксенобіотиків та ендогенних токсинів у гепатоцитах;
- Засвоїти метод виявлення саліцилової кислоти в крові та сечі за реакцією із Феруму нітратом.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Трактувати роль процесів метаболізму та біотрансформації ксенобіотиків.
- Знати механізм дії цитохрому P₄₅₀, та роль монооксигеназних систем у біотрансформації ендогенних та екзогенних субстратів.
- Пояснювати шляхи виведення продуктів детоксикації лікарських речовин та токсинів із організму.

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна, біологічна хімії

Отримані навички: знати формули глюкуронової кислоти, сульфатної кислоти, гліцину, метальної групи, SAM, оцтової кислоти.

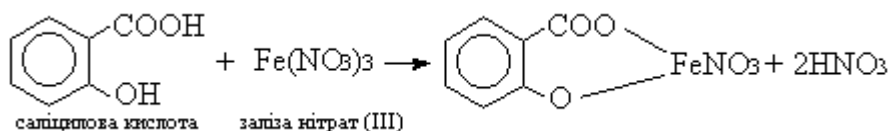
Теоретичні питання

1. Детоксикаційна функція печінки; біотрансформація ксенобіотиків та ендогенних токсинів.
2. Типи реакцій біотрансформації чужорідних хімічних сполук у печінці.
3. Реакції мікросомального окиснення; індуктори та інгібітори мікросомальних монооксигеназ.
4. Електронно-транспортні ланцюги ендоплазматичного ретикулуму. Генетичний поліморфізм та індукцибельність синтезу цитохрому P-450.
5. Реакції кон'югації в гепатоцитах: біохімічні механізми реакцій з глюкуроновою кислотою, сульфатною кислотою, гліцином, метилування, ацетилювання; їх функціональне значення.
6. Виникнення і природа розвитку толерантності до лікарських засобів.

Практична робота

Дослід 1. Виявлення саліцилової кислоти в крові та сечі за реакцією із феруму нітратом (III).

Принцип методу. Саліцилова кислота утворює із заліза нітратом (III) сполуку пурпурового кольору:



Матеріальне забезпечення: 0,55% розчин заліза нітрату (III), 0,04 н розчин нітратної кислоти.

Хід роботи. До 0,5 мл сечі або плазми крові додають 4,5 мл 0,55% -го розчину заліза нітрату (III) в 0,04 н розчині нітратної кислоти. Поява пурпурного забарвлення вказує на наявність саліцилової кислоти в досліджуваних зразках.

Зробити висновок. Пояснити отриманий результат.

Клініко-діагностичне значення. Причиною ускладнення фармакотерапії є досить часто неврахована взаємодія ліків в фармакокінетичній фазі, а саме під час їх, метаболізму. Серед фармакологічних препаратів потрібно виділити речовини, які підвищують і пригнічують активність ферментів, що метаболізують ліки в печінці. Це необхідно врахувати при проведенні комплексної терапії в ході якої застосовується два-три і більше медикаментів.

З лікарських речовин інгібуючу дію мають аміназин, дисульфірам, ізоніазид, амізин, левоміцетин, ПАСК, преднізолон, прогестерон, рутин, стероїдні контрацептиви, фенамін, 5-фторурацил та ін. Пригнічують біотрансформацію також сполуки важких металів (солі свинцю, кадмію, кобальту, органічних сполук ртуті), фенілсечовина, бромофос, хлорофос та ін. Поєднане застосування інгібіторів з іншими лікарськими засобами веде до зміни фармакокінетики і фармакодинаміки останніх. Так преднізолон, гальмуючи розклад циклофосфаміду, посилює цитостатичну і токсичну дію препарату; одноразовий прийом етилового спирту зменшує метаболізм барбітуратів, антигістамінних препаратів і етакридинової кислоти; гідроксазин, ніаламід пригнічують біотрансформацію снодійних засобів, в результаті чого посилюється гіпнотична дія; під впливом левоміцетину, дисульфіраму знижується метаболізм дикумарину. Перетворення дифеніну знижується під дією тетураму, ізоніазиду, ПАСК, левоміцетину, циклосерину, меридрилу.

Інгібітори найчастіше впливають на цитохром P₄₅₀: пригнічення метаболізму одних ксенобіотиків – субстратів проходить за рахунок їх конкуренції за місця зв'язування з цитохромом P₄₅₀ (дифенілгідантон, наприклад, конкурує з гексобарбіталом), інші – при утворенні міцного зв'язку інгібітора з цитохромом P₄₅₀ (наприклад, метапірон).

Методи якісного визначення фенацетину та його метаболітів

Фенацетин (ацетофенітидин, ацетилфенітидин, фенідин) – 1-етокси-4-ацетамінобензол – має жаропонижувачу, протизапальну і болевгамовуючу дію. Він застосовується при головних болях, невралгії. Входить до складу низки таблеток (анальфен, асфен, пірафен, седалгін та ін.). У більшості випадків фенацетин не викликає значних змін у внутрішніх органах. Проте, описані випадки „фенацетинового” нефриту. Іноді при прийомі великих доз фенацетину спостерігаються алергічні реакції, метгемоглобінемія, анемія.

Фенацетин метаболізується шляхом дезалкілювання і гідроксилування. При дезалкілюванні в якості метаболітів утворюються парацетамол, *n*-фенетидин, *n*-амінофенол та ін. Парацетамол також метаболізується з утворенням *n*-амінофенолу. При гідроксилуванні фенацетину в якості метаболіту утворюється 2-гідроксифенацетин. Частина метаболітів фенацетину виділяється з організму з сечею, а частина їх виводиться з сечею у вигляді глюкуронідів або кон'югатів з сульфатами.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Пояснити спосіб оцінювання детоксикаційної функції печінки за утворенням гіпурової кислоти (Проба Квіка). Написати реакцію кон'югації.

Інструктивно-методичні матеріали до теми №14

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Детоксикаційна функція печінки; біотрансформація ксенобіотиків та ендогенних токсинів
 - 1.1. Представити загальну схему процесів біотрансформація ксенобіотиків та ендогенних токсинів(дві фази біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів).
2. Типи реакцій біотрансформації чужорідних хімічних сполук у печінці
 - 2.1. Описати реакції мікросомального окислення та реакції кон'югації в гепатоцитах.
3. Реакції мікросомального окиснення; індуктори та інгібітори мікросомальних монооксигеназ
 - 3.1. Дати визначення
Монооксигенази – це...
Диоксигенази – це...
 - 3.2. Назвати основні індуктори та інгібітори мікросомальних монооксигеназ.
4. Електронно-транспортні ланцюги ендоплазматичного ретикулуму. Генетичний поліморфізм та індукційність синтезу цитохрому P-450
 - 4.1. Представити і пояснити схему Естабрука (каталітичного циклу функціонування цитохрому P-450).
 - 4.2. Пояснити, що означає генетичний поліморфізм та пояснити фізіологічне значення індукції цитохрому P-450.

5. Реакції кон'югації в гепатоцитах: біохімічні механізми реакцій з глюкуроною кислотою, сульфатною кислотою, гліцином, метилювання, ацетилювання; їх функціональне значення.

5.1. Написати реакції кон'югації в гепатоцитах

5.2. Пояснити принцип проведення проби Квіка.

6. Виникнення і природа розвитку толерантності до лікарських засобів.

6.1. Дати визначення

розвиток толерантності до лікарських засобів - це

6.2. Пояснити механізм виникнення і природу розвитку толерантності до лікарських засобів за рахунок індукції ферментів біотрансформації.

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 14

1. Субстрати мікросомальних гідроксилаз індують синтез молекул цитохрому Р-450 в печінці. Висока індуюча здатність властива фенобарбіталу (снодійному препарату). Як можна пояснити механізм звикання до снодійних засобів (барбітуратів) і до інших лікарських речовин, які окиснюються монооксигеназною системою ендоплазматичного ретикулулу гепатоцитів ?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	У хворого в крові та сечі виявлено високий вміст індикану – показника активації процесів гниття білків в кишечнику. Яка амінокислота є джерелом індикану?	А. * Триптофан В. Тирозин С. Пролін D. Фенілаланін E. Гістидин	
2.	Біологічне окислення та знешкодження ксенобіотиків відбувається за рахунок гемвісних ферментів. Який метал є обов'язковою складовою цих ферментів?	А. *Fe В. Zn С. Со D. Mg E. Mn	
3.	Для визначення антитоксичної функції печінки хворому призначено бензоат натрію, який в печінці перетворюється в гіпурову кислоту. Яка сполука використовується для цього процесу?	А. *Гліцин. В. Цистеїн. С. Метіонін. D. ФАФС. E. УДФ – Глюкуронова кислота	

4.	Чоловік 50 років пережив сильний стрес. У крові різко збільшилась концентрація адреналіну і норадреналіну. Які ферменти каталізують процес інактивації останніх?	А. *Моноамінооксидази В. Глікозидази С. Пептидази D. Карбоксилаза E. Тирозиназа	
5.	У хворої внаслідок крововиливу в шлунково-кишковий тракт білки крові виявились доступними для дії мікроорганізмів кишечника. Концентрація якої речовини підвищилась в даної хворої?	А. * Індол В. Креатин С. Сечовина D. Тіамін E. Триптофан	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Реакції мікросомального окиснення та кон'югації в біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів.

План

1. Роль реакцій мікросомального окиснення в біотрансформації лікарських препаратів та інших речовин.
2. Роль реакцій кон'югації в біотрансформації лікарських препаратів та інших речовин.
3. Механізм розвитку толерантності до лікарських препаратів шляхом індукції ензимів I і II фаз біотрансформації.

Рекомендована література

1. Кукес В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармацевтические аспекты. М.: Реафарм, 2004. - 144 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 455 – 466.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 567 -576.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 735 с.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 510 — 514.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 330-347.
6. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко – діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Здоров'я, 2003. – 192 с.

7. Практикум з біологічної хімії / Під ред. проф. О.Я. Склярова. – Київ: Здоров'я, 2002. – 298 с.
8. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
10. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 638-643.
11. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. проф. Л.А. Даниловой. – М. – С.-Петербург – Ниж. Новгород – Воронеж – Ростов-на-Дону – Екатеринбург – Самара – Киев – Харьков – Минск: Питер, 2003. – 733 с.

Тема № 15. Дослідження водно-солевого та мінерального обміну.

Мета заняття: Вивчити процеси обміну води і мінеральних речовин в організмі людини. Оволодіти методами якісного та кількісного визначення неорганічних речовин у сироватці крові та вміти інтерпретувати отримані результати при діагностиці та лікуванні деяких захворювань.

Актуальність теми: У зв'язку з тим, що для життєдіяльності організму людини присутність води і неорганічних речовин є обов'язковою і вони можуть змінюватись при різних захворюваннях, знання і розуміння процесів їх обміну, а також їх якісне і кількісне визначення є необхідним для оцінки водно-мінерального обміну.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Знати принцип визначення калію в сироватці крові за методом Н.Лазарева;
- Вміти інтерпретувати отримані результати при діагностиці та лікуванні порушень водно-солевого обміну;
- Знати принцип визначення кальцію в сечі за методом Сульковича; вміти інтерпретувати отримані результати.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Вміти пояснювати механізми регуляції водно-солевого обміну та його порушення.
- Вміти аналізувати механізм дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її функції; пояснити принцип дії активаторів та інгібіторів Na^+ , K^+ -АТФ-ази

- Вміти трактувати класифікацію мінеральних елементів, шляхи їх надходження в організм людини.
- Вміти пояснювати біологічні функції окремих макро- та мікроелементів та знати причини виникнення мікроелементозів.

Базові знання

Дисципліна: біологічна хімія, біоорганічна хімія

Отримані навички: знати біохімічні компоненти живих організмів та класифікацію біогенних елементів; володіти термінами: осмолярність, осмоляльність, електроліти, осмотичний тиск.

Теоретичні питання

1. Біологічна роль води та її розподілення в організмі людини. Ендогенна вода. Водний баланс, його види.
2. Регуляція водно-сольового обміну, його порушення. Дегідратація і гіпергідратація (гіперволемія та гіповолемія), біохімічні механізми виникнення.
3. Мінеральний обмін. Класифікація мінеральних елементів, шляхи їх надходження в організм людини. Біологічна роль органогенних, макро-, мікро- і ультрамікроелементів.
4. Метаболічна роль Na^+ , K^+ ; гормональна регуляція їх обміну. Механізм дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її регуляція.
5. Біологічні функції окремих макроелементів: кальцію, фосфору, хлору, магнію.
6. Біологічні функції окремих мікроелементів: феруму, марганцю, йоду, бромиду, фтору, міді, цинку, кобальту, молібдену, селену. Прояви мікроелементної недостатності.
7. Мікроелементози людини: ендогенні та екзогенні (техногенні, ятрогенні, тощо). Оліготерапія.
8. Роль важких металів та радіоактивних елементів у розвитку патологічних процесів.

Практична робота

Дослід 1. Визначення кальцію в сечі (проба Сульковича)

Принцип методу. Метод ґрунтується на утворенні малорозчинних солей кальцію при підвищеному його вмісті.

Матеріальне забезпечення: 1) Реактив Сульковича: містить щавлеву кислоту – 2,5 г, щавлевокислий амоній – 2,5 г, льодяну ацетатну кислоту – 5,0 мл. Загальний об'єм доводять дистильованою водою до 150 мл.

Хід роботи: До 5 мл сечі, отриманої зранку натще, додають 2,5 мл реактиву Сульковича. У нормі через 30 сек з'являється молочно-біле помутніння сечі. При підвищеній концентрації кальцію в сечі осад більш виражений, при пониженій концентрації сеча залишається прозорою.

Пояснити отриманий результат, зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. Кальцій майже не бере участі у підтримці осмотичного тиску, тому що його вміст у позаклітинному секторі невеликий і значна частина йону зв'язана з білками. У регуляції обміну кальцію беруть участь паратгормон, похідні вітаміну D₃ і кальцитонін. Збільшення чи зменшення вмісту йонів кальцію в плазмі крові може призвести до різних патологічних станів. Лікарські препарати, що містять солі кальцію, у зв'язку з цим знаходять широке застосування в різних галузях медицини. При **гіперкальціємії** загальний вміст кальцію в сироватці крові складає більше 2,9 ммоль/л, а іонізованого кальцію – більше 1,38 ммоль/л. Гіперкальціємія, що перевищує 3,75 ммоль/л (15 мг%), може викликати раптову зупинку серця. Зростання концентрації іонізованого кальцію веде до патологічних станів, що проявляються поліурією, блювотою, депресивним станом, порушенням серцевого ритму. **Гіпокальціємія** спостерігається при рівні загального кальцію в сироватці крові менше 2,12 ммоль/л (8,5 мг%) і іонізованого кальцію – менше 1,12 ммоль/л (4,5 мг%). Гіпокальціємія у клінічній практиці спостерігається частіше і протікає важче, ніж гіперкальціємія. «Гостра» гіпокальціємія призводить до розвитку тетанії, «хронічна» кальцієва недостатність може супроводжуватись порушенням функції скелетної і гладкої мускулатури, серцево-судинної системи, порушенням згортання крові, розвитком остеопорозу. Причини гіпокальціємії: недостатність паращитовидних залоз, підвищене виведення кальцію при порушеннях травлення і всмоктування, дефіцит вітаміну D чи резистентність до нього, при рахіті та ін.

Колориметричний мікрометод визначення калію в сироватці крові (метод Лазарева Н.)

Іони калію в присутності іонів Pb²⁺, Cu²⁺ і NO₂⁻ утворюють нерозчинний у воді осад K₂Pb[Cu(NO₂)₆] – купрогексанітрид калію-плюмбуму, який розчиняють в суміші риванолу і льодяної ацетатної кислоти. Визначають оптичну густину утвореного розчину, яка прямопропорційна кількості іонів NO₂⁻. Для визначення рівня калію використовують постійний коефіцієнт, розрахований, виходячи із співвідношення NO₂⁻ і K⁺ в сполуці, що утворилась.

Клініко-діагностичне значення визначення калію. Дослідження мінерального складу крові, сечі та інших біологічних рідин має надзвичайно велике значення в діагностиці порушення водно-електролітного складу, обґрунтування питного режиму, дієти і терапії. Зміни низки елементів у біологічних рідинах часто є специфічними для різних захворювань.

Калій – катіон, основна частина якого знаходиться всередині клітини – до 98%. Незначна частина його міститься в позаклітинному просторі, не відіграє істотної ролі в підтримці осмотичного тиску. Вміст калію в сироватці крові в нормі – 3,8 – 5,2 ммоль/л. При зниженні рівня калію в крові (менше 3 ммоль/л) наступають зміни в роботі серця, порушується ритм і провідність. **Гіперкаліємія** проявляється нудотою, блювотою, брадикардією, порушенням серцевого ритму. Підвищення концентрації калію плазми вище 6,5 ммоль/л – загрозливе, вище 7,5 до 10,5 ммоль/л – токсичне, а вище 10,5 ммоль/л – смертельне. Причини гіперкаліємії: знижене виділення калію із сечею при

нирковій недостатності, внутрішньовенне введення калієвмісних розчинів, некроз клітин, недостатність наднирникових залоз та ін. **Гіпокаліємія** супроводжується м'язовою гіпотонією, апатією, сухістю шкіри. Спостерігається блювота, тахікардія, зниження артеріального і ріст венозного тиску, аритмії, зниження толерантності до серцевих глікозидів. Причини гіпокаліємії: втрати калію через шлунково-кишковий тракт (блювання, пронос), при вживанні лікарських засобів (діуретиків, проносних, гіпотензивних засобів), хронічні пієло- і гломерулонефрити та ін.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. В присутності якого елемента при визначенні калію колориметричним методом за Лазаревим Н. утворюється нерозчинний у воді осад $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$ – купрогексанітрид калію-плюмбуму?
2. Вище якої концентрації калію в крові може наступити смерть?
3. При якій концентрації загального кальцію в сироватці крові може наступити раптова зупинка серця?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №15

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Біологічна роль води та її розподілення в організмі людини. Ендогенна вода. Водний баланс, його види.
 - 1.1. Представити схему розподілу води в організмі людини; описати біологічну роль води.
 - 1.2. Дати визначення:
 - Водний баланс – це ...*
 - Позитивний водний баланс – це ... Спостерігається при...*
 - Негативний водний баланс – це ... Спостерігається при...*
2. Регуляція водно-сольового обміну, його порушення. Дегідратація і гіпергідратація (гіперволемія та гіповолемія), біохімічні механізми виникнення.
 - 2.1. Зазначити причини порушення гідратації клітин; дати визначення:
 - Гіпергідратація – це ...*
 - Гіпогідратація – це ...*
 - 2.2. Назвати гормони, які відіграють основну роль у забезпеченні балансу води, вказати механізм їх дії
3. Мінеральний обмін. Класифікація мінеральних елементів, шляхи їх надходження в організм людини. Біологічна роль органогенних, макро-, мікро- і ультрамікроелементів.
 - 3.1. Представити схему класифікації мінеральних елементів; описати шляхи їх надходження в організм людини.
 - 3.2. Дати характеристику органогенних, макро-, мікро- і ультрамікроелементів
4. Біологічні функції окремих макроелементів: кальцію, фосфору, хлору, магнію.

- 4.1. Описати біологічні функції кальцію, фосфору, хлору, магнію; охарактеризувати причини їх порушення
5. Метаболічна роль Na^+ , K^+ ; гормональна регуляція їх обміну. Механізм дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її регуляція.
- 5.1. Описати процеси, які призводять до змін електролітного обміну Na^+ , K^+ ; пояснити вплив лікарських середників на йонний обмін вказаних електролітів
6. Біологічні функції окремих мікроелементів: феруму, марганцю, йоду, броду, фтору, міді, цинку, кобальту, молібдену, селену. Прояви мікроелементної недостатності.
- 6.1. Дати характеристику біологічних функцій феруму, марганцю, йоду, броду, фтору, міді, цинку, кобальту, молібдену, селену
7. Мікроелементози людини: ендогенні та екзогенні (техногенні, ятрогенні, тощо). Оліготерапія.
- 7.1. Представити у вигляді таблиці мікроелементози людини, дати їх характеристику, вказати шляхи їх подолання
8. Роль важких металів та радіоактивних елементів у розвитку патологічних процесів.
- 8.1. Перерахувати хімічні та фізичні чинники, які порушують мінеральний баланс організму та вказати методи його корекції
9. Заповніть таблицю, описавши, які ознаки характерні для гіпергідратації та дегідратації.

Ознака	Гіпергідратація	Дегідратація
ЧСС		
Частота дихання		
Тургор шкіри		
Очні яблука		
Слизові оболонки		
Діурез		
Свідомість		

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 15

1. Хворий, який проживає на півночі і вживає в надлишковій кількості печінку риб (містить вітамін D), звернувся в медичний центр зі скаргою на підвищений тиск. Рентгенологічне обстеження підтвердило відкладання каменів у сечових шляхах. Які зміни крові виявлені у хворого ?

2. Турист у спекотний день довго знаходився без питної води. Нарешті він дістався до джерела і вгамував спрагу. Які зміни водно-сольового обміну будуть спостерігатися у нього?

3. У приймальне відділення стаціонару поступив хворий у якого виявлено гіпотензію, порушення свідомості, сухість слизових оболонок. Які можливі причини змін водно-сольового обміну?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	Відомо, що в деяких біогеохімічних зонах розповсюджене захворювання на ендемічний зоб. Нестача якого біоелемента викликає це захворювання?	А. *Йоду В. Заліза С. Цинку D. Міді E. Кобальту	
2.	При операції на щитовидній залозі з приводу захворювання на базедову хворобу, помилково були видалені паращитовидні залози. Виникли судоми, тетанія. Обмін якого біоелемента було порушено?	А. * Кальцію В. Магнію С. Калію D. Заліза E. Натрію	
3.	У пацієнта, що проживає на специфічній геохімічній території, поставлено діагноз ендемічний зоб. Який вид посттрансляційної модифікації тиреоглобуліну порушений в організмі хворого?	А. *Йодування В. Метилування С. Ацетилювання D. Фосфорилування E. Глікозилювання	
4.	Мікроелемент Купрум є складовим компонентом білків (металопротеїнів). При порушенні обміну Купруму виникає хвороба Вільсона-Коновалова (гепатоцеребральна дистрофія). Концентрація якого білка зменшується в крові?	А. *Церулоплазміну В. Трансферину С. Феритину D. Колагену. E. Глобуліну	
5.	Хворий 50-ти років звернувся до клініки зі скаргами на загальну слабкість, втрату апетиту, аритмію. Спостерігається	А. *Гіпокаліємія В. Гіпопротеїнемія С. Гіперкаліємія D. Гіпофосфатемія	

	гіпотонія м'язів, мляві паралічі, послаблення перистальтики кишечника. Причиною такого стану може бути:	Е. Гіпонатріємія	
--	---	------------------	--

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Мікроелементози людини.

План

1. Мікроелементози: визначення, причини виникнення.
2. Характеристика основних груп мікроелементозів (природних ендо- та екзогенних, техногенних, ятрогенних).
3. Оліготерапія.

Рекомендована література:

1. В.І.Смоляр, Г.І. Петрашенко. Аліментарні гіпо- та гіпермікроелементози Проблеми харчування. — 2005. — № 4. — С. 40-42.
2. Ю.В. Марушко, О.Л. Таринська, О.О. Лісоченко, Значення мікроелементозів і змін умісту окремих мікроелементів для клінічної практики// Укр.мед.часопис.- 2013, №2. — С.2-9.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 354 – 358.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 545 - 550.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С.507 - 529.
4. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 528 — 536.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 398-406.
6. Біохімічні показники в нормі і при патології. Навчальний довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 320 с.
7. Клінічна біохімія / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Медицина, 2006. – С.143 – 161.
8. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С.275 – 280.
9. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
10. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.

11. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— P. 403 – 426, 468 - 486.
12. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Ангельські С., Якубовські З., Домінічак М. Клінічна біохімія. – Сопот. - 2000. – С. 25 – 47, 88 - 103.
2. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярєва О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – С. 167 - 188.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейєс П., Родуєлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 280 – 281.
4. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. проф. Л.А. Даниловой. – М. – С.-Петербург – Ниж. Новгород – Воронеж – Ростов-на-Дону – Екатеринбург – Самара – Киев – Харьков – Минск: Питер, 2003. – 733 с.
5. Швець В.І. Патологія взаємодії систем регуляції агрегатного стану крові та водно-сольового обміну: Монографія/ В.І. Швець, Ю.Є. Роговий, І.Д.Шкробінець – Чернівці, 2009.- 372 с.

Тема № 16. Сечоутворювальна функція нирок. Нормальні та патологічні компоненти сечі.

Мета заняття: Знати фізико–хімічні властивості сечі; основні біохімічні показники нормальних і патологічних компонентів та шляхи їх проникнення в сечу. Вміти провести біохімічний аналіз сечі та інтерпретувати отримані результати.

Актуальність теми: Біохімічний аналіз сечі є обов’язковим в амбулаторних і клінічних умовах у діагностуванні ряду захворювань.

При біохімічному дослідженні виявляють як нормальні, так і патологічні компоненти сечі. Біохімічний аналіз сечі дає можливість судити про функціональний стан нирок, про обмін речовин в різних органах і організмі в цілому, допомагає в’ясувати причини, характер і прогноз патологічного процесу, дозволяє оцінити ефективність лікування. Крім того, дослідження сечі на вміст лікарських речовин або їх метаболітів дозволяє також оцінити фармакологічну дію ліків і прогнозувати терапевтичний ефект.

У клінічній практиці для аналізу сечі досить широко використовують автоматичні біохімічні аналізатори, які дають змогу за відносно короткий проміжок часу і у невеликому об’ємі біологічного матеріалу визначити кілька десятків біохімічних параметрів.

Для експрес – діагностики захворювань різні фірми випускають індикаторні тест–смужки, які містять сухі реактиви (ферменти або інші речовини), що призводять до утворення або зміни забарвлення в результаті їх

взаємодії з деякими метаболітами досліджуваних біологічних рідин, наприклад, сечі.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Вміти аналізувати біохімічний склад сечі в нормі та за умов розвитку патологічних процесів;
- Вміти оцінювати функціональне значення кінцевих продуктів азотистого обміну (сечовина, сечова кислота, креатинін) та продуктів детоксикації (тваринний індикан, гіпурова кислота), зміни їх добового виділення;
- Вміти аналізувати стан здоров'я людини на підставі біохімічних параметрів змін проміжних та кінцевих продуктів метаболізму в крові та сечі (білок, цукор, кетонів тіла, жовчні кислоти, кров).

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Знати біохімічні механізми регуляції водно-сольового обміну та роль нирок в утворенні сечі;
- Знати хімічний склад сечі в нормі (органічні та мінеральні компоненти);
- Знати причини можливих відхилень у хімічному складі сечі та аналізувати участь нирок у виділенні неорганічних і органічних речовин.

Базові знання

Дисципліна: нормальна фізіологія

Отримані навички: структурно-функціональні особливості нирок, механізм сечоутворення.

Теоретичні питання

1. Роль нирок в регуляції об'єму, електролітного складу та рН рідин організму. Біохімічні механізми сечоутворювальної функції нирок (фільтрація, реабсорбція, секреція і екскреція). Біохімічна характеристика ниркового кліренсу і ниркового порогу, їх діагностичне значення.
2. Гормональні механізми регуляції водно-сольового обміну та функцій нирок; антидіуретичний гормон; альдостерон.
3. Ренін-ангіотензинова система. Натрійуретичні фактори передсердя та інших тканин. Біохімічні механізми виникнення ниркової гіпертензії. Гіпотензивні лікарські засоби – інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту.
4. Фізико-хімічні властивості сечі: кількість, колір, запах, прозорість, реакція (рН), залежність її від складу їжі. Роль нирок та легень у підтриманні кислотно-основного стану організму. Амонійогенез.
5. Хімічний склад сечі в нормі (органічні та мінеральні компоненти); причини можливих відхилень. Участь нирок у виділенні неорганічних і органічних речовин. Клініко-діагностичне значення визначення окремих компонентів сечі.
6. Патобіохімія нирок. Клініко-біохімічні зміни при гострій та хронічній нирковій недостатності.
7. Характеристика умов утворення в нирках каменів, їх хімічний склад та заходи профілактики.

8. Патологічні компоненти сечі – кров, гемоглобін, креатин. Шляхи їх проникнення в сечу; причини їх появи.
9. Клініко-діагностичне значення їх виявлення у сечі вуглеводів. Характеристика глюкозурій, галактозурій, фруктозурій, пентозурій, причини їх появи.
10. Клініко-діагностичне значення виявлення і визначення в сечі: індикану, фенілпіровиноградної, та гомогентизинової кислот.
11. Клініко-діагностичне значення визначення у сечі кетонових тіл, жовчних кислот і жовчних пігментів.

Практична робота

Для лабораторних досліджень використовують ранішню сечу. Забір сечі повинен проводитись в стерильних умовах, щоб уникнути попадання бактерій та грибів. Забір сечі, особливо добовий, вимагає консервації такими речовинами, як тимол, толуол, формальдегід, хлороформ. Сеча для дослідження ферментів не має містити консервантів; її потрібно охолодити або заморозити. Для наших досліджень проводимо забір середньої порції сечі під час першого ранкового сечовипускання.

Аналіз сечі проводять, починаючи з оцінки фізико-хімічних властивостей: кількість, колір, запах, прозорість, реакція (рН) і густина сечі.

Дослід 1. Фізико-хімічні властивості сечі.

Матеріальне забезпечення: сеча, мірний циліндр, колбочки, набір урометрів, індикаторний папір „Ріфан”, піпетки, пробірки.

Визначення кількості сечі. Виділення сечі за певний проміжок часу (за день, ніч або повністю за добу) називається діурезом. Об'єм сечі вимірюють мірним циліндром по нижньому меніску.

Клініко-діагностичне значення: У нормі доросла людина за добу виділяє в середньому 1100 – 1800 мл сечі. Відхилення від норми називаються поліурія, олігурія і анурія. **Поліурія** – збільшення виділення сечі (більше 2000 мл) – може бути фізіологічною (за рахунок вживання великої кількості рідини або при нервовому збудженні) і патологічною (при цукровому і нецукровому діабетах, захворюваннях нирок, при вживанні сечогінних і серцевих лікарських засобів). **Олігурія** – зменшення виділення сечі (600 мл і менше) – може бути фізіологічною (при обмеженому вживанні рідини, втраті рідини з потом) і патологічною (при запаленні нирок, частих проносах, гарячкових захворюваннях, блюванні, пороках серця). **Анурія** – повне припинення виділення сечі – часто спостерігається при закупорці сечоводів (нирковий камінь, пухлина). Така анурія називається неістинною. Істинна анурія виникає при порушенні сечовидільної функції нирок (гостра ниркова недостатність, важкі форми гострого гломерулонефриту, отруєння ртуттю, свинцем).

1.1. Колір сечі. Колір сечі визначають у склянці з безбарвного скла у відбитому світлі на білому фоні.

Клініко-діагностичне значення. У нормі колір сечі у дорослої людини солом'яно-жовтий завдяки таким пігментам, як урохром, уробілін, уроеритрин та ін. У новонароджених сеча майже безбарвна.

При патологічних станах можуть відбуватися як якісні, так і кількісні зміни у забарвленні сечі.

Якісні зміни кольору сечі залежать від наявності в ній білірубину і гемоглобіну. При гематуріях ниркового походження сеча набуває кольору “м'ясних помийв”, при жовтяниці – кольору “пива”, при вживанні деяких ліків (амідопирин, ацетилсаліцилова кислота) і при отруєнні карболовою кислотою колір сечі стає рожево-червоним.

Червоний колір сечі спостерігається при порфіринурії. Розрізняють порфіринурії: первинна порфінурія виникає внаслідок ензимопатії, наприклад, спадкова хвороба Гюнтера, при якій з сечею виділяється багато уропорфіринів і копропорфіринів типу I або вторинна, яка виникає при інтоксикаціях з подальшим ураженням печінки.

При збільшенні діурезу змінюється інтенсивність кольору сечі. Інтенсивне забарвлення спостерігається при олігуріях або при посиленому виділенні пігментів, зокрема білірубину (гемолітична жовтяниця). Слабке забарвлення сечі буває при поліуріях (нефросклероз, нецукровий і цукровий діабети, швидке розсмоктування набряків та ін.).

При вживанні буряків, моркви, суниць сеча забарвлюється різними пігментами, що містяться в цих продуктах.

Молочно-білий колір сечі спостерігається при хілурії внаслідок розриву лімфатичних капілярів нирки, великому вмісту ліпідів, фосфатів і домішок гною.

1.2. Запах сечі. У нормі свіжа сеча має специфічний запах летких речовин, що в ній містяться. Ам'ячний запах свіжа сеча має при запаленні сечового міхура (цистити), гнильний – при гангренозних процесах, плодовий або винний, ацетону – у хворих на діабет. Запах сечі пов'язаний також з характером їжі (часник, спаржа) або вживанням деяких медикаментів (запах валеріани, ментолу, тощо).

1.3. Прозорість сечі. Прозорість сечі визначають у склянці з безбарвного скла після збовтування.

У нормі свіжа сеча завжди прозора. З часом у ній починається лужне бродіння і сеча стає каламутною.

Причиною каламутності різної інтенсивності може бути наявність у сечі солей (у лужному середовищі фосфатів, а в кислій сечі – уратів), слизу, кліткових елементів і бактеріальної флори (цистопієліти). Дуже рідко каламутність спричинюють жири (при переломах великих кісток). Щоб відрізнити патологічне походження каламутності (осаду) сечі від звичайної сольової каламуті, треба провести відповідні хімічні і мікроскопічні дослідження.

1.4. Хімічне дослідження на розрізнення організованих осадів від неорганізованих.

Всі елементи сечових осадів поділяють на дві великі групи: організовані і неорганізовані елементи осаду. Неорганізований осад складається з солей та кристалічних утворень, що наявні як у нормальній, так і в патологічній сечі. Солі осаду різні в залежності від реакції сечі. До неорганізованих елементів осаду у кислій сечі належать аморфні урати, сечова кислота, оксалати, у лужній - аморфні фосфати, трипельфосфати, амонію урат. До організованих елементів осаду сечі належать всі клітинні елементи: еритроцити, лейкоцити, епітеліальні клітини (плоскі, циліндричні і круглі).

Матеріальне забезпечення: пробірки, 10 % розчин ацетатної кислоти, 5 % розчин гідроксиду натрію.

Хід роботи: У 2 пробірки наливають по 5 мл сечі і додають у першу пробірку 1 мл 10 % ацетатної кислоти, а у другу – 1 мл 5 % гідроксиду натрію і нагрівають.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Неорганізовані осади (фосфати, карбонати, оксалати) розчиняються у кислотах, а урати – в лузі. Якщо в лужному середовищі каламуть не зникає навіть після додавання 3 – 5 крапель концентрованого розчину NaOH, тоді ця каламуть зумовлена наявністю клітинних елементів (епітелій, лейкоцити, еритроцити, слизь).

Організовані елементи відрізняються від неорганізованих тим, що вони дуже повільно зсідаються і не розчиняються при нагріванні і додаванні кислот.

1.5. Реакція сечі. Визначення рН сечі за допомогою індикаторного паперу.

На середину індикаторного папірця “Ріфан” наносять 1 – 2 краплі свіжої сечі і за зміною забарвлення одної із забарвлених смужок, яка співпадає з кольором контрольної смуги, визначають рН сечі.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки. Точніше визначають рН сечі потенціометричним методом.

Клініко-діагностичне значення. Реакція сечі (рН) у здорової людини коливається в нормі від 4,5 до 8,0. На неї може впливати склад їжі і патологічні стани. Наприклад, лужна реакція сечі спостерігається при блюванні, фосфатурії, запаленні сечового міхура (цистит) і ниркових мисок (в останніх двох випадках бактеріальна флора розкладає сечовину на аміак), вагітності, вживанні лужних мінеральних вод. Більш кисла реакція сечі буває при цукровому діабеті і голодуванні (внаслідок нагромадження у сечі кетонових тіл), тяжкій нирковій недостатності внаслідок порушення функції нирок і зменшення вмісту аміаку, що нейтралізує сечу. Дуже кисла реакція спостерігається при подагрі і гарячковому стані.

Великий вплив на реакцію сечі має характер харчування. При посиленому білковому харчуванні (м'ясо) сеча стає більш кислою, якщо переважає рослинна їжа – більш лужною.

1.6. Густина сечі. Сечу наливають у вузький циліндр на 100 мл і стежать, щоб не утворилась піна. Якщо ж піна утворилася, то її знімають фільтрувальним папером. Утворенню піни можна запобігти, якщо наливати сечу у циліндр по його стінці. У циліндр обережно опускають урومتر і, коли

він перестане коливатися, визначають густину по нижньому меніску. Урометр при цьому повинен вільно плавати в циліндрі і не торкатися його стінок.

Якщо досліджуваної сечі мало, її треба розвести дистильованою водою, визначити питому вагу і добутий показник (дві останні цифри) помножити на розведення.

Наприклад, якщо для аналізу взяли 20 мл сечі, то її розводять в циліндрі дистильованою водою у 2 рази (до 40 мл) і вимірюють густину. Якщо вона рівна 1,006, тоді істинна густина дорівнює 1,012. Такий спосіб визначення густини сечі дуже важливий для педіатричної практики.

Кожний урометр калібрований для певної, вказаної на ньому температури. Якщо визначення роблять при іншій температурі, тоді вносять поправку: на кожні 3°C вище вказаної температури до показника урометра додають по 0,001, якщо температура нижче, тоді на кожні 3°C – віднімають по 0,001.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Клініко-діагностичне значення. У нормі густина сечі при температурі 15°C коливається від 1,014 до 1,025 кг/л. Густина сечі характеризує концентраційну здатність нирок, тому що вона дає уявлення про концентрацію речовин, розчинених у сечі (у першу чергу сечовини і солей натрію). Густина сечі протягом доби може змінюватися, нічна сеча у нормі більшої густини, ніж денна. Вона змінюється як від кількості спожитої рідини, так і від кількості рідини, виділеної з потом і калом.

При нецукровому діабеті густина сечі коливається від 1,001 до 1,004, а при цукровому діабеті досягає 1,030 – 1,040 і більше. На кожний 1 % цукру в сечі вноситься поправка в густину на 0,004. Протеїнурія також впливає на густину сечі – 3 г/л збільшує її на 0,001.

Підвищення густини спостерігається при гарячкових захворюваннях, блюванні, проносах, деяких хворобах нирок.

Низька густина буває при тяжких розладах функції нирок, нервових захворюваннях, нецукровому діабеті.

Виділення протягом тривалого часу сечі зі стабільною густиною, показник якої дорівнює густині первинної сечі (1,010 – 1,011), називається ізостенурією.

Гіпостенурія – часткова втрата нирками здатності концентрувати і розбавляти сечу – спостерігається при тривалому виділенні сечі, густина якої 1,007 – 1,015. При цьому функціональна здатність нирок частково зберігається, але прогноз також несприятливий.

Дослід 2. Виявлення патологічних компонентів сечі.

2.1. Кількісне визначення вмісту білка у сечі за методом Робертса-Стольнікова-Брандберга.

Принцип методу. Метод базується на реакції осадження білків концентрованою нітратною кислотою (осад не розчиняється в надлишку кислоти), яка дає позитивний результат при наявності у сечі не менш як 0,033 г/л сечі білка (проба Геллера).

Матеріальне забезпечення: нормальна сеча і патологічна сеча, 50 % розчин нітратної кислоти (або розбавлена водою концентрована нітратна кислота 1:1), піпетки, пробірки.

Хід роботи: В 6 пробірок наливають по 2 мл води. В першу добавляють 2 мл сечі, рідину перемішують і 2 мл її переносять у другу пробірку. Із другої пробірки 2 мл суміші переносять у третю пробірку і т.д. Із останньої (шостої) 2 мл суміші виливають. Таким чином одержують розведення сечі в 2, 4, 8, 16, 32, 64 рази. У 6 інших пробірок наливають по 1 мл 50 % нітратної кислоти. Потім піпеткою нашаровують (додають по стінках нахиленої пробірки, щоб не перемішувалась рідина) 1 мл розбавленої сечі із першої пробірки в пробірку з нітратною кислотою. Визначають час появи кільця. Аналогічно проводять дослід з наступними пробірками з розведеною сечею. Проба, в якій біле кільце з'являється між другою і третьою хвилинами, містить 0,033 г/л білка. Показник розведення множать на 0,033 г/л і дістають показник кількості білка в сечі. Наприклад, при розведенні сечі у 4 рази концентрація білка складає 0,132 г/л ($0,033 \cdot 4 = 0,132$).

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Клініко-діагностичне значення. Сеча здорової людини практично не містить білка (звичайними хімічними реакціями він не виявляється).

Розрізняють справжню альбумінурію і несправжню. При справжній або нирковій протеїнурії білки сироватки крові проникають в сечу через нирки при порушенні фільтраційної мембрани. Несправжня протеїнурія спостерігається при попаданні в сечу слизу, крові, гною не з нирок, а з сечовивідних шляхів.

Білок появляється у сечі також при серцевій декомпенсації, інколи при вагітності, гіпертонії та інфекційних захворюваннях, тощо.

Виявлення білка в сечі.

Для виявлення білка в сечі найчастіше застосовують реакцію осадження за допомогою сульфосаліцилової кислоти.

Виявлення цукру у сечі.

Усі моно- і дисахариди, які мають у своєму складі вільний напівацетальний гідроксил, здатні в лужному (проба Фелінга) і в кислому (проба Барфуда) середовищах відновлювати катіони металів (купрум, аргентум тощо).

Виявлення крові в сечі (Бензидинова проба).

Реакція базується на окисненні бензидину до п-хінондиіміну киснем, який утворюється внаслідок розкладу гідрогену пероксиду за присутності крові.

Сеча при гематурії каламутна і має червоний відтінок, інтенсивність якого залежить від кількості формених елементів крові. В осаді під мікроскопом виявляються еритроцити і лейкоцити. Гемоглобінурія спостерігається при захворюваннях, пов'язаних з гемолізом (розпадом) еритроцитів. Сеча при цьому буває червоного або кофейно-бурого кольору.

Виявлення жовчних кислот (Проба Петтенкофера).

Метод базується на здатності жовчних кислот давати яскраво-червоне забарвлення з оксиметилфурфуролом, який утворюється при дії концентрованої сульфатної кислоти на сахарозу.

При механічній жовтяниці внаслідок закупорки загальної жовчної протоки каменем або пухлиною жовчні капіляри переповнюються жовчю. Внаслідок цього печінкові клітини стискаються і жовч проникає у кров. У цих випадках відбувається посилене виділення жовчних пігментів (білірубін, білівердин) і жовчних кислот з сечею.

Контрольні питання до практичної роботи теми 16

1. Дайте фізико-хімічну характеристику показників сечі (кількість, колір, запах, прозорість, реакція, густина), методи визначення та їх клініко-діагностичне значення.
2. Як хімічно розрізнити організований осад від неорганізованого? Клініко-діагностичне значення.
3. Яким методом можна виявити та кількісно визначити білок в сечі? Клініко-діагностичне значення цих методів.
4. Якими якісними реакціями можна виявити моно-і дисахариди в сечі? Поясніть принципи методів та їх клініко-діагностичне значення.
5. Якою пробою можна виявити кров у сечі? Клініко-діагностичне значення.
6. Який принцип методу виявлення жовчних кислот (проба Петтенкофера)? Клініко-діагностичне значення.

Інструктивно-методичні матеріали до теми №16

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Роль нирок в регуляції об'єму, електролітного складу та рН рідин організму. Біохімічні механізми сечоутворювальної функції нирок (фільтрація, реабсорбція, секреція і екскреція). Біохімічна характеристика ниркового кліренсу і ниркового порогу, їх діагностичне значення.

1.1. Представити схему обміну гідрокарбонатів у нирках та пояснити її

1.2. Дати визначення:

Фільтрація – це ...

Реабсорбція – це ...

Секреція - це ...

Екскреція – це ...

Нирковий кліренс – це ...

Нирковий поріг – це ...

2. Гормональні механізми регуляції водно-сольового обміну та функцій нирок; антидіуретичний гормон; альдостерон.

2.1. Представити схему калікреїн-кінінової системи нирок та пояснити механізм її функціонування

2.2. Представити характеристику антидіуретичного гормону; вказати причини порушення утворення альдостерону та його наслідки

3. Ренін-ангіотензинова система. Натрійуретичні фактори передсердя та інших тканин. Біохімічні механізми виникнення ниркової гіпертензії. Гіпотензивні лікарські засоби – інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту

3.1. Представити схему ренін-ангіотензинової системи; описати види та будову натрійуретичних факторів передсердя; описати біохімічні механізми виникнення вазоренальної та паренхіматозної артеріальної гіпертензії

3.2. Описати основні групи інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту(АПФ) та пояснити механізм їх дії

4. Фізико-хімічні властивості сечі: кількість, колір, запах, прозорість, реакція (рН), залежність її від складу їжі. Роль нирок та легень у підтриманні кислотно-основного стану організму. Амонійогенез.

4.1. Дати характеристику фізико-хімічних властивостей сечі та вказати причини їх порушень

4.2. Представити схему ацидогенезу та амонійогенезу та пояснити їх

5. Хімічний склад сечі в нормі (органічні та мінеральні компоненти); причини можливих відхилень. Участь нирок у виділенні неорганічних і органічних речовин. Клініко-діагностичне значення визначення окремих компонентів сечі.

5.1. Вказати найважливіші органічні та неорганічні речовини, що присутні в сечі в нормі та при патології

5.2. Навести значення біохімічних показників в сечі в нормі та при патології та вказати їх клініко-діагностичне значення

6. Патобіохімія нирок. Клініко-біохімічні зміни при гострій та хронічній нирковій недостатності.

6.1. Дати визначення ниркової недостатності, вказати відмінності клініко-біохімічних характеристик за умов гострої та хронічної ниркової недостатності

7. Характеристика умов утворення в нирках каменів, їх хімічний склад та заходи профілактики.

7.1. Вказати чинники, які впливають на виникнення сечокам'яної хвороби, дати характеристику хімічного складу ниркових каменів та вказати заходи профілактики сечокам'яної хвороби (дієтотерапія, фармакологічні препарати, санаторно-курортне лікування)

8. Патологічні компоненти сечі – кров, гемоглобін, креатин. Шляхи їх проникнення в сечу; причини їх появи.

8.1. Вказати причини появи патологічних компонентів сечі та шляхи їх проникнення

9. Клініко-діагностичне значення виявлення у сечі вуглеводів. Характеристика глюкозурії, галактозурії, фруктозурії, пентозурії.

9.1. Вказати причини порушень вуглеводного обміну, які призводять до появи вуглеводів у сечі

9.2. Описати клініко-діагностичне значення виявлення у сечі галактози, фруктози, глюкози, пентоз

10. Клініко-діагностичне значення виявлення і визначення в сечі: індикану, фенілпіровиноградної, та гомогентизинової кислот

10.1. Вказати причини появи у сечі індикану, фенілпіровиноградної та гомогентизинової кислот та клініко-діагностичне значення їх виявлення

10.2. Описати клініко-біохімічну характеристику індиканурії, фенілпіровиноградної олігофренії, алкаптонурії

11. Клініко-діагностичне значення визначення у сечі кетонових тіл, жовчних кислот і жовчних пігментів

11.1. Вказати причину появи у сечі кетонових тіл, жовчних кислот і жовчних пігментів та клініко-діагностичне значення їх визначення

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 16

1. У хворого закупорка загальної жовчної протоки. Як це впливатиме на хімічний склад сечі? Спрогнозуйте можливі наслідки такого стану.

2. У харчовому раціоні людини переважають білки і практично виключені вуглеводи. Як це впливатиме на фізико-хімічні властивості та хімічний склад сечі?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	У хворого сеча у кількості 8 л на добу має питому вагу 1,006. При недостатності функції якого гормону виникає це захворювання?	А.* Вазопресину В. Інсуліну С. Йодтироніну D. Глюкокортикоїдів Е. Соматотропіну	
2.	В сечі хворого виявлено збільшення концентрації проліну та оксипроліну. Порушення метаболізму якого білка можна передбачити у даного пацієнта ?	А. *Колагену В. Гемоглобіну С. Міозину D. Фібриногену Е. Протромбіну	
3.	З метою ранньої діагностики вагітності досліджується сеча жінки. Поява яких гормонів в сечі вірогідно свідчить про вагітність ?	А. *Хоріонічний гонадотропін В. Естріол С. 17-β-естрадіол D. Тестостерон Е. Прогестерон	
4.	В сечі хворого виявлено цукор, кетонові тіла, вміст глюкози в	А. *Цукровий діабет В. Атеросклероз	

	крові становить 10,1 ммоль/л. Наявність якого захворювання можна припустити у хворого ?	С. Токсичний гепатит D. Панкреатит E. Інфаркт міокарду	
5.	Чоловік 55 років, що страждає на болі в нирках, надійшов в лікарню. При ультразвуковому обстеженні пацієнта виявлено ниркові камені. Наявність якої речовини в сечі є найвірогіднішою причиною утворення каменів в даного пацієнта?	A. *Сечової кислоти B. Білірубін C. Білівердин D. Уробілін E. Креатинін	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Біохімічні механізми регуляції водно-сольового обміну та роль нирок в утворенні сечі.

План

1. Роль вазопресину, альдостерону та натрійуретичного гормону передсердь у регуляції водно-електролітного обміну.
2. Механізм утворення сечі: фільтрація, реабсорбція, секреція та екскреція.
3. Кліренс як показник клубочкової фільтрації.

Рекомендована література:

1. І.Л.Шлапак, О.А.Галушко. Клінічна фізіологія водно-електролітного обміну //Академія інфузійної терапії. – 2015, № 2. – С. 2-12.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 467 – 484.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 551 - 559.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 588 – 592, 595 – 604.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 107, 537 — 556.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 382-397.
6. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – С. 243 - 252.
7. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – С. 303 – 316.

8. Обмін вуглеводів: Біохімічні та клінічні аспекти. / Склярів О.Я., Сергієнко О.О., Фартушок Н.В. та ін. – Львів: Світ, 2004. – С. 52 – 53.
9. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 263 – 274.
10. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. "Harper's Biochemistry" 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
11. Nelson D.L., Cox M.M. "Lehninger Principles of Biochemistry" fifth edition. – New York. – W.H. Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
12. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. "Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics" 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Біологічна хімія /Л.В. Вороніна, В.Ф. Десенко, Н.Н. Мадієвська та ін. – Харків: Вид – во НФАУ „Основа”, 2000. – С. 539 - 545.
2. Дядик О.І. Роль дослідження сечового синдрому у клінічній практиці // Лаб. діагностика. – 2002. – № 2. – С. 61 – 68.
3. Зербіно Д.Д. Судинна патологія нирок: Монографія/ Д.Д.Зербіно, М.М.Багрій, О.О.Дядик та ін.. – Вінниця:- Нова книга, 2015. – 456 с.
4. Клінічна біохімія. Навчальний посібник / За ред. проф. О.П. Тимошенко. – Київ: Професіонал, 2005. – 292 с.
5. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – С. 83 – 84, 86 – 87.

Тема № 17. Дослідження процесів м'язового скорочення.

Мета заняття: Знати склад і біохімічні особливості метаболізму м'язової тканини, її функціонування в нормі і при деяких патологіях. Вміти кількісно визначати креатинін і креатин у сечі для діагностики захворювань.

Актуальність теми: У м'язовій тканині є специфічні риси метаболізму в залежності від віку людини, патологічних станів в них, викликаних як ендогенними, так і екзогенними факторами. Тому в клініці особливе місце займають біохімічні методи діагностики її функціонування.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

Знати принцип методу кількісного визначення креатиніну та креатину в сечі за методом Фоліна; вміти інтерпретувати отримані дані;

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Засвоїти біохімічний склад м'язів і вміти трактувати роль білків в побудові їх структури.
- Вміти трактувати біохімічні механізми скорочення і розслаблення м'язового волокна.

- Вміти аналізувати шляхи енергетичного забезпечення м'язового скорочення і розслаблення. Роль АТФ і креатинфосфату в даних процесах.
- Вміти аналізувати метаболічні зміни при хронічних серцевих захворюваннях та м'язових дистрофіях.
- Вміти аналізувати біохімічні зміни у функціонуванні м'язової тканини при інфаркті міокарда та метаболічних міопатіях.

Базові знання

Дисципліна: біологія, біологічна, біоорганічна хімії.

Отримані навички: вміти писати структуру та реакції утворення креатинфосфату.

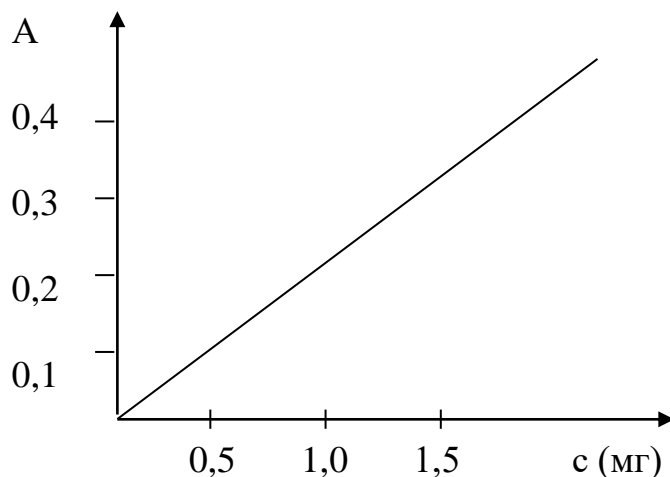
Теоретичні питання

1. Ультраструктура та біохімічний склад міоцитів; структурна організація саркомерів. Білки міофібрил: міозин, актин, тропоміозин, тропонін. Молекулярна організація товстих та тонких філаментів.
2. Екстрактивні речовини м'язів, азотисті і безазотисті, їх хімічна природа і роль. Роль іонів Ca^{2+} в регуляції скорочення та розслаблення скелетних і гладеньких м'язів.
3. Молекулярні механізми м'язового скорочення: сучасні уявлення про взаємодію м'язових філаментів. Особливості скорочення скелетних м'язів. Особливості скорочення гладеньких м'язів.
4. Сучасні уявлення про енергетичне забезпечення скорочення і розслаблення м'язового волокна. Макроергічні сполуки м'язів. Структура, утворення і роль АТФ, креатинфосфату, креатинфосфокіназ, джерела АТФ у м'язах.
5. Клітинна організація та особливості обміну м'язової тканини серця. Особливості біоенергетичних процесів у міокарді та регуляції скорочення кардіоміоцитів.
6. Серце як ендокринний орган. Кардіопептиди, їх роль.
7. Біохімічні зміни при інфаркті міокарда. Зміна активності ензимів плазми крові та інших маркерів при гострому інфаркті міокарду в динаміці.
8. Метаболічні зміни при хронічних серцевих захворюваннях.
9. Біохімічні зміни та діагностика при м'язових дистрофіях.
10. Патобіохімія м'язів – міопатії. Метаболічні міопатії. Порухення обміну речовин у скелетних м'язах при старінні.
11. Патобіохімія гіпертонічної хвороби. Зміни біохімічних показників на різних стадіях гіпертонічної хвороби та їх оцінка. Симптоматичні артеріальні гіпертензії.

Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення креатиніну в сечі за методом Фоліна:

Принцип методу. Метод базується на кольоровій реакції (реакція Яффе) креатиніну з пікриновою кислотою в лужному середовищі з подальшим визначенням інтенсивності забарвлення на ФЕКу. Концентрацію креатиніну в сечі знаходять за калібрувальним графіком.



Крива залежності оптичної густини розчину креатиніну від його концентрації

Матеріальне забезпечення: насичений розчин пікринової кислоти, 10% розчин гідроксиду натрію, ФЕК, мірні циліндри на 100 мл, мірні піпетки, скляні палички.

Хід роботи: В один мірний циліндр відміряють 0,5 мл сечі (дослід), а в другий – 0,5 мл дистильованої води (контроль). В обидва циліндри додають по 0,2 мл 10% гідроксиду натрію і по 3 мл насиченого розчину пікринової кислоти, перемішують вміст циліндрів, залишають на 5 хв, потім доводять дистильованою водою до 100 мл, перемішують скляною паличкою і вимірюють на ФЕКу екстинкцію дослідів проти контролю в кюветах товщиною шару 1 см із зеленим світлофільтром.

Знаючи екстинкцію, за калібрувальним графіком визначають вміст креатиніну в досліді і розраховують кількість креатиніну, виділеного з сечею за добу за формулою:

$$X = \frac{a \times V_{\text{доб}}}{V_{\text{досл}}} ;$$

де a – кількість креатиніну, знайдена за калібрувальним графіком;

$V_{\text{доб}}$ – добовий об'єм сечі, мл;

$V_{\text{досл}}$ – об'єм сечі, взятий для аналізу, мл;

(коефіцієнт перерахунку в одиниці СІ (ммоль/доб) дорівнює 8,84)

Пояснити отриманий результат. Зробити висновки.

Клініко-діагностичне значення. В середньому за добу з сечею виділяють креатиніну у чоловіків 8,8-17,7 ммоль/добу (1,0-2,0 г/добу), а у жінок – 7,1-15,9 ммоль/добу (0,8-1,8 г/добу). Збільшення виділення креатиніну спостерігається при надмірному вживанні м'ясної їжі (екзогенний креатинін), при розпаді білків протоплазми, при посиленій фізичній роботі, акромегалії, при цукровому і нецукровому діабетах, інфекційних та інших захворюваннях (ендогенний

креатинін). Виділення креатиніну значно зменшується при захворюваннях нирок, м'язовій дистрофії, гіпертиреозі, анемії, лейкемії, у старшому віці, при хронічному нефриті з уремією (при цьому вміст його в крові збільшується). Креатинін, на відміну від багатьох інших низькомолекулярних речовин, не реабсорбується і через те за його екскрецією з сечею можна оцінювати стан клубочкової фільтрації.

Кількісне визначення креатину в сечі.

Креатин у сечі визначають тим самим методом, що й креатинін, попередньо перетворивши креатин у креатинін у кислому середовищі при нагріванні. Нормальна екскреція креатину з сечею становить у чоловіків 0 – 0,3 ммоль/добу, у жінок 0 – 0,61 ммоль/добу. У сечі здорової дорослої людини при нормальному фізичному навантаженні креатину, як правило, немає. Поява його в сечі – креатинурія – спостерігається при підвищеному м'язовому навантаженні, у період росту дітей (до 14 – 17 років), у період вагітності, у ранньому післяродовому періоді, при вуглеводному і білковому голодуванні, у осіб похилого віку, при загоюванні значних переломів, оперативних втручаннях. Креатинурія спостерігається при посиленому розпаді тканин (опіки, рак, туберкульоз), авітамінозі Е, цукровому діабеті, паренхіматозному гепатиті.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Клініко-діагностичне значення визначення креатину і креатиніну в сечі? Пояснити принцип методу визначення.
2. В яких одиницях вимірюють кількість креатиніну в сечі?
3. Про що свідчить збільшення чи зменшення креатиніну в сечі?
4. Чим пояснити, що за кількістю креатиніну в сечі оцінюють стан клубочкової фільтрації?
5. Назвіть причини креатинурії.
6. У хворого виявлено гіповітаміноз Е. Як це вплине на функцію м'язів?
7. Для хворих з недостатністю тіаміну характерний ряд неврологічних симптомів: втрата рефлексів, збудливість, плутаність свідомості. Поясніть, чому нестача тіаміну впливає на функції мозку?
8. Опишіть визначення вмісту креатиніну та креатину в сечі за методом Фоліна.
9. Які патологічні процеси можна діагностувати за змінами вмісту креатиніну та креатину в сечі?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №17

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Ультраструктура та біохімічний склад міоцитів; структурна організація саркомерів. Білки міофібрил: міозин, актин, тропоміозин, тропонін. Молекулярна організація товстих та тонких філаментів.

- 1.1. Описати ультраструктуру та вказати біохімічний склад міозитів
- 1.2. Охарактеризувати структурну організацію саркомерів (І-диски, А-диски, Н-зона)
- 1.3. Дати структурну та функціональну характеристику білків міофібрил
- 1.4. Описати організацію товстих та тонких філаментів (ниток), що входять до складу саркомера
2. Екстрактивні речовини м'язів, азотисті і безазотисті, їх хімічна природа і роль. Роль іонів Ca^{2+} в регуляції скорочення та розслаблення скелетних і гладеньких м'язів.
 - 2.1. В конспекті дати визначення та перелічити екстрактивні речовини м'язів, їх азотисті та безазотисті компоненти; вказати хімічну природу та метаболічну роль у функціонуванні м'язової тканини
 - 2.2. Вказати роль змін цитозольної концентрації йонів Кальцію в регуляції скорочення та розслаблення посмугованих та непосмугованих м'язів.
3. Молекулярні механізми м'язового скорочення: сучасні уявлення про взаємодію м'язових філаментів. Особливості скорочення посмугованих(скелетних) м'язів. Особливості скорочення непосмугованих (гладеньких м'язів).
 - 3.1. В конспекті описати сучасну модель м'язового скорочення (модель Хакслі) та викласти її головні постулати
 - 3.2. Описати послідовність потоку біохімічної інформації, що призводить до скорочення непосмугованих (гладеньких) м'язів
4. Сучасні уявлення про енергетичне забезпечення скорочення і розслаблення м'язового волокна. Макроергічні сполуки м'язів. Структура, утворення і роль АТФ, креатинфосфату, креатинфосфокіназ, джерела АТФ у м'язах.
 - 4.1. Перелічити макроергічні сполуки м'язів, написати структуру та вказати роль їх та креатинфосфокіназ у енергетичному забезпеченні функціонування м'язової системи
 - 4.2. Написати реакції утворення креатинфосфату із зазначенням їх клітинної локалізації.
 - 4.3. В конспекті вказати метаболічні шляхи, які слугують джерелами АТФ для забезпечення скорочення м'язів
5. Клітинна організація та особливості обміну м'язової тканини серця. Особливості біоенергетичних процесів у міокарді та регуляції скорочення кардіоміоцитів.
 - 5.1. В конспекті описати клітинну організацію м'язової тканини серця.
 - 5.2. Дати характеристику біоенергетичним процесам, що відбуваються у міокарді і вказати основні процеси та субстрати енергозабезпечення його життєдіяльності
 - 5.3. В конспекті описати механізм регуляції скорочення кардіоміоцитів
6. Серце як ендокринний орган. Кардіопептиди, їх роль.
 - 6.1 В конспекті зазначити роль серця як ендокринного органу
 - 6.2. Дати визначення

кардіопептиди- це...

6.3. Вказати місце їх синтезу та локалізації.

6.4 Дати структурну та метаболічну характеристику передсердним натрійуретичним пептидам, натрійуретичному пептиду С-типу

7. Біохімічні зміни при інфаркті міокарда. Зміна активності ензимів плазми крові та інших маркерів при гострому інфаркті міокарда в динаміці

7.1. Описати метаболічні зміни при інфаркті міокарда із зазначенням клініко-біохімічних критеріїв цієї патології.

7.2. Описати клініко-діагностичне значення визначення, АсТ/АлТ, креатинкінази крові, КК-МВ/ККзаг, ЛДГ1/ вмісту білків: міоглобіну, тропоніну Т та тропоніну І із зазначенням відповідних норм.

7.3. Описати зміни активності ензимів плазми крові при гострому інфаркті міокарда (подати у вигляді графіка).

8. Метаболічні зміни при хронічних серцевих захворюваннях.

8.1 Описати зміни нейрогуморальної активності (зростання вмісту норадреналіну, підвищення активності ренін-ангіотензинальдостеронової системи) при хронічних серцевих захворюваннях

9. Біохімічні зміни та діагностика при м'язових дистрофіях.

9.1. Описати особливості метаболічних змін в обміні білків, вуглеводів, що характерні для м'язових дистрофій

9.2. Описати особливості метаболічних змін в обміні білків, вуглеводів, що характерні для м'язових дистрофій

9.3. Описати спадкові м'язові дистрофії Дюшена, Беккера із зазначенням клініко-біохімічних критеріїв оцінки цих патологій

10. Патобіохімія м'язів – міопатії. Метаболічні міопатії. Порушення обміну речовин у скелетних м'язах при старінні.

10.1. Дати визначення вродженим та набутим метаболічним міопатіям

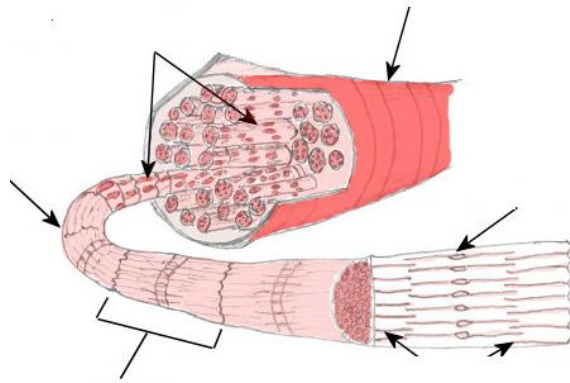
10.2. Описати ензимопатії пов'язані з: порушенням обміну глікогену; накопиченням жирних кислот; недостатністю карнітину; порушенням пуринового обміну. Дати визначення мітохондріальним міопатіям.

10.3. В конспекті описати порушення обміну речовин, що призводять до зниження біохімічних та функціональних можливостей скелетних м'язів у людей похилого віку.

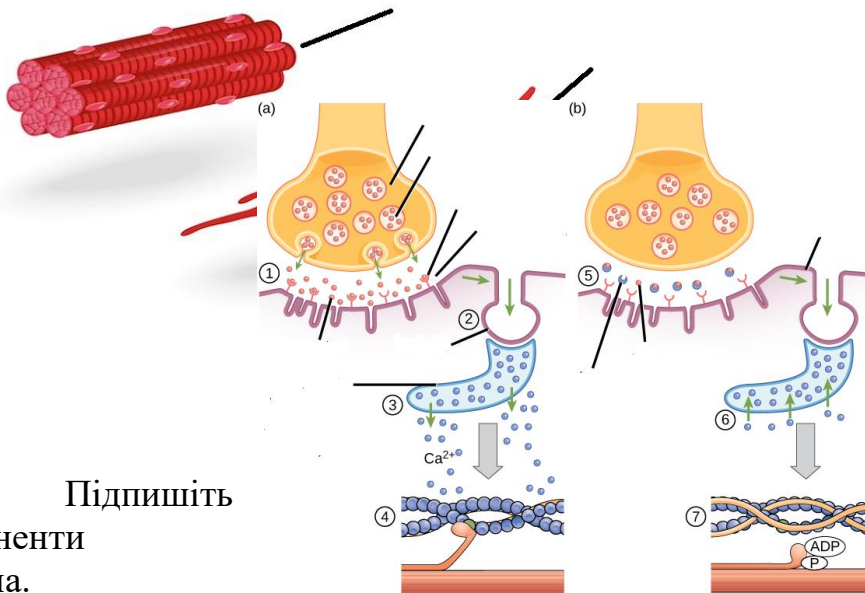
11. Патобіохімія гіпертонічної хвороби.

11.1. Описати біохімічні зміни , які лежать в основі розвитку виникнення артеріальної гіпертензії.

12. Підпишіть структурні компоненти м'язового волокна.

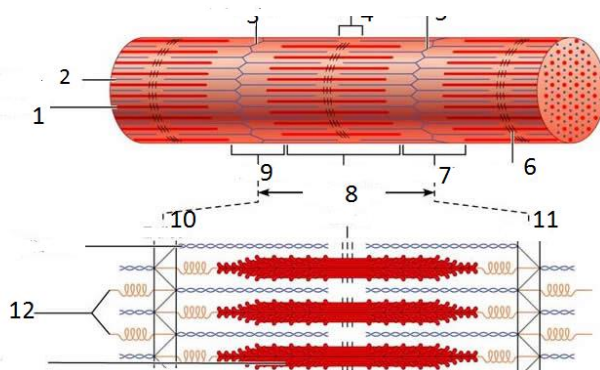


13. Підпишіть і поясніть, які волокна, представлені нижче, належать до гладких, скелетних і серцевого м'яза.



14. Підпишіть КОМПОНЕНТИ ВОЛОКНА.

ультраструктурні м'язового



15. Підпишіть структурні елементи, представлені на рисунку, і біохімічні процеси, позначені цифрами, в процесі м'язового скорочення.

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 17

1. Відомо, що характерною ознакою бронхіальної астми є спазм не посмугованих м'язів бронхіол. Які причини появи такого симптому?
2. Людині потрібно пробігти 2 км. Яка послідовність утворення енергії в м'язах?
3. Відомо, що скелетні м'язи бувають двох видів: червоні (повільні) і білі (швидкі). Чим пояснити повільність і водночас довготривалість роботи червоних м'язів?
4. Під час інтенсивного фізичного навантаження в людини енергетичний обмін певний час забезпечується гліколізом, а в період відпочинку-глюконеогенезом. Як взаємопов'язані ці два процеси в циклі Корі?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умова тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	При перетворенні глюкози в пентозному циклі утворюються фосфати різних моносахаридів. Яка з цих речовин може бути використана для синтезу нуклеїнових кислот?	А. *Рибоза-5-фосфат В. Рибулоза-5-фосфат С. Еритрозо-4-фосфат D. Седогептулозо-7-фосфат E. Ксилулозо-5-фосфат	
2.	Уотсон і Крік встановили, що подвійна спіраль ДНК стабілізується за рахунок зв'язків між комплементарними азотистими основами. Які це зв'язки?	А. * Водневі В. N-глікозидні С. Фосфодиефірні D. Пептидні E. Складно-ефірні	

3.	Який найбільш швидкий механізм утворення АТФ, що необхідний для термінового включення процесу м'язового скорочення?	А. *Генерація АТФ із креатинфосфату В. Аеробний гліколіз С. Анаеробний гліколіз D. Глікогеноліз у м'язах E. Окислення тригліцеридів	
4.	Хворому з підозрою на діагноз “прогресуюча м'язова дистрофія” був зроблений аналіз сечі. Яка сполука у сечі підтверджує діагноз даного пацієнта?	А. *Креатин В. Колаген С. Порфирин D. Міоглобін E. Кальмодулін	
5.	Назвіть фермент, визначення якого в крові є найбільш інформативним в перші години після виникнення інфаркту міокарда:	А. *Креатинфосфокіназа В. Аспартатамінотрансфераза С. Аланінамінотрансфераза D. Лактатдегідрогеназа E. Глутаматдегідрогеназа	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Ушкодження серця та біохімічна діагностика при деяких захворюваннях (тиреотоксикоз, гіпотеріоз, гіперкортицизм, цукровий діабет, захворювання паращитовидної залози, вплив радіації, порфірія, подагра, порушення харчування, алкогольне ушкодження серця).

План:

1. Вплив ендокринних захворювань на роботу міокарда.
2. Вплив радіації на синтез м'язових білків.
3. Ушкодження серця як наслідок:
 - а) порушення харчування;
 - б) алкогольної інтоксикації

Рекомендована література:

1. Булат, О. В. Вміст передсердного натрійуретичного гормону у хворих на цукровий діабет та тиреотоксикоз із супровідною артеріальною гіпертензією / О. В. Булат, С. Т. Зубкова. - Ендокринологія: наук.-практ. журн./ Ін-т ендокринол. та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України. - Київ. - 2014. - С.280-281.
2. Сергієнко, В. О. N-термінальний натрій уретичний мозковий пептид,

параметри інсулінової резистентності у хворих на цукровий діабет 2-го типу та ішемічну хворобу серця / В. О. Сергієнко [та ін.]. - Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія: наук. мед. журн./ МОЗ України, Український НПП ендокрин. хірургії, трансплантац. ендокр. органів і тканин . - Київ. - 2012. - № 3. - С.62-65.

3. Лифшиц, Владимир Михайлович. Биохимические анализы в клинике: справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова. - 5-е изд., перераб. и доп. - Москва : Триада-Х, 2002. - 208 с.
4. Клінічна біохімія: підруч. [для лікарів-інтернів та слухачів закл. (ф-тів) післядипломної освіти] / [авт. кол.: В. М. Проценко, Д. О. Микитенко, І. М. Кліщ та ін.] ; за ред. Г. Г. Луньової ; [рец.: Л. С. Мхітарян, Г. Г. Нікуліна] ; МОЗ України, Нац. мед. акад. післядиплом. освіти ім. П.Л.Шупика МОЗ України. - Київ : Атіка, 2013. - 1156 с.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 485 – 496.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 585 – 595.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 300 – 308/ 669-687.
4. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. – С. 587-600.
5. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярів О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 318с.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 409-426.
7. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія: Посібник / Склярів О.,Сольські Я.,Великий М. та ін. – Львів:Кварт. – 2008. –С. 38 -46.
8. Клінічна біохімія/ За ред. проф. Склярів О.Я.- К.: «Медицина », 2006. – С. 101 – 103
9. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
10. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
11. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 384 с.
2. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
3. Клиническая биохимия: Учебник для студентов мед.вузов /А.Я.Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Леонов и др. – Харьков: Факт, 2005. – 456с.
4. Клиническая биохимия: Учебное пособие для вузов / В.Н. Бочков, А.Б. Добровольский, Н. Е. Кушлинский и др. – ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 521с.
5. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы, нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками. // Биохимия. – 2005. – том 70, вып. 1. – с. 3
6. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 332 – 351.

Тема № 18. Дослідження біохімічних складників сполучної тканини.

Мета заняття: Знати склад і біохімічні особливості метаболізму сполучної тканини, її функціонування в нормі і при патології. Уміти кількісно визначати гідроксипролін (оксипролін) у сечі для діагностики захворювань сполучної тканини.

Актуальність теми: Однією з важливих проблем сучасної медицини є дослідження порушення метаболізму в сполучній тканині при набутих та спадкових захворюваннях, для чого необхідно володіти біохімічними тестами з метою своєчасної діагностики та правильного лікування.

Уміння та навички, які потрібно набути в результаті виконання роботи:

- Давати морфологічну та біохімічну характеристику компонентам сполучної тканини (фібрилярні структури, основна міжклітинна речовина);
- Знати принцип методу кількісного визначення гідроксипроліну та виявлення глікозамінгліканів (мукополісахаридів) у сечі, давати оцінку отриманим результатам.

За даними клініко-ситуаційних задач та тестів:

- Пояснювати біохімічні зміни в сполучній тканині при старінні та деяких патологічних станах (мукополісахаридозах, колагенозах).

Базові знання

Дисципліна: біоорганічна, біологічна хімії

Отримані навички: вміти писати структурні формули амінокислот, реакції дезамінування, декарбоксилування, трансамінування амінокислот.

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика біохімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини: волокна (колагенові, ретикулярні, еластичні) й основна аморфна речовина.
2. Білки волокон сполучної тканини: колагени, еластин, глікопротеїни та протеоглікани.
3. Біосинтез колагену та утворення фібрилярних структур.
4. Структура та роль складних вуглеводів основного аморфного матриксу сполучної тканини – глікозаміногліканів (мукополісахаридів). Механізми участі молекул глікозаміногліканів (гіалуронової кислоти, хондроїтин-, дерматан-, кератансульфатів, гепарину) у побудові основної речовини сполучної тканини. Розподіл різних глікозаміногліканів в органах і тканинах людини.
5. Патобіохімія сполучної тканини: біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика.

Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення гідроксипроліну (оксипроліну) у сечі.

Принцип методу: метод базується на окисненні гідроксипроліну до сполуки, близької за будовою до піролу, яка при конденсації з реактивом Ерліха (п-диметиламінобензальдегід) дає рожеве забарвлення. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації гідроксипроліну.

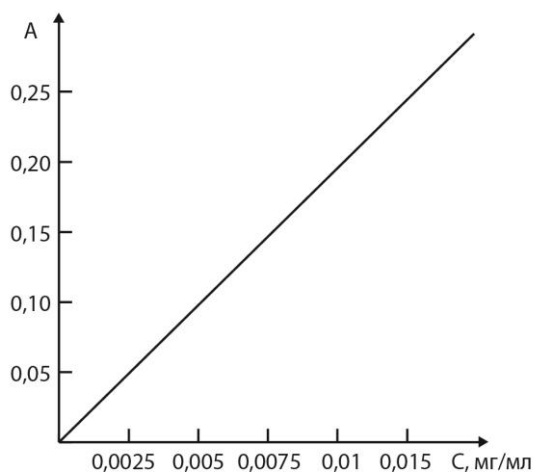
Матеріальне забезпечення: реактив Ерліха, 3 н розчин сірчаної кислоти, 6 % розчин гідрогену пероксиду, 2,5 н розчин натрію гідроксиду, 0,01 М розчин міді сульфату, водяна баня, ФЕК, мірні піпетки, пробірки, лійка, фільтрувальний папір.

Хід роботи. У першу пробірку відміряють 1мл профільтрованої сечі, у другу – 1мл дистильованої води (контрольна проба). В обидві пробірки додають по 1 мл 0,01 М розчину міді сульфату, по 1мл 2,5 н розчину натрію гідроксиду, по 1мл 6 % розчину гідрогену пероксиду. Проби перемішують 5 хв, після чого нагрівають 3 хв у киплячій водянній бані, потім пробірки охолоджують водою з-під крану. У пробірки додають по 4 мл 3 н розчину сірчаної кислоти і по 1 мл реактиву Ерліха, ставлять на 1 хв у кип'ячу водяну баню, охолоджують, а потім вимірюють оптичну густину на ФЕКу проти контролю при довжині хвилі $\lambda = 500 - 560$ нм (зелений світлофільтр) у кюветі завтовшки 10 мм.

За калібрувальним графіком визначають вміст гідроксипроліну в дослідній пробі і розраховують кількість гідроксипроліну, виділеного з сечею впродовж доби за формулою:

$$X = \frac{a \times V_{\text{доб}}}{V_{\text{проби}}}$$

де a – кількість гідроксипроліну, знайдена за калібрувальним графіком;
 $V_{\text{доб}}$ – добовий об'єм сечі, мл; V проби – об'єм сечі, взятий для аналізу, мл.



Пояснити отриманий результат. Зробити висновок

Клініко-діагностичне значення. Вміст гідроксипроліну в сечі та крові характеризує інтенсивність катаболізму колагену та швидкість обміну цієї амінокислоти. Гідроксипролін може знаходитись у зв'язаному з білками та пептидами стані, а також у вільному стані як у сироватці крові, так і в сечі. У 10 – 20-річному віці з сечею виділяється до 200 мг гідроксипроліну за добу, а у дорослих – 15 – 50 мг. Зростання цього показника спостерігають при колагенозах (ревматизм, ревматоїдний артрит, системна склеродермія, дерматоміозит), при гіперпаратиреозі, хворобі Педжета (до 1г за добу). Ще більше виділяється гідроксипроліну при спадковій гіпергідроксипролінемії, що спричинено дефектом ферменту гідроксипроліноксидази, у результаті чого порушується обмін гідроксипроліну.

Контрольні питання до практичної роботи теми 18

1. У крові та сечі жінки віком 63 роки, яка хворіє на ревматизм, підвищена концентрація оксипроліну. Що є основною причиною гіпероксипролінемії?
2. До фібрилярних елементів сполучної тканини належать колаген, еластин і ретикулін. Вкажіть амінокислоту, яка входить тільки до складу колагену, і визначення якої в біологічних рідинах використовують для діагностики захворювань сполучної тканини?
3. Пацієнт обстежується в клініці з приводу підозри на колагеноз. За збільшенням у крові якого показника можна підтвердити цю патологію?
4. У хворих на колагеноз спостерігається деструкція сполучної тканини. Які дослідження лабораторних показників крові та сечі доцільно призначити хворому з підозрою на наявність колагенозу (хронічна форма)?

Інструктивно-методичні матеріали до теми №18

Алгоритм до підготовки теоретичних питань:

1. Загальна характеристика біохімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини: волокна (колагенові, ретикулярні, еластичні) й основна аморфна речовина.

1.1. Описати особливості структури сполучної тканини та вказати її функції

1.2. Описати особливості біохімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини

2. Білки волокон сполучної тканини: колагени, еластин, глікопротеїни та протеоглікани.

2.1. Дати характеристику колагену: особливості будови молекули тропоколагену; типи колагену та їх переважання у різних видах сполучної тканини; функції.

2.2. Дати характеристику еластину: функції; особливості будови молекули еластину; механізм утворення поперечних зшивок; особливості структури (відобразити формули) та функції десмозину та ізодесмозину

2.3. Дати характеристику протеогліканам сполучної тканини: функції, особливості структури мономера протеоглікана, навести приклади протеогліканів та вказати, з яких глікозаміногліканів вони побудовані і місце локалізації

2.4. Дати характеристику глікопротеїнам: функції, особливості будови, представники, локалізація

3. Біосинтез колагену та утворення фібрилярних структур.

3.1. Описати етапи синтезу колагену:

-внутрішньоклітинний: утворення препроколагену та проколагену (механізм гідроксилування та глікозилування ланцюгів проколагену; роль ферментів і вітаміну С), формування дисульфідних зв'язків;

-позаклітинний: утворення тропоколагену з формуванням поперечних зшивок, мікрофібрил, колагенових волокон

3.2. Описати роль матричних металопротеїназ (ММП) у розпаді колагену

3.3. Назвати тести для оцінки інтенсивності обміну колагену

4. Структура та роль складних вуглеводів основного аморфного матриксу сполучної тканини – глікозаміногліканів (мукополісахаридів).

4.1. Дати характеристику глікозаміногліканам (гіалуронова кислота, хондроїтин-4-сульфат, хондроїтин-6-фосфат, дерматансульфат, кератансульфат, гепарансульфат, гепарин) за схемою:

- структурна формула дисахаридної одиниці, особливості будови молекули;

- локалізація в органах і тканинах;

- функції

5. Патобіохімія сполучної тканини: біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика.

5. 1. Дати визначення поняттю

Мукополісахаридози – це...

5. 2. У вигляді таблиці дати характеристику мукополісахаридозам за схемою:

- назва патології,
- дефектний фермент,
- негідролізований глікозаміноглікан,
- клінічні прояви

5.3. Дати визначення поняттю «колагеноз»

5.4. Охарактеризувати природжені колагенози за схемою:

- назва патології,
- дефектний фермент,
- клінічні прояви

5.5. Навести приклади системних уражень сполучної тканини, вказати основні морфологічні прояви та біохімічні зміни.

Матеріали для самоконтролю

Ситуаційні задачі до теми 18

1. Деякі патогенні мікроорганізми здатні руйнувати гіалуронову кислоту, виділяючи ензим гіалуронідазу. У чому полягає їх перевага перед мікробами, які не виявляють гіалуронідазної активності?
2. Пацієнт з опіковою хворобою перебуває під загрозою утворення тромбів у кровоносних судинах через посилення згортання крові. Який глікозаміноглікан можна використати, щоб запобігти утворенню тромбів?

Тести інтегрального іспиту Крок-1

Пояснити, чому вибрана відповідь є правильною, а інші дистрактори є неправильними.

№ з/п	Умови тестового завдання	Правильна відповідь та дистрактори	Пояснення
1.	При пародонтозі відбувається деструкція білкових і полісахаридних компонентів сполучної тканини. Який із наведених білків входить до складу сполучної тканини:	А.* Колаген В. Альбумін С. Трансферин D. Церулоплазмін E. Антитрипсин	
2.	В якості антикоагулянтів використовують різноманітні речовини, в тому числі полісахарид природного походження, а саме:	А. *Гепарин В. Гіалуронова кислота С. Дерматансульфат D. Хондроїтинсульфат E. Декстран	
3.	Крихкість судин, руйнування емалі та дентину при скрбуті обумовлені порушенням дозрівання колагену. Який етап модифікації проколагену	А. Гідроксилування проліну В. Утворення поліпептидних ланцюгів С. Глікозилювання	

	порушується при цьому авітамініозі?	гідроксилізинових залишків D. Відрізання C-кінцевого пептиду E. Відрізання N-кінцевого пептиду	
4.	Відомо, що синовіальна рідина зменшує тертя суглобових поверхонь. При ревматизмі чи артриті її в'язкість знижується внаслідок деполімеризації (руйнування) такої речовини:	A. *Гіалуронової кислоти B. Глікогену C. Колагену D. Гепарину E. Альбуміну	
5.	Гіповітаміноз С призводить до зменшення утворення органічного матриксу, порушення синтезу колагену, тому що цей вітамін бере участь у процесах:	A.* Гідроксилювання проліну B. Карбоксилювання проліну C. Карбоксилювання лізину D. Гідроксилювання аргініну E. Гідроксилювання триптофану	

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Патохімія сполучної тканини: біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика.

План:

1. Склад сполучної тканини в нормі.
2. Основні причини та передумови виникнення патологічних змін у складі та структурі сполучної тканини.
3. Характеристика основних біохімічних показників, які використовують для діагностики захворювань сполучної тканини (мукополісахаридів і колагенозів).

Рекомендована література:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов/ под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина.-М.: ГЕОТАР-Медиа, 2010.- С. 256-270.
2. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека. – Москва: Мир. – 2004. – С. II, 311 – 318, II. 347 – 351.

Рекомендована література

Основна:

1. 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. 497 – 506.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 596 – 607.
 3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 655 – 666.
 4. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярова О.Я. – Львів, 2006. – С. 82 -116.
 5. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 557 - 574.
 6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 427-436.
 7. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
 8. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
 9. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
2. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – Москва: Мир, 2000. – 470 с.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека. – Москва: Мир. – 2004. – С. II, 311 – 318, II. 347 – 351.
4. Основи глікобіології: монографія / За ред. Н.О.Сибірної. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2015. – С. 332 – 362.
5. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я.Склярова. – К.”Здоров’я”, 2002, С.288 – 292.
6. Северин Е.С. Биохимия: учебник. – 2-е изд., испр. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 784 с.

Література

1. 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. – 544 с.
2. Біологічна хімія : підручник / Ю.І.Губський. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2011. – 664 с.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В.Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль:ТДМУ, 2014. – 702 с.
4. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л.Загайка, проф. К.В. Александрової. – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
5. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – 436 с.
6. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
7. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. – 744 с.
8. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярова О.Я. – Львів, 2006. – 432 с.
9. Обмін вуглеводів: біохімічні та клінічні аспекти / О.Я. Склярів, О.О. Сергієнко, Н.В. Фартушок, І.П. Федорович, М.Є. Гоцко: Навч.-метод. посібник. – Львів: Світ, 2004. – 112 с.
10. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я.Склярова. – К. "Здоров'я", 2002. - 298 с.
11. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – 218 с.
12. Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. – К.: Академперіодика, 2017. – 76 с.
13. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина . – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 384 с.
14. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Минск: Беларусь, 2000. – 300 с.
15. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000. – 469 с.
16. Мардашко А.А., Миронович Л.М., Степанов Г.Ф. Биологическая и биоорганическая химия: учеб. Пособие. 2-е изд. – К.: Каравелла, 2012. – 248 с.
17. Северин Е.С. Биохимия: учебник. – 2-е изд., испр. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 784 с.
18. Северин Е.С. Биохимия: учебник. – 5-е изд., испр. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2014. – 768 с.
19. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A.

- “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
20. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H. Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
21. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata : Books and Allied ltd, 2014.— 799 p.
22. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.