

**РОБОЧИЙ ЗОШИТ
ТА МЕТОДИЧНІ РОЗРОБКИ
ДЛЯ ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ
З БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ
ЧАСТИНА друга**

Студент (ІПБ)

Факультет | стоматологічний

Курс, група

Робочий зошит та методичні розробки складено співробітниками кафедри клініко-лабораторної діагностики та фармакології УжНУ у відповідності до типових навчальних програм та навчального плану для вищих медичних закладів освіти України III-IV рівнів акредитації для спеціальності «Стоматологія» 7. 12010005 .

Обговорено та увалено на засіданні кафедри клініко-лабораторної діагностики та фармакології, протокол № 5 від 10 березня 2021 року

Тема 1. «Нуклеопротейни: визначення, будова. Нуклеїнові кислоти: визначення, класифікація, будова, характеристика, біологічне значення. Метаболізм нуклеотидів. Патологія обміну: гіперурикемія, подагра, оротатацидурія»

Актуальність теми. Нуклеопротейни – це складні білки, небілковою частиною яких є нуклеїнові кислоти. Нуклеїнові кислоти – це біополімери, мономерами яких є мононуклеотиди. Нуклеотиди – це трьохкомпонентні сполуки, які складаються з азотистої основи, пентози та залишку фосфорної кислоти (нуклеозидмонофосфати). Нуклеопротейни є основою спадкового апарату клітин – хромосом, що забезпечують збереження та передачу генетичної інформації завдяки нуклеїновим кислотам (ДНК та РНК). З ними пов'язані поділ, мінливість та формування спадкових ознак організму. Вільні нуклеотиди, їх ди- та трифосфати також виконують важливі регуляторні функції, контролюють біоенергетику клітин та швидкість метаболічних процесів. Унікальна роль ДНК та РНК в організмі тісно пов'язана з особливостями їх будови. Структура двохспіральної молекули ДНК була відкрита у 1953 році Д.Уотсоном та Ф. Кріком. Передумовами для цього відкриття стали правила комплементарності азотистих основ Чаргаффа.

Структурними компонентами ДНК та РНК є нуклеотиди пуринового і піримідинового ряду. Біосинтез нуклеотидів є життєво важливим процесом, оскільки забезпечує утворення нуклеїнових кислот, нуклеотидних коферментів, макроергів (АТФ та ін.), необхідних для реалізації всієї сукупності генетичної інформації в клітині. Ключовими проміжними метаболітами синтезу пуринових нуклеотидів є інозитолмонофосфат (ІМФ), піримідинових – оротова кислота. Спадкові ензимопатії синтезу піримідинових нуклеотидів проявляються накопиченням оротової кислоти в крові та сечі (оротатацидурія) і ведуть до розвитку важкої мегалобластної анемії. Інгібітори синтезу нуклеотидів є потужними протипухлинними засобами.

Вільні нуклеотиди, які утворились при гідролізі нуклеїнових кислот (власних або харчових) і не були використані для біосинтетичних процесів, підлягають катаболізму з утворенням кінцевих продуктів - сечової кислоти (катаболізм пуринів), аміаку, β-аланіну та β-аміноізобутирату (катаболізм піримідинів). Посилення катаболізму пуринових нуклеотидів призводить до накопичення сечової кислоти в крові (гіперурикемії), відкладання її солей уратів в суглобах та нирках та розвитку подагри та сечокам'яної хвороби.. При спадковому дефіциті ферменту обміну пуринів гіпоксантин-гуанінфосфорибозилтрансферази (синдром Леша-Ніхана) виникає важка гіперурикемія, вторинна подагра та психоневрологічні розлади (самоагресія, паралічі). В нормі вміст сечової кислоти в сироватці крові - 0,2-0,3 ммоль/л (у чоловіків – 0,25-0,5 ммоль/л, у жінок - 0,15-0,4 ммоль/л)

Загальна мета заняття: трактувати будову, біологічне значення, особливості травлення нуклеопротейнів та їх структурних компонентів – нуклеїнових кислот, нуклеотидів, нуклеозидів; засвоїти закономірності синтезу і катаболізму пуринових та піримідинових нуклеотидів в тканинах, трактувати клініко-біохімічні прояви порушень нуклеотидного обміну

Конкретні цілі:

- ☐ знати будову нуклеопротейнів та їх структурних компонентів
- ☐ знати сутність правил комплементарності Чаргаффа
- ☐ характеризувати рівні структурної організації ДНК

- ☐ трактувати біологічне значення нуклеопротеїнів, нуклеїнових кислот, нуклеотидів та їх похідних
- ☐ шляхи поповнення пулу вільних нуклеотидів в клітині, механізм реутилізації готових азотистих основ та нуклеозидів
- ☐ механізм синтезу пуринових та піримідинових нуклеотидів *de novo*, ферменти, головні проміжні метаболіти, регуляцію та патологію
- ☐ механізм синтезу дезоксирибонуклеотидів, ферменти та коферменти
- ☐ механізм катаболізму пуринових та піримідинових нуклеотидів, ферменти, кінцеві метаболіти, регуляцію та патологію

Основні питання заняття:

1. Нуклеїнові кислоти: визначення, види, біологічне значення. Рівні структурної організації ДНК, правила Чаргаффа, модель Уотсона та Кріка
2. Особливості будови та функцій різних видів РНК
3. Нуклеотиди і нуклеозиди: визначення, структура, номенклатура, біологічне значення
4. Біосинтез пуринових нуклеотидів: джерела атомів пуринового ядра, механізм, ферменти, ключові проміжні метаболіти, регуляція (ретроінгібування)
5. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: джерела атомів піримідинового ядра, механізм, ферменти, ключові проміжні метаболіти, регуляція, патологія (оротатацидурия)
6. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Інгібітори синтезу дТМФ як протипухлинні засоби (структурні аналоги дТМФ, похідні птерину)
7. Катаболізм пуринових нуклеотидів в тканинах: механізм, ферменти, регуляція. Біохімічна характеристика патології обміну пуринів: гіперурикемія, подагра, синдром Леша-Ніхана, роль інгібіторів ксантиноксидази

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю

Тести для перевірки рівня знань

1. До складу рибонуклеозидів входять: А. лише азотисті основи В. азотисті основи та дезоксирибоза С. азотисті основи та рибоза D. азотисті основи, рибоза, фосфат Е. азотисті основи та глюкоза	2. Комплементарними азотистими основами є: А. аденін – цитозин В. цитозин – тимін С. аденін – тимін D. цитозин – псевдоурацил Е. цитозин – урацил
3. Розшифрували вторинну структуру ДНК: А. Самнер і Поллінг В. Уотсон і Крік С. Коренберг і Ніренберг D. Беліцер і Цибакова Е. Данілевський і Енгельгардт	4. До складу ДНК входить моносахарид: А. рибоза В. ксилулоза С. рибулоза D. дезоксирибоза Е. арабіноза
5. Мономерами нуклеїнових кислот є: А. амінокислоти В. моносахариди С. моонуклеотиди D. жирні кислоти Е. вітаміни	6. Крім ядра ДНК міститься ще в: А. цитоплазмі В. цитоплазматичній мембрані С. рибосомах D. мітохондріях Е. лізосомах
7. До складу т-РНК входять модифіковані	8. У клітинах організму еукаріотів ДНК

мінорні азотисті основи, а саме: A. цитозин B. урацил C. оксиметилцитозин D. аденін E. гуанін	знаходиться у зв'язаній з білками формі. Вкажіть білки, що з'єднані з молекулою ДНК та стабілізують її: A. інтерферони B. альбуміни C. глобуліни D. глутеліни E. гістони
9. Початковою сполукою в біосинтезі аденілової і гуанілової кислот є: A. оротова кислота A. ксантин B. D-рибозо-5-фосфат C. карбамоїлфосфат D. гіпоксантин	10. У дитини з сечею виділяється багато оротової кислоти, що є наслідком спадкового порушення: A. розпаду піримідинових нуклеотидів B. синтезу пуринових нуклеотидів C. розпаду пуринових нуклеотидів D. синтезу піримідинових нуклеотидів E. розпаду АТФ
11. Кінцевим продуктом обміну пуринових основ у людини є: A. інозинмонофосфат B. сечова кислота C. ксантин D. гіпоксантин E. алантоїн	12 Для синтезу піримідинових нуклеотидів потрібні всі наступні речовини, крім: A. вуглекислого газу B. глутаміну C. аспартату D. гліцину E. рибозо-5-фосфату
13. У дитини підвищена агресивність, відставання у розвитку, артрит. Рівень сечової кислоти у крові вдвічі перевищує норму. Генетично зумовлена нестача якого ферменту призводить до цієї патології? A. аденозинамінотрансферази B. гіпоксантин-гуанінфосфорибозил-пірофос-фаттрансферази C. ксантиноксидази D. тимідилатсинтетази E. Е. нуклеотидази	14 . Хворому на подагру лікар призначив алопурінол, який забезпечує: A. прискорення катаболізму піримідинових нуклеотидів B. збільшення швидкості виведення азотовмісних речовин C. конкурентне інгібування ксантиноксидази D. уповільнення реутилізації піримідинових нуклеотидів E. прискорення синтезу нуклеїнових кислот
15. Хворий, 46 років, звернувся до лікаря зі скаргою на біль у суглобах. Підвищений у крові вміст сечової кислоти. Ймовірнішою причиною цих змін є посилений розпад: A. УТФ B. УМФ C. ЦМФ D. АМФ E. ТМФ	16. Як протипухлинні засоби використовують інгібітори біосинтезу дезоксирибонуклеотидів, а саме: A. АТФ B. д ТТФ C. структурні аналоги фолієвої кислоти D. вітамін В12 E. дГТФ

Лабораторна робота.

Якісний аналіз нуклеопротеїнів дріжджів

Принцип. Якісний аналіз нуклеопротеїнів заснований на визначенні речовин, що входять до їх складу і вивільняються при гідролізі. Компоненти нуклеопротеїнів відкривають такими якісними реакціями: 1) поліпептиди - біуретовою реакцією, 2) пуринові основи - за утворенням осаду солей аргентуму, 3) фосфатну кислоту - за реакцією з амоній молібдатом, 4) пентозу – за реакцією Фелінга.

Схема повного гідролізу нуклеопротейнів:



Хід роботи:

1 етап. Приготування гідролізату дріжджів (виконують лаборанти). 1 г дріжджів поміщають у плоскодонну колбу на 100 мл, додають 20 мл 10% розчину сульфатної кислоти та 20 мл дистильованої води. Колбу закривають корком з довгою трубкою, кип'ятять протягом 1 години у витяжній шафі. Потім колбу охолоджують, вміст переносять в мірний циліндр, доводять до 100 мл дистильованою водою, фільтрують для видалення осаду. Для дослідження використовують фільтрат гідролізату дріжджів.

2 етап - виконують студенти (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1. Виявлення розчинних пептидів біуретовою реакцією		
1	Гідролізат дріжджів	1 мл
2	10% розчин NaOH	5 крапель
3	1% розчин CuSO ₄	1-2 краплі
Реєстрація забарвлення		
2. Срібна проба на пуринові основи		
1	Гідролізат дріжджів	5 крапель
2	2% аміачний розчин аргентум нітрату	5 крапель
Реєстрація наявності осаду через 3-5 хвилин		
3. Проба Фелінга на рибозу чи дезоксирибозу		
1	Гідролізат дріжджів	5 крапель
2	7% розчин CuSO ₄	5 крапель
3	Лужний розчин калій, натрій тартрат	
Перемішати, кип'ятити на водяній бані (100°C) 2-3 хвилини		
Реєстрація наявності осаду		
4. Молібденова проба на фосфатну кислоту		
1	Гідролізат дріжджів	5 крапель
2	Молібденовий реактив	10 крапель
Вміст пробірки кип'ятити на водяній бані (100°C) 2-3 хвилини. Охолодити		
Реєстрація наявності осаду		

Висновок: _____

Якісна реакція на сечову кислоту

Принцип. Сечова кислота володіє відновними властивостями і при нагріванні відновлює $\text{Cu}(\text{OH})_2$ до Cu_2O , який випадає в осад.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Кристали сечової кислоти	Додати пучку кристалів
2	10% розчин NaOH , мл	2
3	1% розчин CuSO_4 , краплі	16-20 (до утворення слабкої каламуті $\text{Cu}(\text{OH})_2$)
Кип'ятити на водяній бані (100°C) 2-3 хвилини		
Реєстрація наявності та забарвлення осаду		

Кількісне визначення сечової кислоти в сечі

Принцип. Сечова кислота в лужному середовищі відновлює фосфорновольфрамовий реактив (реактив Фоліна) з утворенням оксидів вольфраму ($\text{WO}_2 \cdot n\text{WO}_3$) синього кольору. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна кількості сечової кислоти в розчині.

Клініко-діагностичне значення. В нормі у людини виділяється від 1,2 до 7,1 ммоль сечової кислоти за добу. Екскреція сечової кислоти значно зростає при подагрі та синдромі Леша-Ніхана (гіперурикемія). При цьому рівень сечової кислоти також є високим в крові (гіперурикемія).

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		Контрольна (мірна)	Дослідна (мірна)
1	Дистильована вода, мл	1,5	-
2	Сеча (розведена в 50 раз), мл	-	1,5
3	Розчин натрію карбонату, мл	0,7	0,7
4	Реактив Фоліна, мл	0,05	0,05
5	Вода, мл	добавляють до 10 мл	добавляють до 10 мл
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі $\lambda=590$ нм, кювета $l=1,0$ см проти контролю			
Екстинкція		-	
Кількість сечової кислоти у пробі, мкмоль (знаходять за калібрувальною таблицею)		-	

Калібрувальна таблиця для визначення сечової кислоти

Екстинкція	Кількість сечової кислоти в мкмоль	Екстинкція	Кількість сечової кислоти в мкмоль
0,01	0,012	0,07	0,143
0,02	0,024	0,08	0,167
0,03	0,048	0,09	0,190
0,04	0,071	0,10	0,211
0,05	0,095	0,12	0,238

Розрахунок добової екскреції сечової кислоти:

Кількість сечової кислоти (X) в сечі розраховується за формулою:

$$X = \frac{a \cdot b \cdot V}{1,5 \cdot 1000} \text{ ммоль/добу, де:}$$

a - кількість сечової кислоти в пробі в мкмоль, що знайдена за калібрувальною таблицею; b - розведення сечі (в даному випадку в 50 разів); V - кількість сечі в мл, виділеної за добу; 1,5 - кількість розведеної сечі, що взята для дослідження; 1000 - коефіцієнт перерахунку мкмоль в ммоль.

Екскреція сечової кислоти за добу _____ ммоль

Висновок: _____

Дата

«_____» _____ 20__ р.

Підпис викладача:

Тема 2. «Молекулярна біологія. Генетичний код. Реплікація. Транскрипція. Процесінг. Інгібітори транскрипції»

Актуальність теми: Для всіх живих організмів властива біохімічна індивідуальність, що визначається генетично запрограмованим специфічним набором притаманних тільки йому білкових молекул. Ділянка молекули ДНК, що несе цілісну інформацію про будову однієї молекули білка, називається геном. Інформація про структуру індивідуальних білків організму закодована в ДНК за допомогою генетичного коду і передається в ряді поколінь. Генетичний (біологічний) код - це спосіб запису інформації про послідовність амінокислот в білку за допомогою послідовності нуклеотидів ДНК (або РНК). Він являє собою комбінацію з трьох нуклеотидів, що відповідає за включення певної амінокислоти в білок, і є універсальним для всіх живих організмів. Першим етапом передачі генетичної інформації є процес реплікації - подвоєння молекули ДНК, який забезпечує рівномірний розподіл спадкової інформації серед дочірніх клітин під час мітозу. Знання механізмів реплікації є важливим для розуміння причин порушень поділу клітин і механізмів дії лікарських засобів, що впливають на розмноження клітин.

Транскрипція (синтез РНК на матриці ДНК) є проміжним етапом в реалізації генетичної інформації і першим етапом біосинтезу білка. Проходить в ядрі клітин в будь-який період клітинного циклу. В процесі транскрипції утворюються всі види РНК, але головним вважають синтез мРНК (іРНК) - носіїв інформації про послідовність амінокислот в білках. Цей етап регулюється різними факторами, які визначають активність процесів біосинтезу білків в клітинах в цілому. Важливим етапом транскрипції є процесінг, який забезпечує утворення функціонально «зрілих» молекул мРНК, які в подальшому слугують матрицями для утворення білків на рибосомах. Знання молекулярного механізму транскрипції потрібне для розуміння регуляції біосинтезу білка в клітинах, дії різних токсинів, антибіотиків та протипухлинних препаратів.

Загальна ціль: знати молекулярні основи генетичного коду, етапи передачі генетичної інформації та механізм реплікації як одного з них; засвоїти молекулярні механізми та біологічне значення транскрипції та процесінгу, трактувати дію інгібіторів транскрипції

Конкретні цілі:

- ☐ знати визначення, властивості та біологічне значення генетичного коду
- ☐ трактувати напрямки та етапи передачі генетичної інформації
- ☐ знати визначення, біологічне значення, механізм, етапи та фактори реплікації
- ☐ трактувати сутність експерименту М.Мезельсона та Ф.Сталя
- ☐ пояснювати механізм дії інгібіторів реплікації
- ☐ знати визначення, біологічну роль, механізм, етапи і фактори транскрипції
- ☐ знати механізм та біологічне значення процесингу
- ☐ трактувати дію інгібіторів транскрипції

Основні питання теми:

1. Генетичний код: визначення, властивості, біологічне значення. Напрямки та основні етапи передачі генетичної інформації
2. Реплікація ДНК: визначення, загальні закономірності, біологічне значення. Фактори та етапи реплікації.
3. Утворення реплікативної вилки, «точки огі», механізм синтезу антипаралельних ланцюгів ДНК, фрагменти Оказаки. Інгібітори реплікації
4. Фактори та ферменти транскрипції. Характеристика РНК-полімерази прокаріот та еукаріот. Сигнали транскрипції - промотори та паліндроми.
5. Механізм та етапи транскрипції.
6. Посттранскрипційна модифікація РНК (процесинг). Особливості транскрипції у еукаріот.
7. Інгібітори транскрипції: токсини, антибіотики, протипухлинні алкалоїди.

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

1. Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

а) схематично зобразіть напрямки та основні етапи передачі генетичної інформації (центральну догму молекулярної біології);

б) напишіть кодони, які кодують включення метіоніну в білковий ланцюг, та беззмістовні кодони

2. Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Реплікація – це синтез: А. ДНК на РНК В. ДНК на ДНК С. РНК на РНК D. РНК на ДНК Е. білка на рибосомах	2. Для генетичного коду характерні: А. універсальність В. виродженість С. однаправленість D. безперервність Е. усі відповіді вірні
3. У реплікаційній вилці синтезуються: А. один ланцюг іРНК і один рРНК В. два однаправлені ланцюги ДНК С. два протилежно направлені ланцюги D. ДНК Е. один ланцюг іРНК і один тРНК F. один ланцюг ДНК і один РНК	4. На відстаючому ланцюзі “реплікативної вилки” ДНК-полімераза формує фрагменти Оказаки. Назвіть фермент, який зшиває їх в єдиний ланцюг А. праймаза В. ДНК-полімераза С. РНК-полімераза D. ДНК-лігаза Е. екзонуклеаза
5. В генетичному коді міститься ініціюючих кодонів в кількості:	6. Розкручує ланцюги ДНК: А. полінуклеотидфосфорилаза

A. 64 B. 61 C. 3 D. 1 E. 5	B. хеліказа C. гіраза D. РНК-полімераза E. ДНК-полімераза
7. Виродженість генетичного коду означає, що: A. один кодон кодує одну амінокислоту B. один кодон кодує декілька амінокислот C. одна амінокислота кодується декількома кодонами D. одна амінокислота кодується одним кодоном E. три кодони із 64 не кодують амінокислот	8. За центральною догмою молекулярної біології передача спадкової інформації відбувається в напрямку ДНК-РНК-білок. Як реалізується ця інформація у ретровірусів? A. РНК-ДНК-білок B. РНК-ДНК-РНК-білок C. ДНК-білок-РНК D. ДНК-ДНК-РНК-білок E. ДНК-РНК-білок
9. Транскрипція – це синтез: A. ДНК на ДНК B. ДНК на РНК C. РНК на РНК D. РНК на ДНК	10. Ініціація транскрипції забезпечується взаємодією ДНК-залежної РНК-полімерази з A. іРНК B. ДНК C. гяРНК D. білка на рибосомах
11. Паліндром - це фрагмент: A. ДНК, з якого починається синтез РНК B. білка, з якого починається синтез РНК C. ДНК, з якого починається синтез дочірньої ДНК D. ДНК, який розпізнають сигнали термінації транскрипції E. РНК, який розпізнають сигнали термінації транскрипції	12. Процес перетворення мРНК у функціональну, біологічно активну молекулу має назву: A. транскрипція B. репарація C. процесинг D. трансляція E. рекомбінація
13. Процесинг – це хімічні перетворення транскрипту, крім: A. вирізання неінформативних ділянок B. зшивання інформативних ділянок C. поліаденілування D. АДФ-рибозилування E. кепування	14. Основною функцією іРНК є: A. перетворення рибонуклеотидів в дезоксирибонуклеотиди B. припинення синтезу білка C. транспорт амінокислот на рибосоми D. регуляція структури ДНК E. перенесення генетичної інформації з ДНК до рибосом для синтезу білка
15. Одним із напрямків процесингу є: A. синтез праймерів B. розкручування ДНК C. блокування синтезу мРНК D. кепування первинного транскрипту E. посттрансляційна модифікація білка	16. Сплайсинг – це: A. початок синтезу тРНК B. вирізання інтронів та зшивання екзонів C. вирізання екзонів та зшивання інтронів D. блокування синтезу іРНК E. подвоєння ДНК
17. Механізм дії актиноміцину D (інгібітор транскрипції) полягає у пригніченні: A. РНК-ази B. полінуклеотидфосфорилази C. ревертази D. ДНК-полімерази E. РНК-полімерази	18. Мононуклеотиди в молекулах РНК з'єднані між собою зв'язками: A. А. пептидними B. В. дисульфідними C. С. складноефірними D. глікозидними E. Е. водневими

1. Визначення вмісту ДНК в біологічному матеріалі за методом Діше

Принцип. Вміст ДНК в біологічному матеріалі визначається за кількістю дезоксирибози, яка вивільняється при повному кислотному гідролізі дезоксирибонуклеотидів. Кількість утвореної дезоксирибози оцінюють за її реакцією з дифеніламіном (реактивом Діше), в якій утворюється барвник синього кольору. В якості біологічного матеріалу в роботі використаний гідролізат щитоподібної залози. Вміст ДНК в тканинах збільшується при посиленні процесів проліферації клітин, що буває при регенерації органів та пухлинному рості.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці).

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		Контрольна	Дослідна
1	Дистильована вода, мл	2	-
2	Гідролізат щитовидної залози, мл	-	2
3	Реактив Діше, мл	2	2
Інкубація при кімнатній температурі упродовж 10 хв.			
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі $\lambda=670$ нм, кювета 1,0 см проти контролю			
Екстинція, од.опт.щільності		-	E=
Кількість ДНК в мкг (за калібрувальним графіком)		-	a=

Розрахунок вмісту ДНК у гідролізаті щитоподібної залози здійснюють за формулою:

a - кількість ДНК в мкг, знайдена за калібрувальним графіком; 4 - об'єм розчину в мл; 0,25 – наважка щитоподібної залози, г; 2 – об'єм гідролізату, взятого для дослідження, мл; 1000 -перерахунок мг в г.

Результат: Вміст ДНК в гідролізаті щитоподібної залози _____мг/г

$$X = \frac{a \cdot 4}{0,25 \cdot 1000 \cdot 2} \text{ мг/г, де}$$

2. Визначення вмісту РНК в біологічному матеріалі за методом Мейбаума

Принцип. Вміст РНК в біологічному матеріалі визначають за кількістю рибози, яка вивільняється при повному кислотному гідролізі рибонуклеотидів. При нагріванні рибози з хлоридною кислотою утворюється фурфурол, який реагує з орцином з утворенням барвника синьо-зеленого кольору (метод Мейбаума). Вміст РНК в тканинах збільшується при посиленні процесів проліферації клітин, що буває при регенерації органів та пухлинному рості. В якості джерела РНК в цій роботі використаний гідролізат дріжджів.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці).

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		Контрольна	Дослідна
1	Дистильована вода, мл	2	-
2	Гідролізат дріжджів, мл	-	2
Вміст пробірок нагріти на водяній бані (60оС) протягом 5 хвилин			
3	розчин орцину, мл	2	2
Фотометрувати на ФЕК, довжина хвилі $\lambda=670$ нм, кювета 1,0 см проти контролю			
Екстинція, од.опт.щільності		-	E=
Кількість ДНК в мкг (за калібрувальним графіком)		-	a=

Розрахунок вмісту РНК в гідролізаті дріжджів здійснюють за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 4}{0,25 \cdot 1000 \cdot 2} \text{ мг/г, де}$$

a - кількість РНК в мкг, знайдена за калібрувальним графіком; 4 - об'єм розчину в мл; 1000 - перерахунок мг в г; 0,25 - наважка дріжджів в г; 2 – об'єм гідролізату, взятого для дослідження, мл

Результат: Вміст РНК в гідролізаті дріжджів _____ мг/г

Дата

« _____ » _____ 20__ р.

Підпис викладача

Тема 3: Трансляція. Інгібітори трансляції. Посттрансляційна модифікація білків

Актуальність теми: біосинтез білків - це кінцевий етап реалізації генетичної інформації, який включає три етапи - активацію амінокислот, власне трансляцію (біосинтез білка на рибосомах на матриці мРНК) та посттрансляційну модифікацію. На етапі активації амінокислот утворюються аміноацил-тРНК, які під час трансляції включаються у поліпептидний ланцюг відповідно генетичному коду за допомогою антикодону тРНК. Власне трансляція здійснюється молекулярними машинами – рибосомами, матрицею для синтезу поліпептиду слугує мРНК. Новоутворені поліпептиди далі підлягають посттрансляційній модифікації, в результаті якої формується повноцінна молекула білка. Активність усіх етапів синтезу білка є регульованою і залежить від різних чинників. Так, деякі противірусні, антибактеріальні та протипухлинні препарати реалізують свою лікувальну дію через вплив на певні етапи трансляції.

Загальна мета заняття: знати механізм та біологічне значення основних етапів біосинтезу білків, трактувати молекулярні механізми дії інгібіторів трансляції

Конкретні цілі: уміти

- ☐ трактувати основні фактори трансляції та їх роль в процесі синтезу білків
- ☐ розкривати суть реакцій активації амінокислот та значення ферменту аміноацил-тРНК-синтетази у цьому процесі
- ☐ аналізувати механізми основних етапів трансляції (ініціації, елонгації та термінації)
- ☐ характеризувати процеси, які лежать в основі посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів
- ☐ трактувати біохімічні механізми дії антибіотиків, противірусного препарату інтерферону та дифтерійного токсину

Основні питання теми:

1. Трансляція: визначення, фактори, біологічне значення. Особливості будови рибосом
2. Активація амінокислот: локалізація, реакції, роль аміноацил-тРНК-синтетази
3. Етапи трансляції та їх механізм. Поняття про ініціюючі та термінуючі кодони
4. Посттрансляційна модифікація поліпептидів: хімічна модифікація, обмежений протеоліз, фолдінг білків. Приклади нематричного синтезу поліпептидів
5. Інгібітори трансляції: механізм дії антибіотиків, інтерферону та дифтерійного токсину

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Фермент, який приймає участь у процесі активації амінокислот під час синтезу білка: А. ДНК-залежна РНК-полімераза В. пептидилтрансфераза С. аміноацил-тРНК-синтетаза D. метилтрансфераза Е. ревертаза	2. До факторів трансляції відносяться усі, крім: А. рибосом В. аміноацил-тРНК-синтетази С. ДНК-матриці D. мРНК А. амінокислот
3. Амінокислотою, яка ініціює трансляцію у еукаріот є: А. цистеїн В. формілметіонін С. метіонін D. тирозин В. аспартат	4. Термінуючим триплетом, який зупиняє процес трансляції є: А. УТА В. УГА С. УАТ D. УГГ Е. УГТ
5. Трансляція - це процес синтезу: А. ДНК на матриці РНК В. РНК на матриці ДНК С. ДНК на матриці ДНК D. РНК на матриці ДНК Е. білка у рибосомах	6. Інформація про амінокислотну послідовність білків записана в молекулах: А. ДНК В. тРНК С. рРНК D. мРНК А. мяРНК
7. Активація амінокислот, яка передусє трансляції, проходить в органелі клітини: А. мітохондріях В. рибосомах С. цитоплазмі D. пероксисомах В. лізосомах	8. Усі етапи трансляції проходять в органелі клітини: А. мітохондріях В. рибосомах С. цитоплазмі D. пероксисомах Е. лізосомах
9. Приєднання нових аміноацил-тРНК на етапі елонгації трансляції відбувається в центрі рибосоми: А. аміноацильному В. пептидильному С. активному D. алостеричному Е. якірному	10. Антибіотик тетрациклін інгібує синтез білків на етапі: А. активації амінокислот В. ініціації трансляції С. елонгації трансляції D. термінації трансляції Е. посттрансляційної модифікації

Лабораторна робота: Виділення казеїну з молока та якісні реакції на білковий компонент

Принцип. Казеїноген є складним білком - фосфопротеїном, який після синтезу на рибосомах піддається посттрансляційній модифікації – фосфорилуванню. Завдяки фосфатним групам казеїноген у складі в молока перебуває в розчиненому стані – у вигляді казеїнату кальцію. При підкисленні молока (рН=4,7) казеїноген переходить в ізоелектричний стан і випадає в осад у вигляді казеїну («згрудження молока»). Білкову природу казеїну можна підтвердити якісними реакціями на білки.

Хід роботи. До 2 мл молока додають 2 мл дистильованої води та 2 краплі 10% розчину ацетатної кислоти. Утворену суміш фільтрують, осад казеїну з фільтру знімають скляною паличкою та поміщають його у пробірки. Для доказу білкової природи казеїну з осадом проводять якісні реакції на білки та амінокислоти (біуретову, нінгідринову та Фоля).

1. Біуретова реакція

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Осад казеїну	помістити частинку осаду
2	10% розчин NaOH	5 крапель
3	1% розчин CuSO ₄	1-2 краплі
Реєстрація забарвлення		
Вказати, що відкриває ця реакція в казеїні		

2. Нінгідринова реакція

№	Реактиви, послідовність додавання	Фільтрувальний папір
1	Осад казеїну	помістити частинку осаду
Висушують над електроплиткою		
2	0,1% розчин нінгідрину	1 крапля
Висушують над електроплиткою		
Реєстрація забарвлення		
Вказати, що відкриває ця реакція в казеїні		

3. Реакція Фоля

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
Виявлення сірковмісних амінокислот		
1	5% розчин плюмбум(II)ацетат	2 краплі
2	30% розчин NaOH	по краплям до повного розчинення осаду
	Осад казеїну	помістити частинку осаду
Кип'ятіння на водяній бані (100°C) 2-3 хвилини		
Реєстрація забарвлення		
Вказати, що відкриває ця реакція в казеїні		

Висновок: _____

Дата

«_____» _____ 20__ р.

Підпис викладача:

Тема 4: Регуляція експресії генів у прокариот та еукаріот. Молекулярні механізми мутацій. Генна інженерія

Актуальність теми: регуляція експресії генів у прокариот здійснюється на рівні транскрипції, тоді як у еукаріот регуляція є значно складнішою і багаторівневою (відбувається на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції). Знання молекулярних механізмів, які лежать в основі регуляції експресії генів, дозволяють впливати на процеси синтезу білків у еукаріот та прокариот, що є досить важливим для створення

нових фармацевтичних препаратів, лікування інфекційних, спадкових хвороб, онкологічних захворювань та ін.

Мутації - це кількісні або якісні зміни генотипу організму. Вони є джерелом генетичної мінливості без якої неможливі природній відбір та біологічна еволюція. Також мутації можуть викликати розвиток різноманітних спадкових хвороб за умов неефективного проходження процесів репарації ДНК. Останнім часом в медицині широко користуються методами генної інженерії, які дозволяють переносити генетичний матеріал від одного організму в інший, що використовується з метою діагностики, лікування деяких спадкових захворювань та отримання біомедичних препаратів

Загальна мета заняття: засвоїти механізми регуляції експресії генів у прокаріот на рівні транскрипції та у еукаріот - на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції; знати види мутацій, механізм дії мутагенів, молекулярні основи репарації ДНК, а також принципи генної інженерії та її використання для діагностики, лікування спадкових хвороб й отримання біомедичних препаратів

Конкретні цілі: уміти

- ☐ пояснювати будову прокаріотичного оперону та трактувати механізми регуляції експресії генів по типу індукції (на прикладі Лас-оперону) та репресії (на прикладі гістидинового оперону)
- ☐ аналізувати механізми регуляції експресії генів у еукаріотів на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції
- ☐ розкривати суть та біомедичне значення процесу ампліфікації та полімеразної ланцюгової реакції
- ☐ характеризувати геномні, хромосомні та генні мутації та налізувати молекулярні механізми дії мутагенів
- ☐ трактувати біологічне значення та механізми репарації ДНК

Основні питання теми:

1. Регуляція експресії генів у прокаріот по типу індукції (функціонування Лас-оперону *E. Coli* за Ф.Жакоб та Ж.Моно) та репресії (функціонування гістидинового оперону)
2. Регуляція експресії генів у еукаріот на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції. Особливості біосинтезу білків у людини
3. Мутагени. Мутації та їх роль у виникненні ензимопатій та спадкових хвороб
4. Репарація ДНК: визначення, етапи, біологічне значення, патологія репарації (пігментна ксеродерма)
5. Генна інженерія: визначення, значення, основні принципи.

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Намалювати схему Лас-оперону:

а) у стані репресії

б) у стані індукції

в) зазначити функціональне призначення всіх складових Лас-оперону:

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Ампліфікація генів лежить в основі: А. хроматографії В. спектрофотометрії С. полімеразної ланцюгової реакції D. імуноферментного аналізу Е. рекомбінацій	2. Сайленсери - ділянки молекули ДНК, які: А. стимулюють експресію генів В. блокують експресію генів С. не змінюють експресію генів D. індукують експресію генів Е. послаблюють експресію генів
3. В основі виникнення резистентності до протипухлинної дії метотрексату лежить процес: А. кросинговер В. рекомбінація С. репарація D. ампліфікація Е. кон'югація	4. Регуляція експресії генів у прокаріот здійснюється на рівні: А. реплікації В. транскрипції С. трансляції D. репарації Е. усі відповіді вірні
5. Оперон складається з наступних структурних ділянок, крім: А. промотору В. гену-регулятору С. структурних генів D. гену-термінатору Е. акцепторної ділянки	6. В основі формування різноманітності антитіл лежить процес: А. кросинговер В. рекомбінація С. репарація D. ампліфікація Е. кон'югація
7. В ПЛР використовують праймери, які представляють собою: А. олігодезоксирибонуклеотиди В. олігорибонуклеотиди С. мінорні азотисті основи D. пуринові нуклеозиди Е. пуринові азотисті основи	8. З метою встановлення батьківства використовують: А. хроматографію В. ПЛР С. імуноферментний аналіз D. радіоімунний аналіз Е. спектрофотометрію
9. Генетичні рекомбінації- це: А. обмін фрагментів ДНК в одному гені В. збільшення копій певних генів С. зменшення копій певних генів D. обмін фрагментів ДНК між різними генами Е. усі відповіді вірні	10. Теорія регуляції експресії генів у прокаріотів була розкрита вченими: А. Мезельсоном та Сталем В. Уотсоном та Кріком С. Кораном та Балтімором D. Жакоб та Моно Е. Корнбергом та Оказакі
11. виправлення пошкоджень в молекулі ДНК називається: А. реплікація В. транскрипція С. трансляція D. репарація Е. процесинг	12. Мутації в копіях одного і того ж гена ведуть до: А. репарації ДНК В. ампліфікації генів С. поліморфізму білків D. рекомбінації генів Е. кросинговеру
13. УФ-опромінення викликає утворення ковалентних зшивок між поряд розташованими нуклеотидами: А. Г-Г В. Г-Т С. Г-Ц D. Т-Т	14. Нітрозаміни в організмі перетворюються на нітритну кислоту, яка викликає перетворення цитозину на: А. тимін В. гуанін С. аденін D. урацил Е. уридин

Е. А-Г	
--------	--

Лабораторна робота:

Робота 1. Кількісне визначення гомогентизинової кислоти в сечі

Принцип методу. При окисненні гомогентизинової кислоти фосфорно-молібденовим реактивом утворюється сполука зеленого кольору. При цьому інтенсивність забарвлення прямо пропорційна кількості гомогентизинової кислоти в пробі. В нормі вміст гомогентизинової кислоти в сечі не перевищує 28 мкг/мл. Збільшення її вмісту виявляється при спадковій хворобі алкаптонурії, а також ревматизмі та тонзилітах.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		№1 (контроль)	№2 (дослід)
1	Сеча, мл	-	1,0
2	Дистильована вода, мл	1,0	-
3	0,5М розчин KH_2PO_4 , мл	1,0	1,0
4	5,0% розчин молібдату амонію, мл	1,0	1,0
5	5н. розчин H_2SO_4 , мл	1,0	1,0
Інкубація при кімнатній температурі на протязі 20 хв.			
ФЕК при довжині хвилі 670 нм в кюветі товщиною 1 см. проти контролю			
Екстинція (D)		-	

Розрахунок концентрації гомогентизинової кислоти в сечі здійснюється за формулою:

$$C = 41,8 \cdot D \text{ мкг/мл}$$

де С – концентрація гомогентизинової кислоти (мкг/мл);

41,8 – коефіцієнт перерахунку.

С = _____ мкг/мл

Висновок: _____

Робота 2. Якісне визначення фенілпіровиноградної кислоти в сечі

Принцип методу. Фенілпіруват з Fe^{3+} утворює комплексну сполуку забарвлену в синьо-фіолетовий колір. Високий вміст фенілпірувату в сечі виявляється при спадковій патології фенілкетонурії.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		№1	№2
1	Сеча здорової дитини, мл	2,0	-
2	Сеча хворої дитини, мл	-	2,0
3	10% розчин FeCl_3 , краплі	2	2
Реєстрація забарвлення (вказати колір)			

Висновок: _____

Дата

« _____ » _____ 20__ р. Підпис викладача:

Тема 5. Проміжний обмін амінокислот. Трансамінування та декарбоксилювання амінокислот. Біогенні аміни. Шляхи знешкодження амінокислот. Визначення активності АЛАТ в сироватці крові.

Актуальність теми: білки в організмі перебувають в динамічному стані: постійно руйнуються та оновлюються (ресинтезуються). Динамічну рівновагу обміну білків забезпечує пул амінокислот - сукупність всіх вільних амінокислот в організмі (300-500 г). Амінокислоти використовуються для синтезу білків, медіаторів, гормонів та інших біологічно активних речовин. В процесі проміжного обміну амінокислоти можуть втрачати свою карбоксильну групу (декарбоксилювання) та аміногрупу (транс- та дезамінування). В реакціях декарбоксилювання з амінокислот переважно утворюються біогенні аміни. Трансамінування забезпечує оборотне перетворення амінокислот у альфа-кетокислоти і є шляхом синтезу замінних амінокислот. Коферментом обох процесів виступає піридоксальфосфат.

Загальна мета заняття: трактувати поняття проміжного обміну амінокислот, знати механізми та медико-біологічне значення процесів декарбоксилювання та трансамінування амінокислот

Конкретні цілі:

- ☐ трактувати поняття «пул амінокислот», шляхи його поповнення, роль убіквітину
- ☐ знати види, механізм, ферменти, коферменти, біологічне значення декарбоксилювання амінокислот
- ☐ трактувати біологічні ефекти, шляхи утворення та знешкодження біогенних амінів, біомедичне значення інгібіторів моноаміноксидаз
- ☐ знати механізм, ферменти, коферменти, біологічне значення транс амінування амінокислот
- ☐ трактувати діагностичне значення трансаміназ як індикаторів ураження міокарду та печінки

Основні питання заняття:

1. Пул амінокислот: визначення, шляхи поповнення та використання. Роль убіквітинової системи деградації клітинних білків. Поняття про проміжний обмін амінокислот
2. Декарбоксилювання амінокислот: види, біологічне значення. Механізм, ферменти, коферменти α -декарбоксилювання амінокислот
3. Утворення та біологічне значення біогенних амінів (гістаміну, серотоніну, катехоламінів, ГАМК) та ендогенних токсинів (путресцину, кадаверину). Знешкодження біогенних амінів: роль моно- та діаміноксидаз, інгібітори моноаміноксидаз
4. Трансамінування амінокислот: визначення, механізм, ферменти, коферменти, біологічна роль.
5. Біологічна роль та шляхи метаболізму α -кетокислот, утворених в реакціях трансамінування
6. Клініко-діагностичне значення дослідження активності амінотрансфераз (АЛТ, АСТ) в крові

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Завдання для перевірки вихідного рівня знань

Написати реакції трансамінування за участі аспартатамінотрансфери (АСТ) та аланінамінотрансфери (АЛТ), вказати кофермент

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Декарбоксілювання $\square$ -амінокислот здійснюється за участю коферменту: А. піридоксальфосфату В. фолієвої кислоти С. біотину D. убіхінону Е. ФМН	2. Реакція декарбоксілювання в процесі синтезу гістаміну потребує коферменту: А. НАД В. ФАД С. ФМН D. ТДФ Е. ПАЛФ
3. Синтез серотоніну потребує участі коферменту А. НАД В. ФАД С. HS-КоА D. ТДФ Е. ПАЛФ	4. В процесі трансамінування глутамат перетворюється на $\square$ -кетоглутарат, який в подальшому: А. окиснюється в ЦТК В. може зв'язувати молекулу аміаку С. вступає в реакцію переамінування D. використовується на синтез глюкози Е. метаболізується всіма вказаними шляхами
5. В реакції трансамінування бере участь речовина, що є метаболітом циклу лимонної кислоти: А. цитрат В. ізоцитрат С. фуматат D. сукцинат А. α -кетоглутарат	6. Гістамін є продуктом декарбоксілювання: А. гістидину В. аргініну С. глутаміну D. гліцину Е. лізину
7. Хворому з алергічним ринітом призначили препарат, що блокує дію гістаміну. Назвіть тип реакції, внаслідок якої утворюється гістамін. А. фосфорилування В. дезамінування С. декарбоксілювання D. метилування Е. трансамінування	8. При декарбоксілюванні гістидину утворюється: А. путресцин В. кадаверин С. серотонін D. адреналін Е. гістамін
9. У крові хворого на рак сечового міхура знайдено високий вміст серотоніну та оксиантранілової кислоти. Це пов'язано з перетворенням амінокислоти: А. триптофану В. аланіну С. гістидину D. метіоніну Е. тирозину	10. В результаті послідовних реакцій гідроксілювання і декарбоксілювання триптофану утворюється: А. серотонін В. гістамін С. дофамін D. адреналін. Е. норадреналін
11. Недостатність якого вітаміну буде гальмувати швидкість декарбоксілювання амінокислот? А. піридоксину	12. Надлишок біогенних амінів викликає важкі розлади в організмі людини. Їх знешкодження здійснюється за участю: А. моноаміноксидаз

В. пантотенату С. ніацину Д. фолату Е. біотину	В. трансаміназ С. декарбоксилаз Д. УДФ-глюкуронілтрансфераз Е. N-ацетилтрансфераз
13. Серотонін утворюється при: А. декарбоксилюванні і окисненні фенілаланіну В. окисненні і декарбоксилюванні триптофану С. декарбоксилюванні гістидину Д. гідролізі тирозину Е. окисненні і метилуванні дофаміну	14. Гістамін викликає: А. збільшення секреції шлункового соку В. спазм бронхів С. зниження артеріального тиску Д. розширення периферійних судин Е. всі названі ефекти
15. У крові хворого виявлено підвищення активності АСТ, креатинкінази. В якому органі найбільш ймовірний розвиток патологічного процесу? А. серці В. підшлунковій залозі С. печінці Д. нирках Е. скелетних м'язях	16. Перетворення норадреналіну на адреналін йде шляхом: А. метилування В. дезамінування С. трансамінування Д. гідроксилювання Е. ацетилювання

Лабораторна робота: Визначення активності аланінамінотрансферази (КФ 2.6.1.2) в сироватці крові динітрофенілгідразиним методом

Принцип. При переамінуванні амінокислоти аланіну під дією аланінамінотрансферази (АЛТ) утворюється піровиноградна кислота, яка при додаванні 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі перетворюється в гідразон піровиноградної кислоти. Інтенсивність забарвлення утвореної сполуки пропорційна кількості утвореної піровиноградної кислоти.

Схожий принцип лежить в основі визначення активності аспартатамінотрансферази (АСТ), що каталізує переамінування аспартату у оксалоацетат, який спонтанно декарбоксилюється у піруват.

Клініко-діагностичне значення. У нормі активність АЛТ в сироватці крові становить 0,1-0,68 ммоль/л·год. АЛТ в найбільшій кількості міститься в цитозолі гепатоцитів, тому при їх пошкодженні велика кількість ферменту надходить у кров. Значне зростання активності АЛТ спростерігається при вірусних та токсичних гепатитах.

АСТ є мітохондріальним ферментом, що у великій кількості міститься в кардіоміоцитах. Підвищення активності АСТ свідчить про інфаркт міокарду.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка		
		1 (контроль)	2 (здоровий)	3 (хворий)
1	Субстратна суміш (аланін та α -кетоглутарова кислота), мл	0,5	0,5	0,5
Інкубація в термостаті при 37оС 5 хв				
2	H ₂ O, мл	0,1	-	-
3	Сироватка крові здорової людини, мл	-	0,1	-
4	Сироватка крові хворого, мл	-	-	0,1
Інкубація в термостаті при 37оС 30 хв				
5	Розчин 2,4-динітрофенілгідразину, мл	0,5	0,5	0,5
Витримати при кімнатній температурі 20 хв				

6	0,4 N розчин NaOH, мл	5	5	5
Витримати при кімнатній температурі 10 хв				
ФЕК, довжина хвилі $\lambda=540$ нм, кювета 1,0 см проти контролю				
Екстинція, од. опт. щільності				
Кількість пірувату в пробі за калібрувальною таблицею, мкг				
Активність АЛТ в сироватці крові, ммоль/л·год				

Калібрувальна таблиця (вміст пірувату в пробі, мкг)															
Екстинція	0,0 1	0,0 2	0,0 3	0,0 4	0,0 5	0,0 6	0,0 7	0,0 8	0,0 9	0,1 0	0,1 1	0,1 2	0,1 3	0,1 4	0,1 5
Піруват, мкг	0,3 1	0,6 3	0,9 4	1,2 5	1,5 6	1,8 7	2,2 0	2,5 1	2,8 2	3,1 3	3,4 4	3,7 5	4,0 6	4,3 7	4,6 8

Розрахунок активності АЛТ в сироватці крові:

Активність ферменту визначають за кількістю пірувату, що утворюється в реакції переамінування аланіну 1 літром сироватки крові за 1 годину при 37°C за формулою:

$$\text{Активність АЛТ} = \frac{C \cdot 2 \cdot 10000}{88000} \text{ ммоль/л·год}$$

10000 – коефіцієнт перерахунку на 1 л сироватки; С – кількість пірувату в мкг, знайдена за калібрувальною таблицею; 88000 – коефіцієнт перерахунку пірувату з мкг в ммоль (1 ммоль пірувату = 88000 мкг); 2 – коефіцієнт перерахунку на 1 год. інкубації.

Висновок:

Дата

«_____» _____ 20__ р.

Підпис викладача:

Підсумкове заняття з теми «Метаболізм простих білків. Основи молекулярної біології та генетики»

Теоретичні питання

1. Харчове значення білків (добова потреба, енергетична цінність, повноцінні та неповноцінні білки). Коефіцієнт зношування білків (Рубнера), білковий мінімум та оптимум, азотистий баланс.
2. Травлення білків у шлунково-кишковому тракті: механізм, ферменти (ендо- та екзопептидази) та їх активація. Роль HCl в травленні білків. Інгібітори протеолітичних ферментів.
3. Гниття білків в товстому кишечнику. Лабораторна діагностика інтенсивності гниття (значення тваринного індикану).
4. Пул амінокислот, шляхи його поповнення та використання.
5. Трансамінування амінокислот: визначення, ферменти, коферменти, біологічне значення.
6. Клініко-діагностичне значення оцінки активності амінотрансфераз в сироватці крові
7. Декарбоксилювання амінокислот: визначення, ферменти та коферменти. Біологічне значення декарбоксилювання гістидину та глутамату

8. Утворення, знешкодження і біологічна роль біогенних амінів - серотоніну, дофаміну, норадреналіну та адреналіну.
9. Дезамінування амінокислот: визначення, види, ферменти, біологічне значення. Непряме дезамінування
10. Джерела аміаку в організмі. Вміст аміаку в сироватці крові у нормі та при патології.
11. Гіперамоніємія. Механізми токсичної дії аміаку
12. Способи знешкодження аміаку. Утворення транспортних форм аміаку
13. Орнітиновий цикл синтезу сечовини: локалізація, механізм, біологічне значення, генетичні дефекти. Норма вмісту сечовини в сироватці крові та сечі
14. Біологічне значення амінокислот. Класифікація амінокислот за біологічною значимістю, відношенням до синтезу білків, глюкози та кетонів тїл
15. Спеціалізовані шляхи обміну та біологічне значення гліцину й серину. Роль тетрагідрофолату в їх метаболізмі
16. Спеціалізовані шляхи обміну та біологічне значення сірковмісних амінокислот метіоніну й цистеїну. Гіпергомоцистеїнемія
17. Спеціалізовані шляхи обміну та біологічне значення негативно заряджених амінокислот аспартату й глутамату
18. Спеціалізовані шляхи обміну та біологічне значення позитивно заряджених амінокислот лізину й аргініну
19. Спеціалізовані шляхи обміну та біологічне значення ароматичних амінокислот фенілаланіну й тирозину.
20. Спеціалізовані шляхи обміну та біологічне значення гетероциклічних амінокислот триптофану й гістидину
21. Ферментні блоки та спадкові хвороби обміну амінокислот: фенілпіровиноградна олігофренія, алкаптонурія, альбінізм, хвороба «кленового сиропу»
22. Біосинтез пуринових нуклеотидів de novo: локалізація, джерела атомів пуринового ядра, механізм, регуляція
23. Біосинтез піримідинових нуклеотидів de novo: джерела атомів піримідинового ядра, механізм, регуляція. Особливості синтезу дезоксирибонуклеотидів. Оротатацидурия.
24. Розпад пуринових та піримідинових нуклеотидів. Гіперурикемія: види та причини. Подагра. Синдром Леша-Ніхана
25. Генетичний код та його властивості. Основні етапи передачі генетичної інформації
26. Реплікація ДНК: визначення, механізм, біологічне значення, фактори, етапи
27. Транскрипція: визначення, механізм, фактори, етапи. Промотори та паліндроми
28. Посттранскрипційна модифікація РНК (процесінг). Альтернативний сплайсінг. Інгібітори транскрипції
29. Трансляція: визначення, фактори. Активація амінокислот як один із етапів синтезу білків
30. Характеристика основних етапів трансляції (ініціації, елонгації, термінації)
31. Посттрансляційна модифікація поліпептидів. Інгібітори трансляції. Нематричний синтез пептидів
32. Регуляція експресії генів у прокариот за Жакобом і Моно. Лактозний та гістидиновий оперони
33. Регуляція експресії генів у еукаріот на рівні структурної організації геному, транскрипції та трансляції. Особливості експресії генів у людини
34. Полімеразна ланцюгова реакція: визначення, етапи та біомедичне значення
35. Генна інженерія: визначення, етапи та біомедичне значення. Реконбінантні ДНК
36. Мутації та мутагени: визначення, класифікація, приклади. Точкові мутації

Тема 7: Гормони: визначення, класифікація, загальна характеристика гормонів та гормоноподібних речовин. Молекулярні механізми трансдукції гормонального сигналу.

Апоптоз

Актуальність теми: координація клітинних та тканинних функцій забезпечується механізмами міжклітинних комунікацій. У процесі еволюції тварин сформувались дві системи реалізації міжклітинних комунікацій: нервова система, що функціонує шляхом електрохімічного проведення нервових сигналів, та ендокринна система, дія якої реалізується хімічними біорегуляторами - гормонами.

Гормони та інші сигнальні молекули як ліганди реалізують свої біологічні ефекти в «клітинах-мішенях» через взаємодію зі специфічними рецепторами – білковими молекулами. Після утворення ліганд–рецепторного комплексу регуляторний (гормональний) сигнал трансформується у відповідну, генетично запрограмовану для даного типу клітин, біологічну реакцію ефекторних систем. Порушення процесів передачі регуляторних (гормональних) сигналів лежить в основі виникнення багатьох захворювань.

Загальна мета заняття: вміти трактувати функції гормонів та інших біорегуляторних сигнальних молекул у системі міжклітинної інтеграції та в життєдіяльності організму людини; вміти аналізувати та пояснювати відповідність хімічної природи гормонів та інших сигнальних молекул (білково-пептидної, похідних амінокислот та стероїдної) виконуваних функцій та механізму дії в «клітинах-мішенях»; вміти трактувати функції гормонів та інших біорегуляторних сигнальних молекул у системі міжклітинної інтеграції та в життєдіяльності організму людини; вміти аналізувати та пояснювати відповідність хімічної природи гормонів та інших сигнальних молекул (білково-пептидної, похідних амінокислот та стероїдної) виконуваних функцій та механізму дії в «клітинах-мішенях».

Конкретні цілі: вміти

- ☐ трактувати визначення ендокринології та її історичні віхи розвитку;
- ☐ класифікувати гормони за місцем синтезу, хімічною природою та характером біологічної дії;
- ☐ характеризувати властивості істинних гормонів та гормоноподібних речовин;
- ☐ аналізувати різновиди місцевого (ізокринного) характеру дії біорегуляторів;
- ☐ трактувати ієрархію гормонів (взаємозв'язок) у цілісному організмі; регуляцію секреції та синтезу гормонів;
- ☐ трактувати будову різних видів рецепторів «клітин-мішеней»: іонотропного, метаботропного, цитозольного
- ☐ пояснювати принципи мембранного (монотропного та метаботропного) та цитозольного (внутрішньоклітинного) механізму дії гормонів
- ☐ характеризувати внутрішньоклітинні месенджери

Основні питання теми:

1. Структурні компоненти ендокринної системи. Класифікація біорегуляторів за місцем синтезу, хімічною природою та характером біологічної дії.
2. Взаємозв'язок гормонів в нейроендокринній системі за принципом “прямого-зворотнього» зв'язку. Каскадне посилення гормонального сигналу.
3. Рецептори «клітин-мішеней» та їх будова. Характеристика іонотропного механізму дії нейромедiatorів

4. Характеристика мембранного механізму дії гормонів білково-пептидної природи та катехоламінів, етапи. Характеристика вторинних месенджерів: цАМФ, цГМФ, ІТФ, ДАГ, кальцій-кальмодулінового месенджера (Ca-CaM)
5. Характеристика цитозольного механізму дії гормонів стероїдної природи та тироксину

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Істинними гормонами можна вважати всі перераховані, крім: А. Секретину В. Глюкагону С. Інсуліну D. Кортикостерону Е. Пролактину	2. Гормоноподібними можна вважати всі перераховані, крім: А. Фактору росту нервів В. Еритропоєтину С. Інтерферону D. Тестостерону Е. Простагландину Е
3. Попередником синтезу ендорфінів є: А. Холестерин В. Ацетил-КоА С. Вітамін D3 D. Імуноглобулін G Е. ПОМК (Проопіомеланокортин)	4. Гормоноподібна речовина кальцитріол є похідним вітаміну: А. Е В. К С. D3 D. B2 Е. А
5. Хімічна природа гормонів аденогіпофіза: А. Похідні амінокислоти тирозину В. Білково-пептидна природа С. Ліпідна природа D. Похідні арахідонової кислоти Е. Похідні амінокислоти триптофану	6. Хімічна природа статевих гормонів: А. Глікопротеїни В. Нонапептиди С. Похідні тирозину D. Стероїди Е. Похідні арахідонової кислоти
7. З ГТФ під впливом гуанілатциклази синтезується месенджер: А. Цамф В. ГДФ С. Цгмф D. Гуанозин Е. ГМФ	8. Вторинні посередники ІТФ та ДАГ утворюються з: А. АТригліцеридів В. Фосфатидилінозитолдифосфату (ФІФ2) С. Гліколіпідів D. Сфінгофосфоліпідів Е. Фосфатидилхоліну
9. Мембранним механізмом володіють: А. Тироксин та естрон В. Кортизол та альдостерон С. Тестостерон та естріол D. Кортикостерон та дигідротестостерон Е. Катехоламіни та білково-пептидні гормони	10. цГМФ активує: А. Протеїнкіназу G В. Протеїнкіназу А С. Протеїнкіназу С D. Ca ²⁺ -кальмодулін-залежну протеїнкіназу Е. Протеїнкіназу типу тирозинкінази
11. З АТФ синтезується месенджер: А. Аденозин В. АДФ С. АМФ D. цАМФ Е. цГМФ	12. цАМФ активує: А. Протеїнкіназу G В. Протеїнкіназу А С. Протеїнкіназу С D. Ca ²⁺ -кальмодулін-залежну протеїнкіназу Е. Протеїнкіназу типу тирозинкінази

Лабораторна робота. Якісні реакції на гормони.

Реакції, що доводять білкову природу гормонів

Реакція Геллера

Принцип. Білки осаджуються концентрованими мінеральними кислотами (крім фосфатної

кислоти) в результаті дегідратації білкових молекул та нейтралізації їх зарядів. На межі поділу двох рідин (білок/нітратна кислота) виникає біле кільце.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка №1
1	Концентрована нітратна кислота, краплі	16
2	Розчин інсуліну, краплі	8 (обережно по стінці під кутом 45°)
Результат		

Висновок: _____

Біуретова реакція

Принцип.. Реакція обумовлена наявністю в молекулі білка пептидних зв'язків, які в лужному середовищі утворюють комплексні сполуки міді фіолетового кольору.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка №1
1	Розчин інсуліну, краплі	3
2	10% розчин натрій гідроксиду, краплі	5
3	1% розчин купрум сульфату, краплі	2
Результат		

Висновок _____

Реакція Фоля

Принцип. При додаванні до розчину білка реактиву Фоля (30% розчину натрій гідроксиду та 5% розчину плюмбум ацетату) з наступним кип'ятінням, розчин починає темніти. Реакція обумовлена присутністю в молекулі білка сірковмісних амінокислот (цистеїну, цистіну, метіоніну), які в лужному середовищі в присутності плюмбум ацетату утворюють чорний осад плюмбум сульфід (PbS).

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка №1
1	Розчин інсуліну, краплі	3
2	Реактив Фоля, краплі	5
Кип'ять на водяній бані протягом 3-5 хв		
Результат		

Висновок _____

Реакції на гормони іншої хімічної природи

Реакція на 17-кетостероїди.

Принцип. Робота основана на реакції взаємодії 17-кетостероїдів (кінцевих метаболітів кортикостероїдів та чоловічих статевих гормонів) з метадинітробензолом в присутності натрій гідроксиду з утворенням продуктів конденсації червоно-вишневого кольору.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка №1
1	Досліджувана сеча, краплі	3

2	10% розчин натрій гідроксиду, краплі	3
3	2% спиротовий розчин метадинітробензолу, краплі	3
Кип'ять на водяній бані протягом 3-5 хв.		
Результат		

Висновок _____

Реакція на адреналін.

Принцип. Адреналін взаємодіє з ферум хлоридом з утворенням сполук зеленого кольору.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка №1
1	Розчин адреналіну, краплі	4
2	1% розчин ферум хлориду, краплі	1
Результат		

Висновок _____

Визначення метаболітів нітроген оксиду (нітритів) в слині

Нітроген монооксид (NO) (вільний радикал) який утворюється в організмі із амінокислоти L аргініну і виконує роль медіатора запалення, антиагреганта та вазоконстриктора. Фізіологічні ефекти NO реалізуються через вплив на гуанілатциклазну систему та збільшення вмісту вторинного месенджера – цГМФ. Нітроген монооксид швидко окиснюється до стабільних метаболітів - нітритів та нітратів. Дослідження вмісту нітратів та нітритів в біологічних рідинах (крові, слині, сечі та ін.) свідчить про рівень NO в організмі.

Принцип: нітрити взаємодіють з реактивом Грісса (L – нафтіламін і сульфанілова кислота у співвідношенні 5:1) при температурі 30°C з утворенням сполук рожевого кольору, інтенсивність забарвлення яких прямо пропорційне концентрації нітритів в слині. Вміст нітритів в слині у нормі становить 2-4 мкг/мл.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
	№1 (дослід)	№2 (контроль)
Слина, мл	0,1	-
Дистильована вода, мл	0,9	1,0
Реактив Грісса, мл	1,0	1,0
Інкубація в термостаті при t=30°C, 20хв.		
Реєстрація забарвлення		
Колориметрування на ФЕК при довжині хвилі 540nm в кюветі 0,5см проти контролю		
Екстинція	E=	-

Розрахунок: $C = 3,34 \cdot \Delta D =$

C - концентрація нітритів в слині, мкг/мл

3,34 - коефіцієнт перерахунку;

ΔD – маса нітритів, що знайдена за калібрувальним графіком.

Висновок: _____

Дата _____

Підпис викладача:

Тема 8: Вітаміни: визначення, історія відкриття, основні поняття вітамінології.

Номенклатура та класифікація вітамінів. Вітаміноподібні речовини.

Характеристика вітамінів С та Р

Актуальність теми: Вітаміни – це низькомолекулярні органічні речовини, незамінні компоненти харчування, які необхідні для нормального протікання метаболічних процесів, тому знання їх структури, механізмів дії та захворювань, що виникають при вітамінній недостатності, є важливими складовими вищої медичної освіти.

Загальна мета заняття: засвоїти основні поняття вітамінології, а саме: визначення вітамінів, їх класифікацію і номенклатуру, причини виникнення вітамінної недостатності; вітаміноподібні речовини, антивітаміни; засвоїти структуру, участь в метаболізмі та ознаки недостатності вітамінів С і Р

Конкретні цілі: знати:

- ☐ визначення вітамінів, їх значення в обміні речовин;
- ☐ класифікацію і номенклатуру вітамінів;
- ☐ значення вітаміноподібних речовин;
- ☐ причини виникнення авітамінозів, гіповітамінозів, гіпервітамінозів;
- ☐ механізми дії антивітамінів та їх клінічне застосування;
- ☐ структуру, участь у метаболізмі, ознаки недостатності вітамінів С і Р

Основні питання теми:

1. Вітаміни: визначення, біологічне значення. Історія відкриття вітамінів. Класифікація та номенклатура вітамінів
2. Авітамінози, гіповітамінози, гіпервітамінози: визначення, приклади. Екзо- і ендogenous причини виникнення вітамінної недостатності
3. Антивітаміни; визначення, механізми дії, приклади, клінічне застосування
4. Структура та біологічне значення вітаміноподібних речовин
5. Структура, біологічне значення, добова потреба, ознаки недостатності, медичне застосування вітамінів С і Р

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Продуктом гідроксилювання в складі колагену, що утворився за участю вітаміну С, є амінокислота: А. серин В. треонін С. тирозин D. оксипролін Е. окситриптофан	2. Складовою мультиферментного піруват-дегідрогеназного комплексу є вітаміноподібна речовина: А. аскорбінова кислота В. фолієва кислота С. убіхінон D. ліпоєва кислота Е. карнітин
3. Проявом глибокого дефіциту вітаміну С є хвороба: А. пелагра В. рахіт С. скорбут D. бері-бері Е. подагра	4. При відсутності в їжі свіжих овочів, фруктів, ягід, зелені може виникнути дефіцит вітаміну: А. К В. С С. Е D. А

	Е. Д
5. Компонентом дихального ланцюга є вітаміноподібна речовина: А. ліпоева кислота В. убіхінон С. параамінобензойна кислота D. холін Е. карнітин	6. Будову вітаміну С встановив в 1937 році лауреат Нобелівської премії: А. Сенджер В. Самнер С. Крик D. Сент-Дьєрдьї Е. Варбург
7. Назва якого вітаміну відображає його біологічний ефект? А. кобаламіну В. фолієвої кислоти С. нікотинаміду D. аскорбінової кислоти Е. рибофлавіну	8. Зміцнює стінку судин та є синергістом вітаміну С вітамін: А. тіамін В. ретинол С. токоферол D. вітамін Р Е. кобаламін
9. Не спричинені вітамінною недостатністю захворювання: А. бері-бері, ксерофтальмія В. скорбут, пелагра С. рахіт, гемералопія D. псоріаз, подагра Е. злоякісна анемія Бірмера	10. Аскорути, галаскорбін – це фарм-препарати, до складу яких входять вітаміни: А. А і Е В. К і Д С. В2 і РР D. С і Р Е. В6 і В8
11. Першим вітаміном, який відкрив К.Функ, був: А. рибофлавін В. метилкобаламін С. рутин D. токоферол Е. тіамін	12. Не відноситься до жиророзчинних вітамін: А. А В. К С. РР D. Е Е. Д

Лабораторна робота:

1. Кількісне визначення аскорбінової кислоти в молоці

Принцип. Метод кількісного визначення аскорбінової кислоти базується на її здатності окислюватися в дегідроаскорбінову кислоту і відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол (ДХФІФ).

Концентрація аскорбінової кислоти в коров'ячому молоці до 1 мг %.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

№	Реактиви, послідовність додавання	Колба
1	Розведене в 3 рази молоко	5 мл
2	2% розчин хлоридної кислоти	16 крапель
3	Перемішують, титрують 0,001М розчином ДХФІФ до рожевого забарвлення	
4	Кількість аскорбінової кислоти, мг %	

Розрахунок аскорбінової кислоти (X) проводять за формулою:

$$X = \frac{B \cdot 3 \cdot 0,088 \cdot 100}{5} = \text{мг \%}$$

B – об'єм індикатору в мл, що пішов на титрування;

3 - розведення молока;

0,088 - титр індикатору ДХФІФ;

100 - перерахунок на 100 мл молока;

5 - об'єм молока в мл, взятого для титрування.

Висновок: _____

Кількісне визначення рутину (вітаміну Р) в чаї

Принцип. Визначення ґрунове на здатності рутину окислюватися калій перманганатом. Як індикатор застосовують індігокармін, що вступає в реакцію з калій перманганатом після окиснення всього рутину. Експериментально встановлено, що 1мл розчину калій перманганату (Сн= 0,05М/л) окиснює 3,2 мкг рутину.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

№	Реактиви, послідовність додавання	Колба
1	Екстракт чаю	10 мл
2	Дистильована вода	10 мл
	Індикатор індігокармін	10 крапель
3	Перемішують, титрують розчином калій перманганату (Сн= 0.05 М/л) до появи стійкого жовтого забарвлення	
4	Кількість рутину, мг %	

Розрахунок проводять за формулою:

$$X = \frac{3,2 \cdot A \cdot 50 \cdot 100}{10 \cdot 0,1 \cdot 100} = \text{мг \%}$$

3,2 – маса рутину в мкг, що відповідає 1мл розчину калій перманганату

А - об'єм розчину калій перманганату, що пішов на титрування;

50 – загальний об'єм витяжки, в мл;

100 - перерахунок на 100 г чаю;

10 - об'єм екстракту для титрування, в мл;

0,1 – маса речовини в г, що взята для аналізу;

1000 - перерахунок в мг.

В нормі в чаї міститься 30-50 мг % рутину.

Висновок: _____

Дата

«_____» _____ 20__р. Підпис викладача:

Тема 9. Характеристика водорозчинних вітамінів групи В: назви, коферментні та некоферментні функції, харчові джерела, добова потреба, ознаки авітамінозу, біомедичне застосування

Актуальність теми: всі вітаміни групи В після надходження в організм метаболізуються в фізіологічно активні сполуки – коферменти, що є складовими активних центрів багатьох ферментів, які каталізують найважливіші метаболічні та енергетичні процеси. Знання лікарем структури вітамінів та їх коферментних форм, механізму дії та захворювань, що спричинені їх недостатністю, можуть бути корисними для діагностики, профілактики та лікування

Загальна мета заняття: засвоїти структуру, шляхи активації, участь у метаболізмі та ознаки недостатності тіаміну, рибофлавіну, пантотенату, нікотинамід, піридоксину, біотину, фолієвої кислоти та кобаламіну.

Конкретні цілі: знати:

- ☐ структуру вітамінів В1, В2, В3, РР, В6, В8, В9, В12 та їх коферментних форм
- ☐ механізми дії вітамінних коферментів в основних метаболічних шляхах;
- ☐ причини та ознаки виникнення вітамінної недостатності, їх біохімічну діагностику;
- ☐ харчові джерела, добову потребу та медичне застосування вказаних вітамінів.

Основні питання теми:

1. Вітаміни групи В: В1, В2, В3, РР, В6, В8, В9, В12: назви цих вітамінів за хімічною природою і фізіологічною дією та відповідних їм коферментів
2. Механізм дії та участь у метаболізмі коферментних форм тіаміну, рибофлавіну, пантотенату, нікотинамід, піридоксину, біотині, фолієвої кислоти та кобаламіну.
3. Причини виникнення, клінічні та біохімічні ознаки, назви хвороб недостатності цих вітамінів
4. Вміст вітамінів групи В у продуктах харчування, добова потреба здорової дорослої людини в них та їх медичне застосування.

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Цитостатик метатрексат, що використовується при лікуванні онкохворих, є антагоністом (антивітаміном): А. тіаміну В. рибофлавіну С. кобаламіну D. фолату Е. пантотенату	2. Одновуглецеві фрагменти (метильні, метиленові, метенільні та ін.) переносить вітамін: А. В6 В. В1 С. В2 D. В9 Е. В3
3. До складу вітаміну В12 входить метал: А. Са В. Со С. К D. Mg Е. Cd	4. Коферментною формою вітаміну В9 є: А. НАД В. ФАД С. ПАЛФ D. ТГФК Е. ФМН
5. До складу метилтрансфераз входить коферментна форма вітаміну: А. В1 В. В2 С. В8 D. В9 Е. В3	7. Внутрішній фактор Кастла, необхідний для засвоєння вітаміну В12, продукується: А. слизовою шлунку В. слизовою дванадцятипалої кишки С. слизовою тонкого кишечника D. панкреатичною залозою Е. слизовою порожнини рота
8. При дефіциті вітаміну В12 виникає: А. хвороба Адісона-Бірмера В. перніціозна анемія С. зловиясна анемія D. мегалобластична макроцитарна анемія Е. всі відповіді вірні	9. Коферментними формами вітаміну РР є: А. ФАД і ФМН В. ПАЛФ і ПАМФ С. ТГФК і метилкобаламін D. НАД і НАДФ Е. КоА-SH і біоцитин
9. Фармпрепарат кокарбоксілаза – це кофермент: А. ФАД В. ПАЛФ	10. Активує і переносить ацильні залишки КоА-SH – коферментна форма вітаміну А. тіаміну В. рибофлавіну

С. ТГФК	С. фолієвої кислоти
D. НАД	D. кобаламіну
E. ТДФ	E. пантотенової кислоти

Лабораторна робота: Якісні реакції на вітаміни

1. Реакція на вітамін B1

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	5% розчин вітаміну B1 (тіаміну)	3 краплі
2	10% розчин натрій гідроксиду	10 крапель
3	5% розчин калій гексациано(III)ферату	2 краплі
Реєстрація забарвлення		

2. Реакція на вітамін B2

Принцип. В основі реакції використана властивість вітаміну B2 легко відновлюватися.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	5% розчин вітаміну B2 (рибофлавіну)	10 крапель
2	концентрована хлоридна кислота	5 крапель
3	Зернина металевого цинку	
Реєстрація зміни забарвлення протягом 20 хв		

3. Реакція на вітамін B6

Принцип. Вітамін B6 з ферум(III)хлоридом утворює сполуку типу ферум феноляту.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин вітаміну B6	5 крапель
2	Розчин ферум(III)хлориду	1 крапля
Реєстрація забарвлення		

Дата

« _____ » _____ 20__ р. Підпис викладача:

Тема 10. Жиророзчинні вітаміни: коферментні, некоферментні та гормональні функції.

Ознаки та причини авітамінозів та гіпервітамінозів. Біомедичне застосування жиророзчинних вітамінів

Актуальність теми: жиророзчинні вітаміни в організмі виконують коферментні, антиоксидантні, регуляторні, зорові та інші важливі функції, тому знання їх структури, механізмів дії та способів профілактики захворювань, що виникають при їх недостатності, є корисними для практичної медицини.

Загальна мета заняття: засвоїти структуру, всмоктування, шляхи активації, участь в метаболізмі та ознаки недостатності вітамінів А, Д, Е, К.

Конкретні цілі: знати:

- ☐ загальні риси будови вітамінів А, Д, Е, К;
- ☐ біологічне значення жиророзчинних вітамінів;
- ☐ механізми дії вітамінів А, Д, Е, К;
- ☐ активні форми вітамінів А і Д;
- ☐ причини та ознаки виникнення їх вітамінної недостатності, біохімічну діагностику;
- ☐ харчові джерела, добову потребу та медичне застосування цих вітамінів.

Основні питання теми:

1. Вітамін А: структура, активні форми, біологічна роль, харчові джерела, провітаміни, добова потреба, хвороби і стани, що виникають при його недостатності та надлишковому надходженні в організм.
2. Вітамін Д: структура, активні форми, провітаміни, синтез і активація в організмі, біологічна роль, добова потреба, харчові джерела, хвороби і стани, що виникають при його дефіциті.
3. Вітамін Е: структура, біологічна роль, добова потреба, харчові джерела, прояви його недостатності. Токоферол як головний антиоксидант нашого організму.
4. Вітаміни групи К: біологічна роль, антивітаміни, добова потреба, харчові джерела, хвороби і стани, що виникають при їх недостатності. Коферментна функція вітаміну К.
5. Медичне застосування жиророзчинних вітамінів

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. У чоловіка, що тривалий час не вживав з їжею жирів, але отримував достатню вуглеводів і білків, виявлено дерматит, погане загоювання ран, погіршення зору. Причиною порушення обміну речовин є: А. низька калорійність дієти В. нестача пальмітинової кислоти С. нестача вітамінів РР, Н Д. нестача лінолевої кислоти, вітамінів А, Д, Е, К Е. нестача олеїнової кислоти	2. Вітамін А в комплексі зі специфічними циторецепторами проникає через ядерні мембрани, індукує процеси транскрипції, що стимулює ріст та диференціювання клітин. Цю біологічну функцію реалізує наступна форма вітаміну А: А. каротин В. транс-ретиналь С. цис-ретиналь Д. ретинол Е. транс-ретиноева кислота
3. У хворих з непрохідністю жовчовивідних шляхів пригнічується зсідання крові, виникають кровотечі, що є наслідком порушення засвоєння вітаміну: А. С В. А С. Д Д. Е Е. К	4. У хворого порушення зору в сутінках, підсихання кон'юнктиви та рогової оболонки, що може бути ознакою дефіциту вітаміну: А. С В. В С. А Д. Д Е. В12
5. При якому гіповітамінозі спостерігається одночасне порушення репродуктивної функції і дистрофія скелетної мускулатури? А. Е В. А С. К Д. Д Е. В1	6. Хворому з тромбоемболічною хворобою призначений штучний антикоагулянт пелентан, що є антагоністом вітаміну: А. К В. Е С. А Д. Д Е. С
7. У хворого спостерігається гемералопія (куряча сліпота). Яка з перерахованих речовин виявлятиме лікувальний ефект? А. каротин	8. У моркві, гарбузах, томатах та інших червоних та помаранчевих овочах і фруктах містяться каротини, що є провітамінами: А. ретинолу

В. кератин С. креатин D. карнітин Е. карнозин	В. нафтохінону С. рибофлавіну D. токоферолу Е. кальциферолу
9. В дитячу лікарню поступила дитина з ознаками рахіту (деформація кісток, пізнє заростання тім'ячка та ін.) При біохімічному аналізі крові відмічено: А. зниження рівня Mg^{2+} В. зниження рівня K^{+} С. підвищення рівня фосфатів D. зниження рівня Ca^{2+} Е. підвищення рівня Na^{+}	10. У новонародженої дитини з'явилися симптоми геморагічної хвороби в зв'язку з гіповітамінозом К. Розвиток захворювання обумовлений тим, що вітамін К: А. є кофактором гама-глутаміл-карбоксилази В. є кофактором протромбіну С. є специфічним інгібітором антитромбінів D. впливає на протеолітичну активність тромбіну Е. інгібує синтез гепарину

Лабораторна робота:

1. Реакція на вітамін А

Реакція основана на здатності вітаміну А окиснюватись концентрованою сульфатною кислотою.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка (суха!)
1	Розчин ретинолу	2 краплі
2	Концентрована сульфатна кислота	2 краплі
Реєстрація забарвлення		

2. Виявлення вітаміну Е реакцією з ферум (III) хлоридом

Принцип. Спиртовий розчин альфа-токоферолу окиснюється ферум хлоридом до токоферілхінону.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка (суха!)
1	0,1% розчин токоферолу	5 крапель
2	1% розчин ферум хлориду	0,5 мл
Реєстрація забарвлення		

3. Виявлення вітаміну К реакцією з аніліном

Принцип. Спиртовий розчин 2-метил-1,4-нафтохінону за наявності аніліну змінює своє забарвлення утворюючи 2-метил-3-феніламіно-1,4-нафтохінон.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка (суха!)
1	0,05% спиртовий розчин вікасолу	16 крапель
2	0,05% розчин аніліну	2 краплі
Реєстрація забарвлення		

Дата

« _____ » 20__ р. Підпис викладача:

Тема 11. Кров як біологічна рідина: функції, фізико-хімічні константи. Хімічний склад крові в нормі і при патології. Небілкові азотвмісні та без азотисті компоненти крові. Залишковий азот. Азотемія. Білки плазми крові. Білки гострої фази запалення. Ферменти крові, індикаторні ферменти. Кількісне визначення хлоридів крові за методом Рушняка

Актуальність теми: кров є спеціалізованою рідкою тканиною організму, його внутрішнім середовищем, яке забезпечує зв'язок та інтеграцію обміну речовин різних органів і тканин в цілісну систему, підтримує постійність її складу. Зміни фізико-хімічних властивостей крові викликають подальші порушення гомеостазу всього організму. Тому оцінка фізико-хімічних констант крові має важливе діагностичне значення і широко використовується в медицині. В плазмі крові містяться низькомолекулярні азотовмісні сполуки - сечовина, амінокислоти, аміак, креатинін, індікан та інші, які складають систему залишкового азоту (rest-азот). У лабораторній діагностиці визначення rest-азоту та його компонентів відіграє велику роль в діагностиці патології нирок, печінки та інших патологічних станів. В нормі залишковий азот крові дорівнює 14-28 ммоль/л.

У плазмі крові міститься більше 300 різних білків, що відрізняються за фізико-хімічними та функціональними властивостями: транспортні білки, ферменти, проферменти, інгібітори ферментів, гормони, антитіла, фактори коагуляції, антикоагулянти тощо. Білки плазми слугують резервом амінокислот в організмі, підтримують рівень катіонів в плазмі, забезпечують необхідну для нормальної гемодинаміки в'язкість крові, створюють онкотичний тиск, беруть участь в підтримці кислотно-лужної рівноваги. Імуноглобуліни, білки системи зсідання крові, білки системи комплементу, α_1 -антитрипсин здійснюють захисну функцію. Оцінка кількісного та якісного складу білків плазми крові, в тому числі і визначення активності окремих ферментів, широко використовується для діагностики різних патологічних станів.

Загальна мета заняття: засвоїти хімічний склад та функції крові, фізико-хімічні константи крові, їх зміни при патології. Засвоїти основні фракції білків та групи ферментів плазми крові, їх зміни при патології, діагностичне значення.

Конкретні цілі: уміти

- ☐ пояснювати функції крові, константи крові та механізми їх регуляції
- ☐ характеризувати хімічний склад крові (низькомолекулярні органічні та мінеральні речовини) в нормі та його зміни при патології
- ☐ пояснювати біохімічні механізми підтримки кислотно-лужної рівноваги, причини та види її порушення
- ☐ трактувати поняття залишкового азоту та його діагностичне значення
- ☐ характеризувати склад та функції основних білкових фракцій плазми крові
- ☐ трактувати зміни вмісту загального білку в плазмі крові в умовах патології
- ☐ знати патологічні білки плазми крові та білки гострої фази, їх діагностичне значення
- ☐ характеризувати групи ферментів плазми крові, знати їх головних представників та клінічне значення оцінки їх активності в плазмі крові
- ☐ характеризувати склад та функції кінінової системи плазми крові.

Основні питання заняття:

1. Кров як біологічна рідина, функції крові.
2. Фізико-хімічні константи крові, їх регуляція.
3. Буферні системи крові, лужний резерв крові. Порушення кислотно-лужної рівноваги (ацидоз, алкалоз).
4. Хімічний склад крові, характеристика низькомолекулярних органічних компонентів (азотвмісних та безазотистих).
5. Залишковий азот крові, види азотемії (ретенційна, продукційна).
6. Білки плазми крові: загальна характеристика, методи визначення, основні фракції. Вміст загального білка в плазмі крові в нормі та його зміни при патології.

7. Характеристика білкових фракцій плазми крові (альбуміни, $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β -, γ - глобуліни) та їх окремих представників ($\alpha 1$ -антитрипсин, гаптоглобін, трансферин, церулоплазмін, $\alpha 2$ -макроглобулін, інтерферон, фібриноген).
8. Білки гострої фази (С-реактивний протеїн) та патологічні білки плазми крові (кріоглобулін, альфа-фетопротеїн).
9. Ферменти плазми крові (власні, індикаторні, екскреторні): окремі представники та їх значення для діагностики патологічних станів.
10. Кінінова система крові, її значення.

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Завдання для перевірки вихідного рівня знань:

а) Напишіть вміст основних біохімічних показників в плазмі крові в нормі:

креатинін _____
сечовина _____
сечова кислота _____
глюкоза _____
холестерин _____
білірубін _____
кетонові тіла _____

б) Напишіть нормальні значення показників крові, за якими оцінюють стан кислотно-лужної рівноваги:

pH _____
pCO₂ _____
вміст бікарбонатів в плазмі крові _____
лужний резерв крові _____

в) Напишіть вміст загального білка та його фракцій в сироватці крові:

загальний білок _____
альбуміни _____
глобуліни _____
 $\alpha 1$ -глобуліни _____
 $\alpha 2$ -глобуліни _____
 β -глобуліни _____
 γ -глобуліни _____
коефіцієнт альбуміни/глобуліни _____

г) Напишіть ферменти – індикатори захворювань

міокарду _____
печінки _____
підшлункової залози _____
кісткової тканини _____

Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. До низькомолекулярних безазотистих органічних речовин, які містяться в плазмі крові, відносяться: А. білірубін, креатинін, сечова кислота В. альбуміни, глобуліни С. гаптоглобін, креатин, ксантин D. холестерин, глюкоза, кетонові тіла Е. креатин, індікан, гепарин	2. Які речовини об'єднуються поняттям залишковий азот крові: А. креатинін, сечовина, сечова кислота В. глюкоза, холестерин, сечовина С. білірубін, креатин, молочна кислота D. глюкоза, піруват, кетонові тіла Е. карнітин, індікан, альбумін
3. Підвищення вмісту яких речовин в плазмі крові характерно для кетоацидозу:	4. Зростання концентрації якої речовини в сироватці крові свідчить про порушення

А. лактату, пірувату, цитрату В. вугільної кислоти, бікарбонатів, хлоридів С. ацетоацетату, бета-гідроксибутирату, ацетону Д. ацетону, пірувату, лактату Е. ацетату, фосфатів, бікарбонатів	функції нирок: А. холестерину В. альбуміну С. сечовини Д. білірубіну Е. індикану
5. При респіраторному алкалозі визначається: А. підвищення $p\text{CO}_2$ в крові В. зниження $p\text{CO}_2$ в крові С. зниження вмісту бікарбонатів в плазмі крові Д. зниження $p\text{H}$ крові Е. зниження вмісту іонів натрію в плазмі крові	6. Ретенційна азотемія виникає при зниженні екскреції азотистих сполук з сечею. Який компонент залишкового азоту крові при цьому буде зростати найбільше: А. індикан В. білірубін С. сечовина Д. сечова кислота Е. амінокислоти
7. Найбільш потужною буферною системою крові вважається: А. бікарбонатна В. гемоглобінова-оксигемоглобінова С. фосфатна Д. білкова Е. карбоксигемоглобінова	8. Підвищення вмісту яких речовин в плазмі крові свідчить про розвиток метаболічного ацидозу: А. сечової кислоти, сечовини В. вуглекислоти та бікарбонатів С. іонів натрію, калію, хлору Д. парціального тиску CO_2 Е. лактату, пірувату, кетонових тіл
9. Підвищення парціального тиску CO_2 в крові при нападі бронхіальної астми викликає розвиток: А. респіраторного ацидозу В. респіраторного алкалозу С. метаболічного ацидозу Д. метаболічного алкалозу Е. лактоацидозу	10. Онкотичний тиск крові – це частина осмотичного тиску, обумовлена: А. іонами натрію, калію, хлору В. низькомолекулярними азотистими сполуками С. глюкозою та кетоновими тілами Д. білками плазми Е. гемоглобіном
11. В плазмі крові містяться наступні білки, за винятком: А. фібриноген В. гаптоглобін С. гемоглобін Д. трансферин Е. альбумін	12. Який з перерахованих білків плазми крові відсутній в сироватці: А. гаптоглобін В. церулоплазмін С. альбумін Д. ліпопротеїн Е. фібриноген
13. При зниженні вмісту якого білка плазми крові порушується обмін міді та виникає хвороба Вільсона? А. трансферину В. церулоплазміну С. гаптоглобіну, Д. антитрипсину Е. інтерферону	14. Активність якого ферменту зростає в перші години після больового нападу при гострому інфаркті міокарду: А. креатинфосфокіназа В. ЛДГ С. АсАТ Д. АлаТ Е. лужна фосфатаза
15. Кініни – це похідні білка плазми крові: А. фібриногену В. калікреїну С. кініногену Д. альбуміну Е. гаптоглобіну	16. До білків гострої фази не відноситься А. С-реактивний білок В. фібриноген С. альфа-1-антитрипсин Д. гаптоглобін Е. гемоглобін
17. Хворий доставлений в лікарню через 2 години після серцевого нападу. Активність	18. У хворого на гострий панкреатит в плазмі крові підвищена активність ферменту

якого ферменту потрібно оцінити в першу чергу: А. АсАТ В. ЛДГ4,5 С. КФК-МВ D. КФК-ММ Е. АлАТ	А. АсАТ В. АлАТ С. креатинфосфокінази D. амілази Е. лактатдегідрогенази
19. До плазмоспецифічних ферментів не відноситься: А. калікреїн В. холінестераза С. ліпопротеїніліпаза D. лізоцим Е. аспартатамінотрансфераза	20. Який з білків плазми крові має противірусну активність: А. альбумін В. фібриноген С. церулоплазмін D. трансферин Е. інтерферон
21. Більшість білків плазми крові є глікопротеїнами, за винятком: А. альбумінів В. фібриногену С. церулоплазміну D. альфа-1-антитрипсину Е. альфа-2-макроглобуліну	22. При спадковому дефіциті якого білка плазми крові виникає емфізема легень: А. церулоплазміну В. трансферину С. альфа-1-антитрипсину D. інтерферону Е. фібриногену

Лабораторна робота:

Кількісне визначення хлоридів крові за методом Рушняка

Принцип. У безбілковому фільтраті іони хлору взаємодіють з аргентум нітратом, надлишок якого відтитровують амоній роданідом у присутності індикатору (залізо-амоній сульфату). Закінчення реакції визначають за появою рожевого забарвлення, що утворене $\text{Fe}(\text{CNS})_3$. Нормальний вміст хлоридів у сироватці крові – 86-103 ммоль/л.

Клініко-діагностичне значення. Зниження вмісту хлоридів (гіпохлоремія) спостерігається при: підвищенні виділення хлоридів з організму (посилене потовиділення) діареї, частій блювоті респіраторному та метаболічному ацидозі, частому зондуванні, непрохідності кишечника, недостатності функції наднирників. Підвищення вмісту хлоридів в крові має місце при: нирковій недостатності, гіперпаратиреозі, дегідратації тканин.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	№ 1 (дослід)	№ 2 (контроль)
Проводити в колбочках (стаканчиках) для титрування			
1	Дистильована вода, мл	5	5
2	Сироватка крові, мл	0,2	-
3	0,01М розчину аргентум нітрату, мл	3	3
4	Концентрована нітратна кислота, краплі	8	8
5	Розчин залізо-амоній сульфату, краплі	4-5	4-5
Титрування 0,01М розчином амоній роданіду до слабо рожевого забарвлення			
Результати титрування, мл		б=	а=

$$X = \frac{(a-b) \cdot 0,01 \cdot 1000}{0,2} = \text{ммоль/л, де:}$$

0,01 – еквівалентність розчину аргентум нітрату

1000 – перерахунок на мг – еквівалент

0,2 – об'єм сироватки крові, мл.

Висновок: _____

Виділення фібриногену з плазми крові

Принцип. Молекули фібриногену мають видовжену форму з відношенням осей 20:1, тому розчини його дуже в'язкі. У процесі згортання крові фібриноген перетворюється у фібрин. На відміну від фібриногену фібрин не розчиняється у воді і має значно більшу молекулярну масу. При додаванні до плазми крові натрію хлориду (до концентрації 10%) фібриноген випадає в осад, а всі інші білки залишаються в розчині.

Клініко-діагностичне значення. Фібриноген міститься в плазмі (2-4 г/л). Зниження його вмісту призводить до погіршення згортання крові та кровотеч, а збільшення – до тромбозів.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
		№ 1 (дослідна)
	Плазма крові, мл	2,0
	Сухий NaCl, мг	200
Старанно перемішати до повного розчинення. Спостерігати утворення осаду		
Відфільтрувати вміст пробірки крізь кружальце фільтрувального паперу		
Осад являє собою щільну масу з добре вираженою волокнистою структурою		

Висновок: _____

Дата
«_____» _____ 20__ р.

Підпис викладача: _____

Тема 12. Особливості обміну речовин в еритроцитах. Гемоглобін: будова, види, сполуки, біосинтез, патологія. Гемоглобінози (гемоглобінопатії, таласемії), порфірії

Актуальність теми: Еритроцити - червоні клітини крові виконують одну з найважливіших її функцій – дихальну. Порушення будови та обміну цих клітин часто супроводжуються важкими клінічними проявами – гемолітичною анемією, гіпоксією. Дихальна функція еритроцитів здійснюється за рахунок гемопротеїну – гемоглобіну, який існує у вигляді різних молекулярних форм (HbA1, A2, F та ін.) та сполук (HbO2 та ін.). Синтез гемоглобіну відбувається у декілька етапів і починається з синтезу гему. Спадкові порушення синтезу гему та гемоглобіну призводять до розвитку хвороб (порфірій та гемоглобінозів).

Загальна мета заняття: трактувати особливості будови та обміну речовин в еритроцитах, молекулярні основи спадкових порушень синтезу гема та гемоглобіну та їх біохімічні прояви.

Конкретні цілі: уміти

- ☐ характеризувати будову та особливості метаболізму еритроцитів та наслідки їх порушень
- ☐ пояснювати будову гемоглобіну, його види і сполуки
- ☐ пояснювати механізм біосинтезу гема та гемоглобіну, писати реакції
- ☐ трактувати молекулярні основи гемоглобінозів (гемоглобінопатій та таласемій)
- ☐ розуміти механізми розвитку та принципи діагностики порфірій

Основні питання теми:

1. Особливості будови, хімічного складу та обміну речовин в еритроцитах. Молекулярні основи гемолізу еритроцитів
2. Гемоглобін: будова, види, сполуки

3. Етапи біосинтезу гемоглобіну (синтез протопорфірину IX, гему та гемоглобіну) та їх регуляція
4. Гемоглобінози: гемоглобінопатії, таласемії
5. Ензимопатії синтезу гема - порфірії (еритропоетична порфірія, печінкові порфірії).

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Завдання для перевірки вихідного рівня знань

а) Напишіть реакції утворення та знешкодження активних форм кисню в еритроцитах.

б) Напишіть реакції синтезу амінолевулінату та схему послідовних стадій синтезу гема.

Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. Здатність гемоглобіну зв'язувати кисень зменшується при: А. збільшенні в еритроцитах 2,3-дифосфогліцерату В. підвищенні рН крові С. зниженні температури тіла D. зниженні парціального тиску CO ₂ в крові Е. збільшенні парціального тиску O ₂ в крові	2. Головний енергозабезпечуючий процес в еритроцитах: А. аеробне окислення глюкози В. глікогеноліз С. гліколіз D. глюконеогенез Е. бета-окислення жирних кислот
3. Головними білками мембранного скелету еритроциту є: А. актин, міозин В. глікофорин, альбумін С. спектрин, актин D. гемоглобін, ліпопротеїни Е. глутатіон, глікопротеїни	4. При спадковій недостатності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах: А. накопичуються активні форми кисню В. знижується вміст НАДФН ₂ С. посилюється утворення метгемоглобіну D. знижується вміст відновленого глутатіону Е. всі відповіді вірні
5. У хворого після прийому сульфаніламідних препаратів розвинулась гемолітична анемія. Це пов'язано з: А. підвищенням осмотичного тиску крові В. розвитком метаболічного ацидозу С. порушеннями водно-електролітного балансу D. недостатністю глюкозо-6-фосфатдегідрогенази еритроцитів Е. зменшенням в'язкості крові	6. В сечі хворої 35 років із скаргами на болі в ділянці живота, проноси, виявлено порфобіліноген та дельта-амінолевуленову кислоту. Ці ознаки є проявом порушення: А. синтезу гему В. синтезу уробіліну С. синтезу білірубину D. синтезу жовчних кислот Е. розпаду гему
7. Білок еритроцитів, який утворює групи крові АВ0: А. спектрин В. актин С. глікофорин А D. глутатіон Е. гемоглобін	8. Джерелом іонів заліза гему є білок: А. церулоплазмін В. фібронектин С. феритин D. гаптоглобін Е. макроглобулін
9. Порфірин (гем) складається з 4-х заміщених кілець:	10. Гемоглобін транспортується в ретикулоендотеліальну систему білком:

A. піримідинів B. піролів C. піридинів D. імідазолів E. тіофенів	A. альбуміном B. феритином C. трансферином D. гаптоглобіном E. церулоплазміном
11. Включення в молекулу протопорфірину IX Fe ²⁺ каталізується: A. феррохелатазою B. гемоксигеназою C. білівердинредуктазою D. уропорфіриногендекарбоксилазою E. порфобіліногендезаміназою	12. Сполука гемоглобіну з CO ₂ має назву: A. оксигемоглобін B. карбгемоглобін C. карбоксигемоглобін D. метгемоглобін E. міоглобін

Лабораторна робота: Якісні реакції на гем гемоглобіну

Якісна реакція на гем гемоглобіну

Принцип. При додаванні до розведеного розчину крові розчину бензидину та гідроген пероксиду проходить окиснення бензидину з утворенням забарвлених продуктів реакції (бензидинова проба на кров). Бензидин окислюється в дифенохінондимін, що має синє забарвлення, яке через деякий час переходить у червоне. Гемоглобін виконує роль каталізатора реакції.

Клініко-діагностичне значення. Проба застосовується в судово-медичній практиці для доказу наявності кров'яних плям, в клініці - для знаходження малих кількостей крові в біологічних об'єктах: шлунковому соці, калі і т.д.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Виконувати на лабораторному скельці
1	Розведена кров, краплі	5
2	0,2% спиртовий розчин бензидину, краплі	2
3	3% гідроген пероксид, краплі	2
Колір забарвлення		

Висновок: _____

Визначення наявності крові на медичному інструментарії

Принцип. При взаємодії азопіраму з гемоглобіном в присутності гідроген пероксиду, як окисника, утворюються забарвлені продукти.

Клініко-діагностичне значення. Користування забрудненим кров'ю медичним інструментарієм може призвести до інфікування як пацієнта, так і лікаря вірусами гепатитів В та С, ВІЛ та іншими збудниками, які містяться в крові, і спричинити розвиток гепатитів, СНІД, тощо. Тому якість санітарної обробки медичного інструментарію повинна ретельно контролюватись.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Виконувати на лабораторному скельці
1	Розведена кров, краплі	1
2	Розчин азопіраму, краплі	4
3	3% гідроген пероксид, краплі	4
Колір забарвлення		

Висновок: _____

Дата

«_____» _____ 20__ р.

Підпис викладача:

Тема 13. Біохімічні функції печінки. Роль печінки у вуглеводному, ліпідному та білковому обміні. Пігментний обмін. Катаболізм гемоглобіну в тканинах.

Жовтяниці

Актуальність теми: печінка – орган, який займає центральне місце в регуляції практично всіх видів обміну речовин, забезпечує постійність фізико-хімічних констант крові, підтримує сталість внутрішнього середовища організму. Після всмоктування в шлунково-кишковому тракті через печінку проходять не тільки поживні сполуки, а і велика кількість чужорідних хімічних речовин, значна частина яких знешкоджується саме в печінці. Порушення функціонального стану печінки негативно відображається на гомеостазі організму в цілому.

Печінка відіграє важливу роль в катаболізмі гемоглобіну та інших гемвмісних білків, при розщепленні яких утворюються жовчні пігменти (білірубін, білівердин). Ці сполуки разом з іншими органічними речовинами, які продукуються гепатоцитами, входять до складу жовчі, надаючи їй специфічного жовтого кольору. Порушення катаболізму гемоглобіну та обміну жовчних пігментів призводять до розвитку жовтяниць і мають характерні біохімічні прояви. Визначення рівня білірубину та інших жовчних пігментів в крові, сечі, калі мають важливе значення для диференційної діагностики жовтяниць.

Загальна ціль: трактувати біохімічні функції печінки та її роль в метаболізмі вуглеводів, ліпідів та білків, етапи розпаду гемоглобіну в тканинах, роль печінки в обміні жовчних пігментів та пояснювати діагностичне значення показників катаболізму гемоглобіну.

Конкретні цілі: уміти

- ☐ пояснювати роль печінки в обміні вуглеводів, ліпідів та його регуляції
- ☐ розкрити білоксинтезуючу функцію печінки
- ☐ пояснити сечовиноутворювальну функцію печінки
- ☐ пояснювати етапи катаболізму гемоглобіну та обміну жовчних пігментів
- ☐ інтерпретувати поняття «непрямий» та «прямий» білірубін
- ☐ трактувати набуті та спадкові порушення пігментного обміну

Основні питання теми:

1. Печінка – центральний орган підтримки гомеостазу організму. Роль печінки в обміні вуглеводів та ліпідів.
2. Роль печінки в обміні білків та амінокислот, детоксикації аміаку та синтезі сечовини.
3. Катаболізм гемоглобіну: основні етапи, роль ретикуло-ендотеліальної системи та печінки.
4. Обмін та характеристика жовчних пігментів (прямого та непрямого білірубину, стеркобіліну та уробіліну). Рівень загального білірубину та його фракцій в плазмі крові в нормі.
5. Жовтяниці: визначення, класифікація. Характеристика набутих жовтяниць, їх біохімічна діагностика.
6. Спадкові жовтяниці: характеристика, біохімічна діагностика.

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю

Вкажіть ферменти плазми крові – індикатори ураження печінки

показники білоксинтезуючої функції печінки

Заповнити таблицю «Диференційна діагностика жовтяниць»

Види жовтяниць	Показники				
	білірубін крові		сеча		кал
	прямий	непрямий	білірубін	уробілін	стеркобілін
Гемолітична					
Паренхіматозна					
Обтураційна					

Тести для перевірки вихідного рівня знань:

1. У крові хворого на гепатит знижений вміст альбумінів, що пояснюється: А. Порушенням жовчоутворення В. Пригніченням їх руйнування в печінці С. Підвищеною екскрецією альбумінів з сечею Д. Посиленням всмоктування амінокислот у кишечнику Е. Порушенням білок синтезуючої функції печінки	2. В організмі людини тригліцериди синтезуються в печінці, а депонуються в жировій тканині. Тригліцериди транспортуються з печінки в жирову тканину переважно в складі: А. Хіломікронів В. Ліпопротеїнів дуже низької щільності С. Ліпопротеїнів високої щільності Д. Ліпопротеїнів низької щільності Е. В комплексі з альбумінами
3. При цукровому діабеті в печінці посилюється синтез ацетонових тіл, які синтезуються з: А. Сукциніл-КоА В. Малоніл-КоА С. Ацетил-КоА Д. Метилмалоніл-КоА Е. Глутаріл-КоА	4. Єдиним місцем синтезу альбумінів є: А. Серце В. Нирки С. Печінка Д. Гіпофіз Е. Шлунок
5. Хворому з ожирінням, небезпекою жирової дистрофії печінки рекомендовано дієту, збагачену ліпотропними речовинами, а саме: А. Вітаміном С В. Холестерином С. Глюкозою Д. Гліцином Е. Метіоніном	6. У хворого, виснаженого голодуванням, у печінці посилюється процес: А. Гліколізу В. Глікогенезу С. Глюконеогенезу Д. Пентозний шлях Е. Утворення білірубину
7. Гальмує перебіг циклу трикарбонових кислот і посилює кетогенез низький рівень в гепатоцитах А. Ізоцитрату В. Малату С. Цитрату	8. Основна маса азоту з організму виводиться у вигляді сечовини. Гальмує синтез сечовини і призводить до накопичення аміаку у крові зниження в печінці активності ферменту: А. Синтетази жирних кислоти

D. Ацетил-КоА Е. Оксалоацетату	В. Амілази С. АТФ-синтетази D. Карбамоїлфосфатсинтетази Е. Пепсину
9. Кінцевий продукт білкового обміну, що утворюється в печінці і екскретується нирками - це: А. Креатин В. Солі амонію С. Сечовина D. Амінокислоти Е. Альбуміни	10. В крові хворого підвищена активність ЛДГ5, аланінотрансферази, що є показниками розвитку патологічного процесу в: А. Серцевому м'язі В. Сполучній тканині С. Нирках D. Скелетних м'язах Е. Печінці
11. Кон'югований білірубін має властивості, крім: А. Зв'язаний з глюкуроновою кислотою В. Розчинний С. Малотоксичний D. Зв'язаний з альбумінами Е. Дає реакцію з реактивом Ерліха	12. Вільний білірубін має властивості, крім: А. Не дає реакцію з реактивом Ерліха В. Нерозчинний С. Токсичний D. Зв'язаний з альбумінами Е. Гідрофільний
13. В кишечнику утворюється продукт катаболізму гемоглобіну: А. Вердоглобін В. Білівердин С. Непрямий білірубін D. Прямий білірубін Е. Мезобілірубін	14. Білок, з яким зв'язується гемоглобін для транспорту в ретикуло-ендотеліальну систему після руйнування еритроцитів, це: А. Альбумін В. Феритин С. Трансферин D. Гаптоглобін Е. Церулоплазмін
15. Характерно для гемолітичної жовтяниці: А. Підвищена концентрація прямого білірубіна в крові В. Зниження вмісту стеркобіліну в калі С. Відсутність уробіліну в сечі D. Білірубінурія Е. Підвищена концентрація непрямого білірубіну в крові	16. У хворі пожовтіння склер та шкіри, ахолічний кал, сеча «кольору темного пива», що характерно для обтураційної жовтяниці. Зумовлює темне забарвлення сечі наявність А. Кетонових тіл В. Прямого білірубіну С. Глюкози D. Гему Е. Нпрямого білірубіну
17. Пацієнт скаржиться на загальну слабкість, болі в животі, поганий апетит, жовтяницю, безбарвний кал. В сироватці крові 77,2 мкМ загального білірубіну, з них 70,7 мкМ прямого. Все перераховане характерне для: А. Механічної жовтяниці В. Гострого гепатиту С. Цирозу печінки D. Паренхіматозної жовтяниці Е. Гемолітичної жовтяниці	18. Під час нападу малярійної лихоманки у хворого вміст загального білірубіну в крові підвищений за рахунок непрямого, в калі і сечі високий вміст стеркобіліну, що характерно для жовтяниці: А. Паренхіматозної В. Гемолітичної С. Механічної D. Біліарної Е. Новонароджених
19. Характерним для механічної жовтяниці є: А. Підвищена концентрація прямого білірубіну в крові В. Збільшення вмісту стеркобіліну в калі С. Наявність уробіліну в сечі	20. У жінки з жовчокам'яною хворобою розвинулась жовтяниця. Сеча «кольору темного пива», кал знебарвлений. У сировотці крові підвищена концентрація А. Вільного білірубіну В. Кон'югованого білірубіну

D. Відсутність білірубіну в сечі	C. Уробіліну
E. Підвищена концентрація непрямого білірубіну в крові	D. Гемоглобіну
	E. Трансферину

Лабораторна робота.

Кількісне визначення білка біуретовим методом.

Принцип. В основі лежить кольорова реакція з біуретовим реактивом: білки в лужному середовищі реагують із купрум сульфатом, при цьому утворюються сполуки, забарвлені у фіолетовий колір. Клініко-діагностичне значення: в нормі вміст загального білка в плазмі крові становить – 65-85 г/л, в тому числі альбумінів – 35-54 г/л. Зниження загальної кількості білка (гіпопротеїнемія) та альбумінів (гіпоальбумінемія) виникає при важких захворюваннях печінки (гепатит, цироз), голодуванні. Підвищення загальної кількості білка (гіперпротеїнемія) виникає при дегідратації, появі патологічних білків (мієлома хвороба).

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці)

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки		
		№1(контроль)	№2(дослід)	№3(дослід)
1	0,9% р-н NaCl, мл	0,1	-	-
2	Стандартний розчин білка, мл	-	0,1	-
3	Сироватка крові, мл	-	-	0,1
4	Біуретовий реактив, мл	5	5	5
Перемішати та інкубувати 30хв. при кімнатній температурі.				
Фотометрувати на ФЕК, червоний світлофільтр, $\lambda = 750$ нм кювета 10мм проти контролю				
Екстинція (од. опт. густини)				
Вміст білка в сироватці крові, г/л				

Розрахунок:

$$C = (E \text{ проби} / E \text{ стандарту}) \times 50 \text{ г/л, де}$$

C - концентрація білка в сироватці, г/л

50 г/л – концентрація білка (альбуміну) в стандартному розчині,

E проби – оптична щільність проби,

E стандарту – оптична щільність стандартного розчину.

Висновок:

Дата

«_____» _____ 20__ р. Підпис викладача:

Тема 15. Детоксикаційна функція печінки. Загальні шляхи метаболізму ксенобіотиків. I фаза біотрансформації: реакції гідроксилювання і деалкілювання. Метаболізм ксенобіотиків: II та III фази біотрансформації. Реакції кон'югації

Актуальність теми: ксенобіотики – чужорідні речовини, які не використовуються організмом як джерело енергії, пластичні матеріали або каталізаторів і підлягають видаленню (елімінації) з організму. До ксенобіотиків відносяться хімічні речовини побутового і промислового застосування, більшість лікарських засобів тощо. В організмі також постійно утворюються токсичні ендogenous метаболіти, які підлягають знешкодженню. Тому у всіх живих організмів в процесі еволюції сформувались системи знешкодження та елімінації чужорідних речовин та ендogenous токсинів. Головним органом детоксикації цих речовин є печінка, вона ж найчастіше стає мішенню для їх токсичного впливу. Біотрансформація хімічних сполук може проходити в 3 фази. У результаті реакцій I фази

у складі ксенобіотиків з'являються функціональні групи -OH, -COOH, -NH₂, -SH, що збільшує полярність їх молекул і полегшує подальшу детоксикацію та елімінацію.

Біотрансформація більшості ксенобіотиків та ендогенних метаболітів, які мають у своєму складі полярні групи, включає II фазу – реакції кон'югації. Під час цих реакцій ксенобіотики сполучаються із залишками глюкуронової, сірчаної, оцтової кислот, гліцину, глутатіону. При цьому утворюються парні сполуки, які легше екскретуються з організму і зазвичай є малотоксичними. III фаза біотрансформації – важливий механізм елімінації з клітин гідрофобних ксенобіотиків, наприклад, протипухлинних антибіотиків.

Загальна мета заняття: ознайомитись з основними шляхами перетворення чужорідних речовин в організмі та з ферментними системами, що відповідають за процеси початкової фази біотрансформації ксенобіотиків; вміти застосовувати знання II та III фаз метаболізму ксенобіотиків для пояснення біотрансформації чужорідних речовин ендо- та екзогенного походження.

Конкретні цілі: уміти

- ☐ пояснювати біохімічні закономірності метаболізму ксенобіотиків в залежності від їх фізико-хімічних властивостей
- ☐ трактувати фази перетворення чужорідних сполук в живих організмах
- ☐ знати будову та функції мікосомальних електронно-транспортних ланцюгів, роль цитохрому P450
- ☐ трактувати значення феномену індукції ферментів метаболізму ксенобіотиків
- ☐ аналізувати значення явища метаболічної активації
- ☐ пояснювати значення II та III фаз метаболізму ксенобіотиків
- ☐ пояснювати шляхи і етапи біотрансформації етанолу, реалізацію його біологічних ефектів

Основні питання теми:

1. Поняття про ксенобіотики та загальні закономірності їх метаболізму.
2. Будова і функції мікосомальних електронно-транспортних ланцюгів.
3. I фаза біотрансформації ксенобіотиків: приклади реакцій окиснення (гідроксилювання, деалкілювання), роль системи цитохромів P450.
4. Феномен індукції ферментів метаболізму ксенобіотиків та його біомедичне значення.
5. Поняття про метаболічну активацію ксенобіотиків та її наслідки для організму.
6. II фаза біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних метаболітів: значення, загальні закономірності.
7. Приклади реакцій кон'югації з глюкуроновою, сірчаною, оцтовою кислотами, гліцином (утворення гіпурових кислот), глутатіоном.
8. Поняття про III фазу метаболізму ксенобіотиків та її біологічне значення.
9. Метаболізм етанолу та механізм його токсичної дії. Синтез та біологічна роль ендогенного етанолу.

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Написати приклади цитохром P450-залежних реакцій:

а) гідроксилювання аніліну;

б) деалкілювання амідопірину

Написати приклади реакцій конюгації:

а) парацетамолу з УДФ-глюкуроною кислотою;

б) стрептоциду з ацетил-КоА

Тести для перевірки вихідного рівня знань

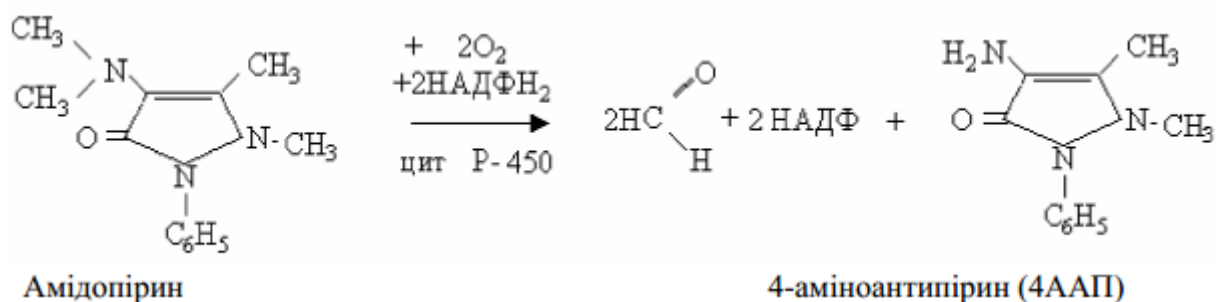
1. Елементами мікросомальних електронотransпортних ланцюгів є всі, крім: А. ФАД В. НАДФ.Н ₂ С. цитохром aa ₃ D. цитохром b ₅ Е. цитохром Р450	2. Мікросомальні ферменти розташовуються в: А. ядрі В. мітохондріях С. рибосомах D. лізосомах Е. ендоплазматичній сітці
3. При тривалому надходженні ксенобіотика в організм людини спостерігається ефект: А. змін не спостерігається В. пригнічення мікросомальних ферментів С. фосфорилування мікросомальних ферментів D. індукції мікросомальних ферментів Е. метилування виконавчих ферментів	4. Цитохром Р450-залежні монооксигенази сприяють утворенню ендогенних біологічно активних речовин: А. піровиноградної кислоти В. стероїдних гормонів С. білірубину D. креатиніну Е. інсуліну
5. Можливо, що першим ферментом метаболізму ксенобіотиків, що виник в процесі еволюції був: А. флавінова оксидоредуктаза В. цитохромоксидаза С. пероксидаза D. каталаза Е. цитохром Р450	6. Ферментами мікросомальних реакцій I фази метаболізму ксенобіотиків є: А. лактатдегідрогенази В. естерази С. монооксигенази D. ізомерази Е. АТФ-синтетази
7. Знешкодження гідрофобних токсичних речовин включає процес їх перетворення в полярні (гідрофільні) сполуки шляхом: А. трансамінування та гідролізу В. дезамінування та відновлення С. декарбоксилування та галогенування D. фосфорилування та амінування Е. окиснення та кон'югації	8. Монооксигенази переносять на субстрат 1 атом молекулярного кисню, а другий іде на утворення: А. перекису водню В. оксиду азоту С. води D. монооксиду вуглецю Е. молочної кислоти
9. Цитохроми родини Р450 отримали свою назву завдяки такій характеристиці як: А. молекулярна маса В. довжина хвилі світлопоглинання	10. До цитохром Р450-залежних реакцій I фази метаболізму ксенобіотиків не відноситься: А. гідроксилювання

С. константа седиментації D. кількості ізоформ у родині E. сульфоокиснення	В. трансамінування С. деалкілування D. епоксидування E. сульфоокислення
11. З перерахованих ендогенних сполук для знешкодження H_2O_2 необхідна присутність: A. гліцину B. глутатіону C. оцтової кислоти D. глюкуронової кислоти E. сірчаної кислоти	12. Ейфоризуючу дію алкоголю пояснюють зв'язуванням ацетальдегіду з: A. інсуліном B. дофаміном C. норадреналіном D. гістаміном E. брадікініном
13. Ефективність протипухлинних препаратів може знижуватись із-за функціонування: A. Р-глікопротеїну B. циклооксигенази C. алкогольдегідрогенази D. альдегіддегідрогенази E. гемоксигенази	14. З перерахованих реакцій утворенням гіпурової кислоти завершується: A. гідроксилювання аніліну B. деалкілування амідопіріну C. кон'югація бромбензолу D. кон'югація парацетамолу E. кон'югація бензоату
15. НАД-залежна алкогольдегідрогеназа бере участь в окисненні та відновленні вітаміну: A. С B. Е C. А D. К E. D	16. До підвищення токсичності значної частини ксенобіотиків призводить дефіцит трипептиду: A. глюкози B. глутатіону C. ацетил-КоА D. фосфатидилхоліну E. етанолу
17. В реакціях кон'югації найчастіше задіяна амінокислота: A. лейцин B. гліцин C. валін D. ізолейцин E. триптофан	18. Спільним індуктором ферментів I та II фази метаболізму ксенобіотиків є: A. ізоніазид B. новокаїн C. барбітурати D. адреналін E. сукцинілдихолін
19. Індикан є продуктом кон'югації гідроксильованного індолу з: A. сірчаною кислотою B. глутатіоном C. метіоніном D. оцтовою кислотою E. глюкуроновою кислотою	20. Енергії АТФ потребує реакція знешкодження ксенобіотиків, а саме : A. деметилювання B. кон'югації з гліцином C. гідролізу складних ефірів D. дезамінування E. гідроксилювання

Лабораторна робота.

Амідопіриновий тест (визначення 4-аміоантипіріну в сечі)

Принцип: Здатність організму до перетворення ксенобіотиків можна вивчати на прикладі амідопіріну. Амідопірин в організмі людини піддається окисному деметилюванню з утворенням 4-аміоантипіріну (4-ААП) за участю цитохрому Р-450 згідно схеми реакції:



Визначивши в сечі кількість 4-ААП, можна вирахувати частину амідопіріну, що перетворюється в цей метаболіт. Тест-доза амідопіріну – 250 мг (1000 мкмоль). У людини, яка її прийняла, з сечею виділяється 15-30% 4-ААП. Клініко-діагностичне значення: при порушенні функції печінки спостерігається сповільнення перетворення амідопіріну в 4-ААП. Якщо ж людина тривалий час приймає ліки або зловживає алкоголем, то швидкість деметилування амідопіріну може підвищуватися.

Хід роботи: алгоритм роботи наведений в таблиці.

Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
	№1 (дослідна)	№2 (контроль)
Сеча, мл	1	1
Амоній гідроксид (2,5% розчин), мл	0,5	0,5
Фенол (0,02% розчин), мл	2	-
Калій гексациано (III) ферату (1% розчин), мл	0,5	0,5
Дистильована вода, мл	-	2
Проби фотокolorиметрують (довжина хвилі 590 нм, кювета 1 см) проти дистильованої води		
Екстинція	E=	-
Добова екскреція 4-ААП (добовий діурез – 1500 мл)	мкмоль за добу %	

Розрахунок. Розрахунок кількості 4-ААП здійснюють, виходячи з того, що 0,5 мкмоль 4-ААП відповідає 0,7 одиницям оптичної густини (Е станд.).

Приклад розрахунку:

Хворий прийняв 250 мг (1000 мкмоль) амідопіріну. Добовий об'єм сечі - 1350 мл екстинція 1 мл проби сечі – 0,5 (Е досл.) екстинція 0,5 мкмоль 4-ААП – 0,7 (Ест.)	1. 0,5 мкмоль 4-ААП - 0,70 (Е станд.) X - 0,50 (Е досліду) X = 0,357 мкмоль 4-ААП в 1 мл сечі
Висновок: 48,2% введенного амідопіріну перетворилося в 4-ААП. Швидкість деметилування підвищена	2. $0,357 \cdot 1350 = 482$ мкмоль 4-ААП за добу 3. 1000 мкмоль - 100 % 482 мкмоль - X X = 48,2%

Висновок: _____

Підсумкове заняття з теми «Функціональна біохімія»

Теоретичні питання

1. Міжклітинна інтеграція функцій організму. Типи міжклітинної комунікації. Організація ендокринної системи. APUD-система
2. Гормони: визначення, класифікація за місцем синтезу, хімічною природою та характером дії. Гормони як лікарські препарати.
3. Гормоноподібні речовини: характеристика, види ізокринної дії, представники та їх біологічна роль
4. Регуляція секреції гормонів. Каскадний механізм підсилення гормонального сигналу.
5. Рецептори: визначення, види та структура. G-білки та їх характеристика. Вторинні месенджери (ц-АМФ, ц-ГМФ, Са-кальмодулін), їх утворення та біологічне значення

6. Мембранний механізм дії гормонів білково-пептидної природи: основні етапи та їх характеристика. Поняття про малі сигнальні молекули: нітроген (II) оксид (NO), карбон (II) оксиду (CO), H₂S та активні форми кисню
7. Цитозольний механізм дії гормонів ліпідної природи: основні етапи та їх характеристика. Ліпідні месенджери.
8. Апоптоз: визначення, біологічне значення, види, індуктори та молекулярний механізм
9. Представники, хімічна природа, механізм дії, біологічна роль та можлива патологія синтезу та секреції гормонів центральних ендокринних утворень: гіпоталамусу, гіпофізу, епіфізу
10. Представники, хімічна природа, синтез, механізм дії, біологічна роль та можлива патологія синтезу та секреції гормонів периферичних ендокринних залоз: підшлункової, парашитовидних, щитоподібної, мозкової та кіркової речовини наднирників, статевих.
11. Вітаміни: визначення, класифікація. Основні поняття вітамінології: гіпо-, полігіпо-гіпервітамінози, авітамінози, антивітаміни, провітаміни. Причини вітамінної недостатності. Вітаміноподібні речовини
12. Водорозчинні вітаміни групи В (В1, В2, пантотенова кислота, РР, В6, Н, В9, В12), вітаміни С та Р: будова, коферментні та некоферментні функції, метаболізм, участь в обміні речовин, клінічні ознаки недостатності, харчові джерела
13. Жиророзчинні вітаміни (А, D, Е, К): хімічна природа, участь в обміні речовин, клінічні ознаки недостатності, гіпервітаміноз. Провітамін А. Харчові джерела. Лікарські препарати - аналоги та антагоністи вітаміну К.
14. Кров: функції та препарати. Плазма та сироватка крові. Фізико-хімічні константи крові та їх регуляція.
15. Лужний резерв крові. Ацидоз та алкалоз: визначення, види, причина.
16. Хімічний склад крові. Залишковий азот крові. Азотемія: визначення, види та причини
17. Характеристика основних білкових фракцій плазми крові: альбумінів, глобулінів та фібриногену. Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт.
18. Характеристика білків гострої фази запалення та патологічних білків. Кінінова система крові
19. Ферменти плазми крові, їх класифікація та клініко-діагностичне значення.
20. Особливості будови, хімічного складу та обміну речовин в еритроцитах. Молекулярні основи гемолітичних анемій (патологія білків еритроцитів, ферментів пентозофосфатного шляху та гліколізу).
21. Гемоглобін: будова, види, похідні та біологічне значення.
22. Біосинтез гемоглобіну. Гемоглобінози (гемоглобінопатії, талассемії) та порфірії
23. Біохімічні функції печінки. Роль печінки у вуглеводному, білковому та ліпідному обміні
24. Катаболізм гемоглобіну в тканинах - пігментний обмін. Характеристика непрямого та прямого білірубину. Норма вмісту білірубину в крові
25. Патологія пігментного обміну. Жовтяниці: види та біохімічна діагностика
26. Детоксикаційна функція печінки. Ксенобіотики та шляхи їх елімінації. Індуктори та інгібітори ферментів метаболізму ксенобіотиків. Метаболічна активація ксенобіотиків.
27. I фаза метаболізму ксенобіотиків: локалізація, типи реакцій, значення. Електронно транспортні ланцюги та їх структура. Роль цитохрому Р450
28. II фаза метаболізму ксенобіотиків: локалізація, значення, ендogenousні субстрати, типи реакцій. Поняття про III фазу метаболізму ксенобіотиків. Білки-транспортери
29. Метаболізм етанолу. Механізм токсичної дії етанолу. Фізіологічна роль ендogenousного етанолу

30. Вода та її біологічна роль. Вміст та розподіл води в організмі. Нейро-гуморальна регуляція водно-мінерального обміну.
31. Патологія обміну води: види, причини та характеристика
32. Біологічна роль, участь в обміні речовин та нормальний вміст в сироватці крові натрію та калію. Регуляція та патологія їх обміну
33. Біологічна роль, участь в обміні речовин та нормальний вміст в сироватці крові кальцію та фосфору. Регуляція та патологія їх обміну
34. Біологічна роль мікроелементів Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Se, F, I та Br.
35. Біохімічні механізми сечоутворення та їх регуляція. Кліренс креатиніну та його значення
36. Біохімічні механізми участі нирок в регуляції артеріального тиску та кислотно-лужної рівноваги
37. Фізико-хімічні властивості сечі в нормі та їх зміни при патології.
38. Неорганічні та органічні компоненти в нормі та їх зміни при патології
39. Патологічні компоненти сечі та їх клініко-діагностичне значення

Тема 15. Біохімія тканин. М'язова тканина: енергопостачаючі процеси м'язового скорочення. Біохімія сполучної тканини: особливості будови колагену та еластину, ферменти деградації

Актуальність теми: в організмі людини м'язова тканина становить 40-45% маси тіла. М'язи складаються з води (72-80%) та сухого залишку (20-28%). Сухий залишок в м'язах представлений безазотистими (глікоген, моносахариди, лактат, піруват, нейтральні жири, холестерол, солі натрію, калію, кальцію та ін.) та азотовмісними (білковими та небілковими) речовинами. Білки м'язів поділяться на 3 групи: а) міофібрилярні або скоротливі білки (міозин, актин, тропоміозин, тропоніни, α -актинін); б) білки саркоплазми (міоглобін, міоальбумін, ферменти гліколізу, глікогенолізу, аденілаткіназа, креатинфосфокіназа, глобулін Х, кальмодулін, кальсеквестрин, кальцій-зв'язуючий білок); в) білки строми (колаген, еластин та нейрокератин). До небілкових азотвмісних (екстрактивних) речовин відносяться нуклеотиди (АТФ та ін.), креатин, креатинфосфат, креатинін, карнозин, ансерин та ін. Основною функцією м'язів є здатність перетворювати хімічну енергію в механічну. Джерелом енергії для роботи м'язів є креатинфосфокіназна реакція, розщеплення глікогену й глюкози, окиснення жирних кислот, міокіназна реакція (послідовність включення цих процесів залежить від тривалості та інтенсивності м'язової роботи). Порушення хімічного складу та енергетики м'язів веде до розладів їх скоротливості та порушення функцій.

Сполучна тканина надзвичайно поширена в організмі. Вона є в усіх органах і складає приблизно 50% від маси тіла. До сполучнотканинних утворень відносять шкіру, підшкірну жирову тканину, матрикс кісток, хрящі, зуби, фасції, строми паренхіматозних внутрішніх органів, нейроглію, стінки великих кровоносних судин тощо. Усі різновиди сполучної тканини побудовані за загальними принципами: містять відносно невелику кількість клітинних елементів та значні кількості фібрилярних структур (колагенових, еластинових і ретикулярних волокон), розміщених в оточенні міжклітинної речовини. В сполучній тканині постійно відбувається синтез і катаболізм специфічних біополімерів (протеогліканів, глікопротеїнів, колагену та еластину), що важливо для підтримки функцій сполучнотканинних утворень та їх репарації. Порушення метаболізму сполучної тканини лежить в основі розвитку різних патологічних станів.

Загальна мета заняття: уміти пояснювати особливості метаболізму, біоенергетики, молекулярні основи скоротливості м'язів у нормі та їх зміни при патології, а також структуру, функцію сполучної тканини, хімічний склад та біологічну роль міжклітинної речовини, синтез та катаболізм її компонентів в нормі та при патології

Конкретні цілі: уміти:

- ☐ трактувати особливості хімічного складу м'язів
- ☐ аналізувати енергетику м'язової роботи
- ☐ пояснювати молекулярні механізми скорочення та розслаблення м'язів
- ☐ аналізувати особливості скорочення гладеньких м'язів та кардіоміоцитів
- ☐ інтерпретувати біохімічні зміни в м'язах при тренуванні, втомі, гіпокінезії та при патології м'язів
- ☐ трактувати особливості хімічного складу сполучної тканини, будову та функції її макромолекул
- ☐ пояснювати особливості біосинтезу та катаболізму колагену і еластину
- ☐ аналізувати основні шляхи регуляції метаболізму сполучної тканини
- ☐ трактувати молекулярні основи патології сполучної тканини

Основні питання теми:

1. Хімічний склад м'язів. Характеристика білків, небілкових азотвмісних речовин та безазотистих сполук м'язів. Утворення та біологічна роль креатинфосфату
2. Енергетика м'язової роботи: джерела енергії та енергопостачаючі процеси в м'язах. Послідовність включення енергопостачаючих процесів під час м'язової роботи
3. Молекулярні механізми скорочення та розслаблення поперечно-посмугованих м'язів. Особливості скорочення гладеньких м'язів та кардіоміоцитів
4. Біохімічні зміни в м'язах під час тренування, гіпокінезії та втоми. Біохімічні зміни при патології скелетних м'язів (м'язових дистрофія, атрофіях, метаболічних міопатіях) та серцевого м'язу (інфаркті міокарда, міокардитах, кардіоміопатіях)
5. Біохімія основної речовини сполучної тканини: будова, функції, особливості метаболізму глікозаміногліканів, протеогліканів, структурних глікопротеїнів. Мукополісахаридози
6. Біохімія волокон сполучної тканини: будова, функції, особливості біосинтезу та розпаду колагену та еластину.
7. Молекулярні основи патології сполучної тканини: спадкові порушення будови колагенових та еластинових волокон (синдром Елерса-Данлоса, Менке, Марфана), колагенози, скорбут. Біохімічні маркери патології сполучної тканини

Завдання для закріплення матеріалу та самоконтролю:

Завдання для перевірки вихідного рівня знань

1. Перерахувати енергопостачаючі процеси та вказати послідовність їх включення під час м'язової роботи
2. Написати біохімічні маркери патології:
 - а) скелетних м'язів

б) кардіоміоцитів

3. Написати реакції гідроксилювання проліну та лізину, вказати ферменти та коферменти

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. У білих м'язах порівняно з червоними значно активніший процес: А. Аеробного гліколізу В. Аеробного глікогенолізу С. Окиснення жирних кислот D. Анаеробного гліколізу Е. Окисного фосфорилування	2. До білків м'язової тканини належать всі, за виключенням: А. Актину В. Міозину С. Карнозину D. Міоглобіну Е. Тропоніни
3. При короточасній роботі основним енергопостачаючим процесом в м'язах є: А. Анаеробний гліколіз В. Ресинтез креатинфосфату С. Аеробний гліколіз D. Міокіназна реакція Е. Окиснення жирних кислот	4. Характерною діагностичною ознакою м'язових дистрофій є підвищене виділення із сечею: А. Креатиніну В. Креатину С. Білку D. Індикану Е. Білірубину
5. У хворого виявлено підвищення активності ЛДГ1-2, АСТ, КФК-МВ, що свідчить про розвиток патологічного процесу в: А. Серцевому м'язі (початкова стадія інфаркту міокарду) В. Скелетних м'язах (дистрофія, атрофія) С. Нирках D. Сполучній тканині Е. Печінці	6. Трупне залякання після смерті людини зумовлено: А. Денатурацією білків міофібрил В. Гідролізом білків міофібрил С. Утворенням дисульфідних зв'язків між актином і міозином D. Низьким рівнем іонів Ca^{2+} у саркоплазмі Е. Відсутністю АТФ
7. Аденілаткіназна реакція має вигляд: А. $2\text{АДФ} \rightarrow \text{АТФ} + \text{АМФ}$ В. $\text{АТФ} \rightarrow \text{цАМФ} + 2\text{Фн}$ С. $\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ} + \text{Фн}$ D. $\text{АДФ} + \text{Фн} \rightarrow \text{АТФ}$ Е. $\text{цАМФ} \rightarrow \text{АМФ}$	8. Значне зростання активності АСТ у сироватці крові хворого характерно для патології: А. Цирозу печінки В. Міодистрофій С. Механічної жовтяниці D. Гемолітичної анемії Е. Інфаркт міокарду
9. Головним біохімічним регулятором скорочення та розслаблення м'язів є зміна	10. Йони Ca^{2+} ініціюють скорочення міокарду внаслідок зв'язування з:

цитозольної концентрації іонів: А. K^+ В. Na^+ С. Ca^{2+} D. H^+ Е. Cl	А. АТФ-азним центром міозину В. Молекулами глобулярного актину С. Однією із субодиниць тропоніну D. Тропоміозином Е. Кальмодуліном
11. У гідроксилюванні проліну та лізину бере участь: А. Аспарагінова кислота В. Фолієва кислота С. Пантотенова кислота D. Глутамінова кислота Е. Аскорбінова кислота	12. У колагені найбільший вміст амінокислоти: А. Аланіну В. Проліну С. Оксипроліну D. Гліцину Е. Лізину
13. Просторова будова молекули колагену має вигляд: А. Одноланцюгової лівозакрученої спіралі В. Дволанцюгової правозакрученої спіралі С. Бета-структури D. Трьохланцюгової правозакрученої спіралі Е. Альфа-спіралі	14. Дисахаридна одиниця гіалуронової кислоти включає: А. Глюкуронову кислоту + N-ацетилглюкозамін В. Глюкуронову кислоту + N-ацетилгалактозамін-4-сульфат С. Ідуонову кислоту + N-ацетилгалактозамін-4-сульфат D. Галактозу + N-ацетилглюкозамін-6-сульфат Е. Глюкороніл-2-сульфат + N-ацетилглюкозамін-6-сульфат
15. Кофакторами в реакції гідроксилювання проліну та лізину є: А. Віт. С, Fe^{2+} В. Віт. Н, Fe^{2+} С. Віт. В12, Co^{2+} D. Глутатіон, Se^{2+} Е. Гем, Fe^{2+}	16. При колагенозі в сечі збільшується вміст: А. Ізоферментів ЛДГ4,5 В. Креатину та креатиніну С. Оксипроліну та оксилізину D. Трансаміназ Е. Уратів
17. До глікозаміногліканів основної міжклітинної речовини сполучної тканини відносять такі речовини, крім: А. Гіалуронова кислота В. Хондроїтин-4-сульфат С. Інулін D. Дерматансульфат Е. Хондроїтин-6-сульфат	18. При вираженій недостатності міді в організмі дитини зростає вірогідність розриву еластичних волокон, внаслідок зниження активності ферменту: А. Лізилгідроксилази В. Лізілоксидази С. Еластази D. Пролінгідроксилази Е. Пептидази
19. У процесі старіння спостерігається зменшення еластичності шкіри, кровоносних судин. Причиною цього є: А. Зниження кількості протеогліканів В. Зростає вміст колагенових волокон С. Збільшення ступеня гідратації протеогліканів D. Зменшення вмісту глікогену в м'язах Е. Збільшення кількості еластину	20. Гіповітаміноз вітаміну С викликає порушення в структурі колагенових волокон. Це зумовлено зниженням активності ферментів: А. Проколагенпептидаз В. Колагеназ С. Глікозилтрансфераз D. Лізілоксидази та лізилгідроксилази Е. Лізилгідроксилази

Лабораторна робота

1. Якісне визначення креатиніну в сечі

а) Реакція Яффе

Принцип. Креатинін у лужному середовищі реагує з пікриновою кислотою з утворенням сполуки (пірату креатиніну) оранжево-червоного кольору.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Дослідна пробірка
1	Досліджувана сеча, мл	1,0
2	10% р-н NaOH, краплі	8
3	Насичений розчин пікринової кислоти, краплі	5-6
Реєстрація забарвлення		

б) Реакція Вайля

Принцип. Креатинін сечі в лужному середовищі реагує з натрій нітропрусидом з утворенням нестійкої сполуки (ізонітрозокреатиніну) червоного кольору, яка при підкисленні розчину оцтовою кислотою руйнується і червоне забарвлення одразу переходить у жовте. Крім креатиніну в сечі можуть міститись кетонів тіла, що також реагують з натрій нітропрусидом з утворенням сполук червоного кольору. У цьому випадку при додаванні оцтової кислоти червоне забарвлення не зникає, а набуває темного вишневого відтінку.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Дослідна пробірка
1	Досліджувана сеча, мл	1,0
2	10% р-н NaOH, краплі	8
3	Свіжоприготовлений розчин натрій нітропрусиду, краплі	3-4
4	Концентрована ацетатна кислота, краплі	2-3
Реєстрація забарвлення		

Якісна реакція на глікозаміноглікани (проба Беррі-Спіланджера)

Принцип. Глікозаміноглікани у кислому середовищі з толуюдиновим синім дають червоне забарвлення (метахромазія). Із сечею здорової людини за добу виділяється 2,7-7,5 мг кислих глікозаміногліканів (в основному хондроїтинсульфати А і С). Зростання екскреції глікозаміногліканів із сечею реєструється при мукополісахаридозах.

Хід роботи (алгоритм представлений в таблиці):

№	Етапи дослідження
1	На смужку фільтрувального паперу на відстані 1 см один від одного наносять мікропіпеткою 3 плями: 0,005, 0,01 і 0,025 мл сечі
2	Висушують папір при кімнатній температурі
3	Занурюють папір в 0,04% розчин толуюдинового синього на 1 хв
4	Виймають папір і відмивають реактив 10% розчином ацетатної кислоти
Якщо концентрація глікозаміногліканів у досліджуваній сечі вища ніж 10мг/100мл, тоді з'являється червоне забарвлення на одній з нанесених плям.	

Висновок: _____

Дата

« _____ » _____ 20__ р.

Підпис викладача

Тема 16. Біохімія нирок та сечі. Нормальні та патологічні компоненти сечі

Актуальність теми: головна задача нирок полягає у підтриманні сталості внутрішнього середовища організму. Нирки регулюють водно-електролітний баланс, підтримують кислотно-основну рівновагу, видаляють кінцеві продукти метаболізму, регулюють тиск крові, стимулюють еритропоез. Шляхом фільтрації плазми крові нирки утворюють рідину (сечу). Об'єм і хімічний склад сечі суттєво змінюються при різних патологічних станах, що широко використовується для діагностики захворювань нирок та інших органів й контролю за лікуванням. В нормі у дорослої людини за добу утворюється 1,5-2 л вторинної сечі, що становить до 80% спожитої рідини. При ураженні паренхіми нирок та отруєннях діурез знижується, відбувається порушення виведення кінцевих метаболітів обміну речовин та токсинів. Знання механізмів процесу утворення сечі, його регуляції дозволить лікарю правильно застосовувати лікувальні заходи.

Загальна мета: дослідити механізм утворення сечі в організмі, біохімічний склад сечі в нормі та при патології

Конкретні цілі: уміти

- ☐ охарактеризувати основні функції та особливості обміну речовин в нирках
- ☐ пояснити етапи утворення сечі в організмі
- ☐ розкрити роль нирок у підтриманні сталості внутрішнього середовища організму
- ☐ висвітлити роль ренін-ангіотензинової системи нирок
- ☐ оцінити біохімічний склад сечі в нормі та при патології

Основні питання теми:

1. Основні функції нирок. Особливості обміну речовин в нирках.
2. Механізм утворення сечі: фільтрація, реабсорбція, секреція.
3. Нейрогуморальна регуляція сечоутворення.
4. Кліренс: визначення, значення, приклади
5. Основні фізико-хімічні константи, органічні і неорганічні компоненти сечі.
6. Патологічні компоненти сечі та їх діагностичне значення

Тести для перевірки вихідного рівня знань

1. Зменшення добового діурезу носить назву: А. Анурія В. Поліурія С. Олігурія D. Ніктурія Е. Алкаптонурія	2. В нормі дорівнює нулю кліренс речовини: А. Сечовини В. Креатиніну С. Калію D. Глюкози Е. Креатину
3. Підвищення екскреції сечової кислоти є наслідком катаболізму: А. Піримідинових нуклеотидів В. Пуринових нуклеотидів С. Простих білків D. Гему Е. Вуглеводів	4. Надмірне екскреція гомогентизинової кислоти свідчить про порушення обміну: А. Триптофану В. Лейцину С. Гліцину D. Гістидину Е. Фенілаланіну
5. Головним азотистим компонентом сечі є: А. Сечова кислота	6. В сечі хворого глюкоза, ацетонові тіла, в крові глюкози 10 мМ. Це характерне для: А. Атеросклерозу

В. Сечовина С. Амінокислоти D. Уробілін Е. Креатинін	В. Гепатиту С. Цукрового діабету D. Інфаркту міокарда Е. Гастриту
7. У хворого в крові і сечі підвищена амілазна активність, що є діагностичною ознакою: А. Гастриту В. Нефриту С. Циститу D. Панкреатиту Е. Гепатиту	8. У вторинній сечі практично відсутні (знаходяться у дуже малих кількостях): А. Хлориди В. Креатинін С. Ацетонові тіла D. Амінокислоти Е. Сечовина
9. При деяких патологічних станах (хвороби нирок, серцева декомпенсація) нічне виділення сечі переважає над денним. Такий стан носить назву: А. Анурія В. Ніктурія С. Поліурія D. Олігурія Е. Цистинурія	10. В сечі хворого із сильними болями у суглобах виявлено підвищений рівень сечової кислоти, що свідчить про: А. Інтенсивний розпад пуринових нуклеотидів В. Інтенсивний розпад піримідинових нуклеотидів С. Стимуляції синтезу пуринових нуклеотидів D. Стимуляцію синтезу піримідинових нуклеотидів Е. Підвищену активність аденілатдезамінази мозку
11. У хворого, який скаржиться на поліурію і полідипсію, знайдено цукор в сечі. Вміст цукру в плазмі крові у нормі. З чим пов'язаний механізм глюкозурії у хворого? А. Порушення реабсорбції глюкози в канальцях нефрону В. Порушення фільтрації глюкози в клубочковому відділі нефрону С. Недостатня продукція інсуліну підшлунковою залозою D. Інсулінорезистентність рецепторів клітин Е. Гіперпродукція глюкокортикоїдів наднирниками	
12. При диспансерному обстеженні у хворого знайдено цукор в сечі. Який найбільш імовірний механізм виявлених змін, якщо вміст цукру в крові нормальний? А. Порушення реабсорбції глюкози в канальцях нефрона В. Порушення фільтрації глюкози в клубочковому відділі нефрона С. Недостатня продукція інсуліну підшлунковою залозою D. Інсулінорезистентність рецепторів клітин Е. Гіперпродукція глюкокортикоїдів наднирниками	

Лабораторна робота:

Фізико-хімічні властивості сечі

Фізико-хімічні константи сечі

1) Питома вага

В циліндр наливають сечу, занурюють в неї урومتر і по нижньому меніску шкали відмічають результат. В нормі питома вага сечі (густина, щільність) дорівнює 1,014 – 1,025. За густиною можна вирахувати щільний залишок, перемноживши дві останні цифри на коефіцієнт 2,6. В середньому він дорівнює близько 50 г за добу.

Клініко-діагностичне значення. Густина сечі характеризує концентраційну здатність нирок, тобто концентрацію речовин, що в ній розчинені. Густина протягом доби може змінюватись: нічна сеча має більшу густину ніж денна. Зміни залежать як від кількості спожитої рідини, так і від кількості рідини, виділеної з потом і калом (блювота, проноси, гарячка). При нецукровому діабеті густина сечі зменшується і коливається від 1,001 до 1,004, а при цукровому – досягає 1,030 – 1,040 і більше. Протеїнурія також збільшує густину сечі.

Виділення протягом тривалого часу сечі зі стабільною густиною (1,010-1,011) називають ізостенурією (хвороби нирок).

2) Колір сечі

Колір сечі визначають у склянці з безбарвного скла у відбитому світлі на білому фоні.

Клініко-діагностичне значення. В нормі колір сечі дорослої людини солом'яно-жовтий завдяки таким пігментам як урохром, уробілін, уроеритрин тощо. У новонароджених сеча майже безбарвна.

При патології можуть відбуватися як якісні, так і кількісні зміни у забарвленні сечі. Якісні зміни кольору сечі залежать від наявності в ній білірубину і гемоглобіну. При гематурії ниркового походження сеча набуває кольору м'ясних помиїв, при жовтяниці — кольору пива, при вживанні деяких ліків (амідопирин, ацетилсаліцилова кислота) й отруєнні карболовою кислотою колір сечі стає рожево-червоним.

Червоний колір сечі спостерігають при порфіринурії. Розрізняють первинну порфіринурію, що виникає внаслідок ензимопатії, наприклад, спадкова хвороба Гунтера, при якій із сечею виділяється багато уропорфіринів і копропорфіринів I типу, та вторинну, яка виникає при інтоксикаціях з подальшим ураженням печінки.

У разі поліурії (нефросклероз, нецукровий і цукровий діабет, швидке розсмоктування набряків, тощо) відмічається слабе забарвлення сечі. Інтенсивне забарвлення спостерігають при олігурії або посиленому виділенні пігментів, зокрема білірубину (механічна та паренхіматозна жовтяниця).

Внаслідок вживання буряків, моркви, суниць сеча забарвлюється різними пігментами, що містяться в цих продуктах. Молочно-білий колір сечі спостерігають при хілурії внаслідок розриву лімфатичних капілярів нирки, за наявності великого вмісту ліпідів, фосфатів і домішок гною.

3) Запах сечі

У нормі свіжа сеча має специфічний запах летких речовин, що в ній містяться. Аміачний запах свіжа сеча має при запаленні сечового міхура (цистит), запах гниття — при гангренозних процесах, плодовий або винний, та запах ацетону — у хворих на цукровий діабет. Запах сечі пов'язаний також із характером їжі (часник, спаржа) або вживанням деяких медикаментів (запах валеріани, ментолу тощо).

4) 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.

Розрізняють сечу прозору, слабкокаламутну, каламутнуватую і різко каламутну. Причиною каламутності різної інтенсивності може бути наявність у сечі солей (у лужній сечі фосфатів, а в кислій уратів), слизу, клітинних елементів і бактеріальної флори (цистопієліт).

Дуже рідко каламутність спричинюють жири (при переломах великих кісток). Щоб відрізнити патологічну каламутність (осад) сечі від звичайної сольової, треба провести відповідні хімічні і мікроскопічні дослідження.

Титраційна кислотність сечі

Принцип. Титраційну кислотність виражають об'ємом лугу, необхідного для нейтралізації добової кількості сечі. В нормі вона дорівнює 250-500 од.

Хід роботи (алгоритм наведений в таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Дослідна пробірка
1	Досліджувана сеча, мл	2
2	Вода дистильована, мл	10
3	Фенолфталеїн	2 краплі
Титрувати 0,1 М розчином NaOH до появи рожевого кольору		
Титраційна кислотність сечі (кількість 0,1 М NaOH, витраченого на титрування у мл)		од.

Висновок:

Дата
« _____ » _____ 20__ р.

Підпис викладача:

Тема 17. Переваги методу імунохемілюмінісценції при визначення гормонів та онкомаркерів над імуноферментним аналізом

1. Який механізм відіграє провідну роль у розвитку множинного карієсу при цукровому діабеті? А Активация катаболізму білків В Підвищений вміст вільних амінокислот в ротовій рідині С Дефіцит секреторного Ig A D Підвищена концентрація глюкози в ротовій рідині E Дефіцит паротину	2. Які природні антиоксиданти інгібують вільнорадикальні процеси, що пояснює їх широке застосування в клінічній стоматології? А Тіамін, рутин В Вітамін A, вітамін D С Фолієва кислота, ціанокобаламін D α -Токоферол, аскорбінова кислота E Біотин, нікотинамід
3. Які компоненти слини та гінгівальної рідини забезпечують місцевий імунітет ротової порожнини? А Лізоцим, імуноглобуліни, лейкоцити В Лактатдегідрогеназа, глюкуронідаза С Молочна кислота, сечовина, аміак D Лужна, кисла фосфатаза E Гіалуронідаза, катепсин D	4. Назвіть основний спосіб підвищення резистентності емалі до карієсу: А Застосування препаратів кальцію В Лікувальна зубна паста С Догляд за порожниною рота D Метод фторування води, солі E Застосування фосфору
5. Органічний матрикс емалі складається з білків: А Колагену В Енамеліну, амелогеніну С Еластину D Протеогліканів E Альбумінів	6. Головним джерелом надходження мінеральних речовин при формуванні під'ясневого зубного каменю є: А Плазма крові В Яснева рідина С Слина D Ротова рідина E Сироватка крові
7. При обстеженні хворого встановлено, що причиною гіпоплазії зубів є гіповітаміноз А та Д. Ці вітаміни призначили перорально, проте лікувального ефекту не досягли. Яка можлива причина порушення засвоєння вітамінів? А Ахолія В Гіпохлоргідрія С Гіперхлоргідрія D Ахілія	8. Підвищена кровоточивість ясен та випадіння зубів є клінічними проявами цинги. Недостатність якого вітаміну спричиняє названий патологічний процес? А Вітаміну B12 В Вітаміну B2 С Вітаміну C D Вітаміну H E Вітаміну B6

Е Ахлоргідрія	
9. У процесі утворення зрілого колагену приймає участь фермент: А Малат ДГ В Сукцинат ДГ С ЛДГ D Гексокиназа Е Пролілгідроксидаза	10. Відомо, що у процесі мінералізації кістки і зуба беруть участь фосфопротеїни. Фосфатна кислота в них переважно зв'язана з: А Цистеїном В Лізином С Глутаміном D Серином Е Проліном
11. Провідну роль в процесі кальцифікації тканин зуба відіграє білок остеокальцин, який має високу здатність зв'язувати іони кальцію завдяки наявності в поліпептидному ланцюзі залишків модифікованої амінокислоти: А γ -Карбоксиглутамінової В β -Аланіну С γ -Аміномасляної D Карбоксиаспарагінової Е α -Амінопропіонової	12. Яка кислота – проміжний продукт циклу трикарбонових кислот – приймає участь у зв'язуванні іонів кальцію? А Лимонна [цитрат] В Оцтова [ацетат] С Яблучна [малат] D Янтарна [сукцинат] Е α -Кетоглутарова [α -кетоглутарат]
13. У гідроксилуванні проліну та лізину бере участь: А. Аспарагінова кислота В. Фолієва кислота С. Пантотенова кислота D. Глутамінова кислота Е. Аскорбінова кислота	14. У колагені найбільший вміст амінокислоти: А. Аланіну В. Проліну С. Оксипроліну D. Гліцину Е. Лізину
15. До глікозаміногліканів основної міжклітинної речовини сполучної тканини відносять такі речовини, крім: А. Гіалуринова кислота В. Хондроїтин-4-сульфат С. Інулін D. Дерматансульфат Е. Хондроїтин-6-сульфат	16. Дисахаридна одиниця гіалуринової кислоти включає: А. Глюкуронову кислоту + Нацетилглюкозамін В. Глюкуронову кислоту + Нацетилгалактозамін-4-сульфат С. Ідуринову кислоту + Нацетилгалактозамін-4-сульфат D. Галактозу + N-ацетилглюкозамін-6-сульфат Е. Глюкороніл-2-сульфат + Нацетилглюкозамін-6-сульфат
17. Кофакторами в реакції гідроксилування проліну та лізину є: А. Віт. С, Fe 2+ В. Віт. Н, Fe 2+ С. Віт. В12, Co 2+ D. Глутатіон, Se 2+ Е. Гем, Fe 2+	18. При колагенозі в сечі збільшується вміст: А. Ізоферментів ЛДГ4,5 В. Креатину та креатиніну С. Оксипроліну та оксилізіну D. Трансаміназ Е. Уратів
19. У процесі старіння спостерігається зменшення еластичності шкіри, кровоносних судин. Причиною цього є: А. Зниження кількості протеогліканів В. Зростає вміст колагенових волокон С. Збільшення ступеня гідратації протеогліканів D. Зменшення вмісту глікогену в м'язах Е. Збільшення кількості еластину	20. Гіповітаміноз вітаміну С викликає порушення в структурі колагенових волокон. Це зумовлено зниженням активності ферментів: А. Проколагенпептидаз В. Колагеназ С. Глікозилтрансфераз D. Лізілоксидази та лізілгідроксилази Е. Лізілгідроксилази

1. Причиною токсичного впливу аміаку на ЦНС є зв'язування його з компонентом ЦТК Кребса: А. Ізоцитратом В. α-Кетоглутаратом С. Сукцинатом D. Фумаратом Е. Цитратом	2. Вказані речовини відносяться до нейромедіаторів змішаної дії, крім: А. Ацетилхолін В. Серотонін С. Дофамін D. Норадреналін Е. Адреналін
3. Виберіть конкурентний інгібітор ацетилхолінестерази А. ГАМК В. Прозерин С. Ацетилхолін D. Бензодіазепін Е. Галоперидол	4. Порушення процесів мієлінізації нервових волокон призводить до важких неврологічних розладів і розумової відсталості, що характерно для спадкових порушень обміну: А. Нейтральних жирів В. Холестерину С. Сфінголіпідів D. Гліцерофосфоліпідів Е. Ліпопротеїнів
5. Порушення якого процесу зумовлює ураження нервової системи при дефіциті вітаміну В6? А. Синтезу амінокислот і нуклеотидів В. Антиоксидантного захисту С. Окисного декарбоксилювання α-кетокислот D. Трансамінування амінокислот Е. Дегідрування субстратів тканинного дихання	6. При хворобі Паркінсона з лікувальною метою використовують попередник дофаміну – L-ДОФА. Для зменшення побічного впливу L-ДОФА, його рекомендують приймати в комбінації з: А. Інгібітором декарбоксилази ароматичних АК В. Активатором декарбоксилази ароматичних АК С. Інгібітором моноамінооксидази D. Активатором моноамінооксидази Е. Блокатором дофамінових рецепторів
7. Інгібітори моноамінооксидази впливають на вміст в головному мозку всіх нейромедіаторів, за винятком: А. Дофаміну В. Норадреналіну С. Ацетилхоліну D. Серотоніну Е. Адреналіну	8. Гальмівним медіатором ЦНС є γ-аміномасляна кислота, яка синтезується з амінокислоти: А. Тирозин В. Глутамін С. Аспарагінова кислота D. Глутамінова кислота Е. Триптофан
9. При розщепленні високомолекулярного білка проопіомеланокортину в гіпофізі утворюються всі нижче перераховані нейропептиди, за винятком: А. Енкефаліну В. Ендорфіну С. АКТГ D. Ліпотропіну Е. Нейротензину	10. Гальмівним медіатором ЦНС є γ-аміномасляна кислота, яка викликає підвищення проникності постсинаптичної мембрани для: А. Na^+ В. K^+ С. Ca^{2+} D. Cl^- Е. H^+