

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Практикум з біологічної та клінічної хімії

*для самостійної аудиторної та позааудиторної підготовки
до практичних занять і ліцензійного іспиту «Крок-Б»*

Модуль 2.

**«Порушення метаболізму вуглеводів. Обмін
ліпідів, білків і амінокислот в нормі та при
патології. Біохімія гормонів»**

студента _____ групи IV курсу II медичного
факультету
зі спеціальності: 6.120102 «Лабораторна діагностика»

ЗАПОРІЖЖЯ

2016

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

КАФЕДРА КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Практикум з біологічної та клінічної хімії

*для самостійної аудиторної та позааудиторної підготовки до
практичних занять і ліцензійного іспиту «Крок-Б»*

студента _____
_____ групи IV курсу II медичного факультету
зі спеціальності: «Лабораторна діагностика»

**Порушення метаболізму вуглеводів. Обмін ліпідів,
білків і амінокислот в нормі та при патології. Біохімія
гормоні. Модуль 2.**

**ЗАПОРІЖЖЯ
2016**

Практикум з клінічної біохімії для студентів 4 курсу медичного факультету спеціальності «Лабораторна діагностика» склали:

- © Павлов С.В. – д.біол.н., доцент
- © Біленький С.А. – к.мед.н., доцент
- © Горбачова С.В. – к.біол.н., доцент
- © Євсєєва Л.В., к.фарм.н. асистент
- © Левченко К.В асистент
- © Нікітченко Ю.В. викладач

Під загальною редакцією Павлова С.В.

Запропонований практикум є необхідним навчальним посібником для вивчення клінічної біохімії студентами четвертого курсу ІІ медичного факультету спеціальності «Лабораторна діагностика».

Практикум містить тематичний план лекцій та практичних занять з модулю 2. Для кожного заняття вказана актуальність теми, що вивчається, мета заняття, перелік теоретич-них питань для підготовки. Обов'язковими елементами викладення змісту виконання лабораторних робіт є детальне роз'яснення принципів методу та безпосередньо методики виконання роботи, клініко-діагностичне значення методу в практичній медицині. Крім того, практикум містить тестовий контроль вихідного рівня знань і тести ліцензійного іспиту «КРОК-Б».

Зміст і об'єм практикуму відповідають кількості годин, які відведені на вивчення модулю 2 (1,8 кредиту/54 години), змісту відповідних розділів робочої програми з клінічної біохімії для студентів спеціальності «Лабораторна діагностика» в умовах кредитно-модульної системи навчання.

В практикумі міститься вся необхідна інформація щодо індивідуальної самостійної роботи студентів, а також питання для підготовки до складання змістових модулів та підсумкового модульного контролю з модулю 2.

Все вище зазначене допоможе студентам при підготовці до практичних занять, модульного контролю та здачі ліцензійного іспиту «КРОК-Б».

Рецензенти:

Професор кафедри біохімії д.фар.н., проф. Романенко М.І.

Завідувач кафедри аналітичної хімії д.фарм.н., проф. Васюк С.О.

Зміст:

1. Тематичний план лекцій	5
2. План лабораторно-практичних занять	6
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1:	
3. Заняття № 1	8
4. Заняття № 2	12
5. Заняття № 3	16
6. Заняття № 4	20
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2:	
7. Заняття № 5	25
8. Заняття № 6	29
9. Заняття № 7	32
10. Заняття № 8	36
11. Заняття № 9	42
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3:	
12. Заняття № 10	46
13. Заняття № 11	51
14. Заняття № 12	58
15. Заняття № 13	64
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 4:	
16. Заняття № 14	71
17. Заняття № 15	73
18. Заняття № 16	79
19. Заняття № 17	83
20. Підсумковий контроль засвоєння модулю 2	85
21. Література	89

ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ЛЕКЦІЙ

№ п/п	Тема	Кількість годин
Модуль 2. Порушення метаболізму вуглеводів. Обмін ліпідів, білків і амінокислот в нормі та при патології. Біохімія гормонів		
1	Клініко-біохімічні показники вуглеводного обміну. Лабораторна діагностика цукрового діабету	2
2	Клініко-біохімічні критерії при патології сполучної тканини	2
3	Метаболізм ліпідів. Транспорт ліпідів в крові. Метаболізм триацилгліцеролів. Обмін вищих жирних кислот.	2
4	Обмін стероїдів та кетонових тіл. Регуляція обміну ліпідів	2
5	Обмін ліпідів при патології та його лабораторна діагностика. Дисліпідемії. Атеросклероз	2
6	Загальний білок крові, його фракційний склад. Транспортні білки, інгібітори протеолізу, білки гострої фази.	2
7	Залишковий азот крові та його фракційний склад. Азотемії. Основні органічні безазотисті компоненти плазми крові.	2
8	Спадкові порушення орнітинового циклу сечовиноутворення. Гіперамоніємії. Патології обміну окремих амінокислот та їх лабораторна діагностика.	2
9	Класифікація та властивості гормонів. Молекулярні механізми дії гормонів білково-пептидної природи та біогенних амінів	2
10	Механізм дії та вплив на обмін речовин стероїдних та тиреоїдних гормонів. Синтез і функції ейкозаноїдів	2
11	Біотрансформація ксенобіотиків. Мікросомальне окислення	2
12	Біохімія харчування людини. Перетравлення поживних речовин у шлунково-кишковому тракті	2
13	Клініко-біохімічні показники при захворюваннях печінки та ШКТ	2
14	Функціональна біохімія тканин (нервової, м'язової)	2
15	Клініко-біохімічні критерії при захворюваннях серцево-судинної системи	2
16	Обмін води та основи КЛС. Водний баланс в нормі та при патології	2
17	Мінеральний обмін та його регуляція в нормі та при патології	2
18	Біохімія нирок. Роль нирок в регуляції водно-сольового обміну	2
Всього		36

ПЛАН ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

№ п/п	Тема	К-сть годин
<i>Змістовний модуль 1. Обмін вуглеводів в нормі та при патології</i>		
1	Дослідження обміну глюкози. Гіпо-, гіперглікемія, глюкозурія.	3
2	Лабораторна діагностика цукрового діабету. Вивчення вуглеводного обміну методом навантажень.	3
3	Метаболізм фруктози, галактози, глікогену та лабораторна діагностика порушень їх метаболізму.	3
4	Метаболізм глікопротеїнів, протеогліканів, глікозаміногліканів. Лабораторна діагностика порушень метаболізму.	3
<i>Змістовний модуль 2. Обмін ліпідів в нормі та при патології</i>		
5	Обмін триацилгліцеролів та фосфоліпідів. Лабораторні методи визначення.	3
6	Обмін вищих жирних кислот та кетонівих тіл. Кетонемія, кетонурія.	3
7	Метаболізм холестеролу в організмі. Методи визначення холестеролу сироватки крові.	3
8	Ліпопротеїди плазми крові та лабораторна діагностика атеросклерозу.	3
9	Контроль засвоєння змістовних модулів 1, 2.	3
<i>Змістовний модуль 3. Обмін білків і амінокислот в нормі та при патології</i>		
10	Загальний білок та його фракційний склад. Транспортні білки та інгібітори протеолізу. Білки гострої фази	3
11	Залишковий азот крові та його фракційний склад.	3
12	Спадкові порушення орнітинового циклу сечовиноутворення. Гіперамоніємії. Патології обміну окремих амінокислот та їх лабораторна діагностика	3
13	Роль ферментів плазми крові (АлАТ, АсАТ, КФК, ЛДГ, фосфатаз) та методи визначення їх активності	3
<i>Змістовний модуль 4. Біохімія гормонів</i>		
14	Класифікація та властивості гормонів. Механізми дії гормонів білково-пептидної природи та біогенних амінів	3
15	Лабораторна діагностика та роль білково-пептидних гормонів та біогенних амінів	3
16	Механізм дії та вплив на обмін речовин стероїдних та тиреоїдних гормонів	3
17	Контроль засвоєння змістовних модулів 3, 4.	3
18	Підсумкове заняття з модулю 2	3
<i>Усього</i>		54

Змістовий модуль 1

Обмін вуглеводів в нормі та при патології

ЗАНЯТТЯ № 1

1. ТЕМА: Дослідження обміну глюкози. Гіпо-, гіперглікемія, глюкозурія.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

На вміст глюкози в крові впливають різноманітні фізіологічні та патологічні процеси, знання яких надзвичайно необхідне у професійній діяльності лаборанта.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

На основі знань про будову та метаболізм вуглеводів сформувані уявлення про патобіохімію вуглеводного обміну, методи визначення глюкози та їх клініко-діагностичне значення.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Структура та біологічна роль вуглеводів.
2. Біохімічні показники обміну вуглеводів в нормі та при патології.
3. Шляхи регуляції обміну вуглеводів.
4. Метаболізм глюкози. Гіпер- та гіпоглікемія, глюкозурія.
5. Методи визначення глюкози у сироватці крові та сечі.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 1

Дата

1. Визначення глюкози глюкозооксидазним методом

Принцип методу:

Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню. Останній, в присутності пероксидази, вступає в реакцію з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміну червоно-фіолетового кольору, кількість якого визначається фотометрично.

Лінійність методу: 0,05–27,7 ммоль/л

Нормальні значення: капілярна кров – 3,38–5,55 ммоль/л

сироватка, плазма – 4,22–6,11 ммоль/л

сеча – 0,0–1,11 ммоль/л

Концентрація глюкози стабільна при температурі +2 – +8° С протягом 24 годин, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реagentи:

- 1) Спектрофотометр з довжиною хвилі 540 нм та оптичного шляху 10 (5) мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,02, 0,2 і 2 мл
- 3) Колба об'ємом 500 мл
- 4) Сироватка крові, цільна кров або сеча
- 5) Фізіологічний розчин
- 6) Буферний розчин (рН 7,2 – 7,4)
- 7) Розчин ферменту (глюкозооксидаза, пероксидаза, 4-амінофеназон, стабілізатори)
- 8) Антикоагулянт – суха суміш натрію оксалату та натрію хлориду

9) Калібратор – калібрувальний розчин глюкози, 10,0 ммоль/л.

Приготування робочих розчинів:

Розчин антикоагулянту. В колбу ємністю 500 мл перенести вміст пакету з антикоагулянтом, додати 400 мл дистильованої води, перемішати до повного розчинення кристалів солей. При необхідності розчин профільтрувати. Готовий розчин стабільний не менше місяця при температурі +2 - +8⁰С.

Буферний розчин та розчин ензиму готові до використання у випадку проведення аналізу з біреагентом. Для приготування монореагенту розчин буферу та ензиму змішують у співвідношенні 1:1. розчин стійкий при зберіганні при температурі +2 - +8⁰С.

Проведення аналізу:

Сироватка або плазма крові, сеча. Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірку:	Варіант з використанням біреагенту		
	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Досліджуваний матеріал	0,02 мл	--	--
Калібратор	--	0,02 мл	--
Фізіол. розчин	--	--	0,02 мл
Буферний розчин	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
Розчин ферменту	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл

Цільна кров. Аналіз проводиться з використанням антикоагулянту.

Для отримання плазми 0,1 мл цільної капілярної крові змішують з 0,9 мл розчину антикоагулянту та центрифугують 10 хвилин при 2000 об/хв. Для осадження еритроцитів. Для дослідження використовують надосадкову рідину. Калібрувальний розчин глюкози розводять фізіологічним розчином у 10 разів (до 0,1 мл калібрувального розчину 10 ммоль/л додають 0,9 мл фізіологічного розчину).

Аналіз проводять згідно таблиці 2.

Таблиця 2

Відміряти у пробірку:	Варіант з використанням біреагенту		
	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Досліджуваний матеріал	0,2 мл	--	--
Калібратор	--	0,2 мл	--
Фізіол. розчин	--	--	0,2 мл
Буферний розчин	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл
Розчин ферменту	1,0 мл	1,0 мл	1,0 мл

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25°C протягом 20 хвилин або 12 хвилин при температурі 37°C. Виміряти оптичну щільність дослідної (E_{дос}) і калібрувальної (E_{каліб}) проб проти холостої проби при довжині хвилі 540 нм.

Забарвлення розчину стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Вміст глюкози у досліджуваному матеріалі розраховують за стандартом (калібратором) по формулі:

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{каліб}}} \times C_{\text{каліб}}$$

де C_{дос} – концентрація глюкози у досліджуваній пробі, ммоль/л;

E_{дос} – оптична щільність дослідної проби;

E_{каліб} – оптична щільність калібрувальної проби;

C_{каліб} – концентрація глюкози в калібраторі (10 ммоль/л)

При вмісті глюкози в пробі понад 27,7 ммоль/л (поза зоною лінійності методу), аналізовану рідину слід розвести у 5 разів фізіологічним розчином і повторити вимірювання, а отриманий результат розрахунку помножити на 5.

Клініко-діагностичне значення.

На вміст глюкози у крові впливають різноманітні фізіологічні та патологічні процеси. Збільшення концентрації глюкози у крові (гіперглікемія) спостерігається при наступних станах: цукровому діабеті, гострому панкреатиті, панкреатичних цирозах, токсичному, механічному або травматичному подразненні центральної нервової системи, підвищенні гормональної діяльності щитовидної залози, кори та мозкового шару наднирників, гіпофізу. Також відмічається аліментарна гіперглікемія, яка розвивається після прийому їжі, багаті вуглеводами. Зменшення рівня глюкози відмічається при передозуванні інсуліну, захворюваннях нирок, поганому всмоктуванні вуглеводів у тонкому кишечнику, недостатній гормональній діяльності перерахованих вище залоз внутрішньої секреції, інколи при серцевій недостатності. Незбалансована дієта, гіперфункція острівців Лангерганса підшлункової залози, а також при отруєння фосфором, бензолом і хлороформом також викликає зниження рівня глюкози у крові.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновок:

4.3. САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Властивість глюкози, що лежить в основі принципу ортолуїдинового методу:

- A. Участь в окисно-відновній реакції
- B. Розчинність у воді
- C. Поляризація
- D. Утворення полімерів
- E. Утворення стереоізомерів

2. Які вуглеводи всмоктуються в кров?

- A. Мальтоза
- B. Клітковина
- C. Глюкоза
- D. Глікоген
- E. Лактоза

3. Який світлофільтр використовується в глюкозоксидазному методі?

- A. Синій
- B. Зелений
- C. Жовтий
- D. Червоний
- E. Фіолетовий

4. Перетравлення вуглеводів в основному відбувається в:

- A. Печінці
- B. Шлунку
- C. Стравоході
- D. Товстому кишечнику
- E. Тонкому кишечнику

5. Підвищення глюкози в крові – це:

- 1. Гіпопротеїнемія
- 2. Гіпоглікемія
- 3. Гіперпротеїнемія
- 4. Гіперглікемія
- 5. Глюкозурія

6. Рівень глюкози в крові знижує гормон:

- A. Глюкогон
- B. Адреналін
- C. Тіроксин

- D. Інсулін
 - E. Норадреналін
- 7. Анаеробний шлях розпаду глюкози закінчується утворенням:**
- A. Води
 - B. Молочної кислоти
 - C. Піровиноградної кислоти
 - D. Углекислого газу
 - E. Оцтової кислоти
- 8. Основне всмоктування вуглеводів відбувається у:**
- A. Ротовій порожнині
 - B. Тонкому кишечнику
 - C. Шлунку
 - D. Стравоході
 - E. Печінці
- 9. Норма вмісту глюкози в крові ортотолуїдиновим методом:**
- A. 12-32 г/л
 - B. 0,1- 0,68 ммоль/(год·л)
 - C. 20-160 г/(год·л)
 - D. 3,33-5,55 ммоль/л
 - E. 16-64 од.
- 10. Які реактиви потрібні для глюкозооксидиазного методу?**
- A. Буферний розчин
 - B. 10 % розчин натрію гідроксиду
 - C. 10 % розчин оцтової кислоти
 - D. Розчин Люголя
 - E. 0,1 % розчин крохмалю

7. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

Заняття № 2

1. ТЕМА: Лабораторна діагностика цукрового діабету. Вивчення вуглеводного обміну методом навантажень.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Цукровий діабет є поширеним захворюванням, вчасна лабораторна діагностика якого має важливе значення. Глюкозотолерантний тест проводиться з метою виявлення латентних форм цукрового діабету та наявності толерантності до глюкози на початкових етапах. При цукровому діабеті рівень глюкози натщесерце буває підвищеним, зростання глікемічної кривої відбувається повільно, зниження затягується, гіпоглікемічна фаза за час проведення тесту не спостерігається. Навантаження глюкозою супроводжується у більшості випадків глюкозурією. Чим більш чітко

виражений цукровий діабет, тим пізніше досягається максимум глікемії та тим він вище.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Використовуючи знання про способи регуляції рівня глюкози в крові, оцінити стан вуглеводного обміну за допомогою тестів толерантності до глюкози методами навантажень.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

4.1 ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Цукровий діабет I і II типів, їх патогенез
2. Схеми проведення навантажень глюкозою (однократна, двократна)
3. Патолофізіологічні механізми, що обумовлюють динаміку змін концентрації глюкози після глюкозотолерантного тесту
4. Глікемічні коефіцієнти Бодуена та Рафальського
5. Клініко-діагностичне значення проведення глюкозотолерантного тесту

4.2 ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 2

Дата

1. Проведення глюкозотолерантного тесту

Вранці натщесерце у хворого беруть кров з пальця для визначення вмісту глюкози. Потім йому дають випити приготовлений заздалегідь розчин 50 г глюкози у 200 мл теплої кип'яченої води. Якщо глюкоза замінюється цукром, необхідно виходити з розрахунку 1,5 г цукру на 1 кг маси тіла. Досліджуваний пацієнт повинен випити розчин протягом 5 хвилин. Кров для дослідження беруть через 30, 60 і 120 хвилин після проведення навантаження глюкозою.

Завдання 1. Провести глюкозотолерантний тест, дані занести в таблицю, для отриманих результатів розрахувати коефіцієнти Бодуена та Рафальського, побудувати глікемічні криві у вигляді графіка та зробити висновки

№ п/п	Час після навантаження	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л
	натщесерце		
	60 хвилин		
	120 хвилин		
	натщесерце		
	60 хвилин		
	120 хвилин		

Висновок.

Завдання 2. Проаналізувати результати проведення глікемічного профілю

№ п/п	Час взяття крові	Вміст глюкози
1	08.00	
	12.00	
	16.00	
2	08.00	
	12.00	
	16.00	
3	08.00	
	12.00	
	16.00	
4	08.00	
	12.00	
	16.00	

Висновок.

Клініко-діагностичне значення.

Глюкозотолерантний тест проводиться з метою виявлення латентних форм цукрового діабету та наявності толерантності до глюкози на початкових етапах. При цукровому діабеті рівень глюкози натщесерце буває підвищеним, зростання глікемічної кривої відбувається повільно, зниження затягується, гіпоглікемічна фаза за час проведення тесту не спостерігається.

Навантаження глюкозою супроводжується у більшості випадків глюкозурією. Чим більш чітко виражений цукровий діабет, тим пізніше досягається максимум глікемії та тим він вище. Ураження печінки характеризується швидким зростанням глікемічної кривої в результаті ослаблення асиміляційної здатності печінки. Однак максимальний підйом не досягає таких величин, як при цукровому діабеті. Захворювання щитоподібної залози, які пов'язані з її гіперфункцією, характеризуються глікемічними кривими з більш швидким, порівняно з нормою, зростанням рівня глюкози. Використання двократного навантаження глюкозою, навантаження адреналіном, інсуліном та комбінованих тестів з інсуліном, глюкагоном, кортизоном та АКТГ дозволяють виявити приховані форми цукрового діабету, порушення функції печінки та ендокринних залоз.

4.3. САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Для діагностики яких захворювань важливо мати об'єктивні дані про рівень глюкози в крові

- A. Новоутворення головного мозку
- B. Новоутворення підшлункової залози та наднирників
- C. Цукровому діабеті
- D. Всі відповіді правильні

2. Які показники глюкози характерні для цукрового діабету

- A. 7,2 ммоль/л
- B. 6,7 ммоль/л
- C. Більш як 8,0 ммоль/л
- D. 5,5 ммоль/л

3. Яка концентрація глюкози у крові через 2 години після перорального введення глюкози при проведенні стандартного глюкозотолерантного тесту характерна для порушення толерантності до глюкози

- A. 5,0 – 8,0 ммоль/л
- B. 12,0 – 14,0 ммоль/л
- C. 8,0 – 11,0 ммоль/л
- D. 8,0 – 13,0 ммоль/л

4. При якому з перерахованих захворювань відзначається збільшення концентрації глюкози в крові

- A. Гострий панкреатит
- B. Травма, пухлина головного мозку
- C. Отруєння ртуттю або окисом вуглецю
- D. Всі відповіді правильні

5. При якій концентрації глюкози в крові після багатого вуглеводами сніданку слід проводити глюкозотолерантний тест:

- A. 5,5 – 6,0 ммоль/л
- B. 5,5 – 7,2 ммоль/л

С. 7,2 – 7,6 ммоль/л

6. По яким показникам оцінюється крива, отримана при проведенні глюкозотолерантного тесту:

- А. Початковий вміст глюкози
- В. Швидкість і висота підйому
- С. Тривалість глікемії та характер її зниження
- Д. Всі відповіді правильні

7. Які причини сприяють виникненню гіперглікемії:

- А. Значний прийом вуглеводів з їжею
- В. Емоційне та психологічне напруження
- С. Фізичне навантаження та паління
- Д. Всі відповіді правильні

8. При якій формі цукрового діабету вміст кетонових тіл у крові і сечі може підвищуватися

- А. Латентний діабет
- В. Потенційний діабет
- С. Клінічний діабет, важка форма
- Д. Всі відповіді правильні

9. По яких показниках оцінюється крива, отримана при проведенні глюкозотолерантного тесту:

- А. Початковий вміст глюкози
- В. Швидкість і висота підйому
- С. Тривалість глікемії та характер її зниження
- Д. Всі відповіді правильні

10. Через які проміжки часу беруть кров для дослідження глюкози при проведенні глюкозотолерантного тесту:

- А. Натщесерце
- В. Через 1 годину
- С. Через 2 години
- Д. Всі відповіді правильні

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 3

1. ТЕМА: Метаболізм фруктози, галактози, глікогену та лабораторна діагностика порушень їх метаболізму.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Переважна більшість тваринних і рослинних клітин у нормі знаходяться в аеробних умовах, і тому вуглеводи окислюються повністю до CO_2 та H_2O за допомогою циклу Кребса. При цьому з глюкози вивільняється вся біологічно доступна вільна енергія. Крім того, в організмі

існує ще один шлях окислення вуглеводів – прямий пентозофосфатний цикл. Знання аеробного та пентозофосфатного шляхів окислення глюкози дуже важливе для майбутнього лаборанта в зв'язку з можливою корекцією цих процесів, а також розуміння їх ролі в енергообміні та пластичних процесах в клітині.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Вивчити теоретичний матеріал по проміжному обміну вуглеводів. Вміти визначати піруват в біологічних рідинах.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Метаболізм фруктози в організмі людини та його порушення. Лабораторна діагностика.
2. Метаболізм галактози в організмі людини та його порушення. Лабораторна діагностика.
3. Будова і біологічна роль глікогену.
4. Біосинтез глікогену: хімізм, ключові ферменти, фізіологічне значення.
5. Фосфоролітичний шлях розпаду глікогену в печінці і м'язах.
6. Роль адреналіну, глюкагону і інсуліну в регуляції метаболізму глікогену в м'язах і печінці. Механізми ц-АМФ-залежної регуляції активностей глікогенфосфорилази і глікогенсинтетази.
7. Механізми реципрокної регуляції глікогенолізу і глікогенезу.
8. Генетичні порушення дії ферментів метаболізму глікогену (глікогенози, аглікогенози).

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №3

Дата

1. Визначення активності α -амілази у сироватці крові та сечі методом Каравея

Принцип методу: У присутності α -амілази крохмаль гідролізується до похідних, що не дають кольорової реакції з йодом. Зміна інтенсивності фарбування йод-крохмального комплексу пропорційна активності ферменту в дослідній пробі.

Лінійність методу: 3,0 – 36,0 мг/сек*л

Нормальні значення: сироватка, плазма – 3,3 – 8,9 мг/сек*л (12–32 мг/год*мл)

сеча – до 44 мг/сек*л (до 120 мг/год*мл)

дуоденальний вміст – 1,7 – 4,4 г/сек*л (6 – 16 г/год*мл)

Активність ферменту стабільна протягом 5 годин при температурі +2 – +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 640 нм та довжиною оптичного шляху 10 мм

- 2) Водяний термостат або автоматична водяна баня, які здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1)⁰С.
- 3) Автоматичні або скляні піпетки на 0,1 і 5 мл
- 4) Мірна колба місткістю 1000 мл
- 5) Сироватка крові
- 6) Субстратно-буферний розчин
- 7) Розчин йоду 0,1 н
- 8) Розчин інгібітору

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл:	Дослідна проба	Холоста проба	Контрольна проба
Субстратно-буферний розчин	1,0	1,0	1,0
Інкубувати 3 хв при +37 ⁰ С			
Сироватка крові	0,02	-	-
Інкубувати 7,5 хв при +37 ⁰ С			
Розчин йоду 0,1 н	1,0	1,0	-
Сироватка крові	-	0,02	-
Вода дистильована	8,0	8,0	9,0

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 5 хвилин. Виміряти оптичну щільність дослідної (E_{дос}) та калібрувальної проби (E_{кал}) проти холостої при довжині хвилі 640 – 670 нм. Забарвлення розчину стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Розрахунок активності фермента в сироватці крові проводять за формулою

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{к}} - E_{\text{д}}}{E_{\text{к}}} \times 160 \quad (\text{г/год}^* \text{л})$$

де C_{дос} – активність амілази у дослідному зразку;

E_д – оптична щільність дослідної проби;

E_к – оптична щільність контрольної проби;

160 – фактор перерахування, г/год*л

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення,

Висновок:

4.3. САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. У дитини відзначається блювота і пронос після прийому їжі, загальна дистрофія, гепато- і спленомегаля. Після припинення годування молоком симптоми зменшуються. Укажіть можливе порушення обміну речовин:

- A. Гіперсекреція залоз внутрішньої секреції
- B. Порушення обміну фенілаланіну
- C. Порушення обміну галактози
- D. Порушення обміну тирозину
- E. Недостатність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази

2. У дитини першого року життя виявлене збільшення печінки, нирок, затримка росту, судоми (як наслідок гіпоглікемії). Подальше дослідження показало відсутність ферменту глюкозо-6-фосфатази. Виберіть тип глікогенозу, пов'язаний зі спадковим дефектом синтезу даного ферменту:

- A. Хвороба Гірке
- B. Хвороба Помпе
- C. Хвороба Андерсена
- D. Хвороба Мак-Ардла
- E. Хвороба Томсона

3. При хронічному передозуванні глюкокортикоїдів у хворого виникає гіперглікемія. Назвіть процес вуглеводного обміну, за рахунок якого збільшується концентрація глюкози:

- A. Глюконеогенез
- B. Глікогеноліз
- C. Глікогенез
- D. Аеробний гліколіз
- E. Пентозофосфатний цикл

4. При лабораторному обстеженні в хворого виявлено надмірне накопичення глікогену в печінці. Укажіть назву хвороби, при якій це спостерігається:

- A. Хвороба Гірке
- B. Хвороба Адисона
- C. Хвороба "кленового сиропу"
- D. Хвороба Дауна
- E. Хвороба Боткіна

5. Укажіть фермент, спадкова відсутність якого є причиною фруктоземії:

- A. Фруктокіназа
- B. Фосфотруктокіназа
- C. Гексокіназа
- D. Глюкокіназа
- E. Піруваткіназа

6. Концентрацію якої речовини слід визначати у плазмі крові хворого глікогенозом I типу:

- A. Глюкози
- B. Фруктози
- C. Галактози
- D. Аланіну
- E. Сечової кислоти

7. При дослідженні крові у хворого виявлено виражену гіпоглюкоземію натще. При дослідженні біоптату печінки виявилось, що в клітинах печінки не відбувається синтез глікогену. Нестача якого ферменту є причиною захворювання?

- A. Альдолази
- B. Фруктозодифосфатази
- C. Глікогенсинтази
- D. Фосфорилази
- E. Піруваткарбоксилази

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

Заняття №4

1. ТЕМА: Метаболізм глікопротеїнів, протеогліканів, глікозаміногліканів. Лабораторна діагностика порушень метаболізму. Ревматизм

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Вуглеводи разом з іншими речовинами відносяться до основних компонентів клітин. В тканинах тваринних організмів частка вуглеводів в порівнянні, наприклад, з білками, незначна, проте їх фізіологічна роль велика, що зумовлено різноманітними функціями вуглеводів (енергетична, пластична, захисна тощо). Про порушення в обміні досить об'єктивно свідчать зміни концентрації вуглеводів (глюкоза, глікоген) та їх метаболітів, а також зміни активності ферментів вуглеводного обміну в біосубстратах при різних захворюваннях, що широко застосовується в якості діагностичних показників.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Вивчити основні питання заняття щодо специфіки обміну складних вуглеводів та його регуляцію в умовах норми і патології. Вміти пов'язувати знання теоретичного матеріалу з конкретними результатами лабораторного практикума і тестів вуглеводного обміну як продіагностичних показників.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальні уявлення про метаболізм глікозаміногліканів.
2. Мукополісахаридози: генетичні порушення метаболізму глікозаміногліканів.
3. Методи дослідження вуглеводвмісних білків та їх компонентів у крові
4. Клініко-діагностичне значення визначення сероглікоїдів та фракцій глікопротеїдів у сироватці крові
5. Окремі представники фракцій глікопротеїдів та методи їх дослідження (сіалові кислоти, гаптоглобін, фруктозамін, глікозований гемоглобін, церулоплазмін)

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 4

Дата

1. Визначення сіромукоїдів (сіроглікоїдів) у сироватці крові турбідиметричним методом

Принцип методу:

При додаванні до сироватки крові розчину хлорної кислоти частина білкових речовин випадає в осад, а сіромукоїди залишаються у розчині, з якого осаджуються фосфорновольфрамовою кислотою. За ступенем помутніння реакційного розчину роблять висновок про вміст сіромукоїдів у сироватці крові.

Лінійність методу: 0–15 од. S-N (за Shank і Hoagland)

Нормальні значення: сироватка, плазма – 3–5 од. S-N або 0,13–0,18 оптичних одиниць

Концентрація сіромукоїдів стабільна 2 доби при температурі +2 - +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реанти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі (630 - 690) нм та довжиною оптичного шляху 10 мм
- 2) Скляні піпетки на 1 і 5 мл
- 3) Колби мірні місткістю 50; 100 та 250 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Фізіологічний розчин
- 6) Розчин хлорної кислоти
- 7) Розчин фосфорновольфрамової кислоти

Приготування робочих розчинів:

Робочий розчин хлорної кислоти ($1,8 \pm 0,1$) моль/л. Вміст флакону з хлорною кислотою ($3,6 \pm 0,2$) моль/л кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять до мітки дистильованою водою і перемішують. Розчин стабільний при температурі від 0°C до $+8^{\circ}\text{C}$ до закінчення гарантійного терміну придатності.

Розчин фосфорновольфрамової кислоти – готовий до роботи. Розчин стабільний при температурі від $+2^{\circ}\text{C}$ до $+16^{\circ}\text{C}$ до закінчення гарантійного терміну придатності.

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірку:	Дослідна проба	Холоста проба
Сироватка крові	0,5 мл	--
Фізіологічний розчин	4,5 мл	5,0 мл
Робочий розчин хлорної кислоти	2,5 мл	2,5 мл
Змішують розчини (розчин хлорної кислоти додають краплями), перемішують інтенсивним струшуванням або за допомогою скляної палички, витримують 10 хв при кімнатній температурі і центрифугують 20 хв при 2000 – 2500 об/хв .		
Центрифугат	5,0 мл	5,0 мл
Фосфорновольфрамова кислота	1,0 мл	1,0 мл

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при кімнатній температурі протягом **15 хв**. Виміряти оптичну щільність дослідної ($E_{\text{дос}}$) проби проти холостої проби при довжині хвилі 670 нм.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення,

Висновок:

Клініко-діагностичне значення.

Загальний вміст сіромукоїдів збільшується при запальних і некробіотичних процесах, у тому числі при жовтяничному синдромі, злоякісних пухлинах, загостренні хронічного холециститу, деструктивній формі туберкульозу легенів, ревматизмі, інфаркті міокарда, мозковому інсульті. Рівень сіромукоїдів знижується при порушенні протеосинтетичної функції печінки – інфекційному гепатиті, гепатоцелюлярній дистрофії, розсіяному склерозі, гепатоцеребральній дистрофії.

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. У літньої жінки розвилася катаракта на тлі цукрового діабету. Назвіть процес, стимуляція якого є причиною змутнення кришталика:

- A. Глікозилювання білків
- B. Протеоліз білків
- C. Кетогенез
- D. Ліполіз
- E. Глюконеогенез

2. Мукополісахаридоз відноситься до хвороб накопичення. Через відсутність ферментів порушується розщеплення полісахаридів. У хворих спостерігається посилення виділення їх з сечею та накопичення в одному з органів клітини. У яких органах накопичуються мукополісахариди?

- A. У лізосомах
- B. В комплексі Гольджі
- C. В клітинному центрі
- D. В ендоплазматичному ретикулумі
- E. У мітохондріях

3. У дитини спостерігається затримка фізичного та розумового розвитку, глибокі порушення з боку сполучної тканини внутрішніх органів, в сечі виявлено кератансульфати. Обмін яких речовин порушений?

- A. Еластин
- B. Колаген
- D. Гіалуронова кислота
- E. Глікозаміноглікани

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

Змістовий модуль 2

Обмін ліпідів в нормі та при патології

ЗАНЯТТЯ № 5

1. ТЕМА: Обмін триацилгліцеролів та фосфоліпідів. Лабораторні методи їх визначення.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Найважливішою складовою частиною тваринних організмів є ліпіди – різні за фізико-хімічною природою речовини, біологічна роль яких полягає в здійсненні ними різноманітних функцій: енергетичної, пластичної, як джерела жиророзчинних вітамінів тощо.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Вивчити загальні закономірності обміну ліпідів та шляхи його регуляції. Вміти кількісно визначати триацилгліцероли та фосфоліпіди у сироватці крові.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Катаболізм триацилгліцеролів в адипоцитах жирової тканини (ліполіз), послідовність реакцій. Нейрогуморальна регуляція ліполізу адреналіном, норадреналіном, глюкагоном і інсуліном. Окислення гліцеролу (ферментативні реакції, енергоефект процесу).
2. Хімізм і біологічна роль синтезу триацилгліцеролів в ентероцитах кишечника, печінки, в жировій тканині.
3. Ліполіз гліцерофосфоліпідів в клітині: локалізація і особливості дії фосфоліпаз A₁, A₂, C і D.
4. Біосинтез гліцерофосфоліпідів на прикладі фосфатиділхоліна (ФХ). Роль активної форми метіоніну в синтезі ФХ.
5. Порушення обміну тригліцеридів при патологіях – цукровий діабет, ожиріння, атеросклероз
6. Лабораторні методи визначення рівня тригліцеридів у сироватці крові

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 5

Дата

1. Визначення тригліцеролів ферментативним методом

Принцип методу: тригліцериди під дією ліпази та гліцерофосфатоксидази розщеплюються до гліцерину та перекису водню, який реагуючи з 4-амінофеназоном під впливом пероксидази утворює хінонімін. Концентрацію хіноніміну визначають фотометрично, враховуючи, що інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації тригліцеридів у дослідному зразку.

Лінійність методу: 0,1–11,4 ммоль/л

Нормальні значення: 0,15–1,71 ммоль/л

Концентрація тригліцеридів стабільна протягом 7 діб при температурі +2 - +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 505 нм та

- довжиною оптичного шляху 10 або 5 мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,02, 0,2 і 2 мл
 - 3) Сироватка крові
 - 4) Фізіологічний розчин
 - 5) Реактив 1 (розчин ферменту)
 - 6) Стандартний розчин тригліцеридів

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірку:	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Досліджуваний матеріал	0,02 мл	--	--
Стандартний розчин	--	0,02 мл	--
Фіз. розчин	--	--	0,02 мл
Реактив 1	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 15 хвилин або 10 хвилин при температурі 37⁰С. Виміряти оптичну щільність дослідної (E_{дос}) і стандартної (E_{каліб}) проб проти холостої проби при довжині хвилі 505 нм.

Забарвлення розчину стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Вміст тригліцеридів у досліджуваному матеріалі розраховують за стандартом по формулі:

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де C_{дос} – концентрація тригліцеридів у досліджуваній пробі, ммоль/л;

E_{дос} – оптична щільність дослідної проби;

E_{ст} – оптична щільність стандартної проби;

C_{ст} – концентрація холестерину в стандартному розчині

При вмісті тригліцеридів в дослідній пробі понад 11,4 ммоль/л (поза зоною лінійності методу), аналізовану рідину слід розвести фізіологічним розчином і повторити вимірювання, а отриманий результат розрахунку помножити на коефіцієнт розведення.

Клініко-діагностичне значення.

Підвищення рівня тригліцеридів спостерігається при гіперліпопротеїнемії I, II_b, III, IV і V типів, викликані родинною або спорадичною гіпертригліцеридемією, родинний дефіцит ліпопротеїнліпази, родинна дис-β-ліпопротеїнемія, ерозійні або плоскі ксантоми. До вторинного підвищення тригліцеридів можуть вести наступні первинні хвороби або

стани: ожиріння, порушення толерантності до глюкози, вірусний гепатит, алкоголізм, алкогольний цироз, біліарний цироз, позапечінкова обтурація жовчних шляхів, гострий та хронічний панкреатит, нефротичний синдром, гіпертонічна хвороба, гіпотиреоз, цукровий діабет, гіпотиреоз, гострий інфаркт міокарду та інші. Зменшення вмісту тригліцеридів відмічається при гіполіпопротеїнемії, абеталіпопротеїнемії, хронічних обструктивних захворюваннях легень, інфаркті мозку, гіпертиреозі, гіперпаратиреозі, лактозурії, синдромі мальабсорбції.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновок:

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Назвіть найбільш точний метод визначення тригліцеридів

- A. Колориметричний
- B. Хроматографічний
- C. Метод розрахунку
- D. Імуносерологічний
- E. Ферментативний

2. Виберіть ферменти, що розщеплюють фосфоліпиди:

- A. Панкреатична ліпаза
- B. Моногліцеридліпаза
- C. Лізофосфоліпаза
- D. Кишкова ліпаза
- E. Фосфоліпази A₁, A₂, C, D

3. Укажіть ліпиди, транспорт яких, переважно, забезпечують хіломікрони крові:

- A. Ендогенні тригліцериди
- B. Екзогенні тригліцериди
- C. Холестерол

- D. Фосфоліпіди
E. Холестерол та його ефіри
- 4. Укажіть гормончутливий регуляторний фермент ліполізу у жировій тканині:**
- A. Тригліцеридліпаза
B. Дигліцеридліпаза
C. Моногліцеридліпаза
D. Фосфоліпаза
E. Холестеролестераза
- 5. Виберіть вторинний посередник, який бере участь у активації гормоночутливої тригліцеридліпази:**
- A. цГМФ
B. цАМФ
C. Діацилгліцерол
D. Ca²⁺
E. Інозитолтрифосфат
- 6. Виберіть макроерг, енергія якого використовується у синтезі триацилгліцеридів:**
- A. ЦТФ
B. ГТФ
C. АТФ
D. УТФ
E. АДФ
- 7. Назвіть сполуку, що є попередником у синтезі фосфатиділхоліна:**
- A. Фосфатиділетаноламін
B. Фосфатидилсерін
C. Фосфатидилінозитол
D. Плазмалоген
E. Кардіоліпін
- 8. Укажіть субстрат, з якого утворюється гліцерол-3-фосфат у процесі біосинтезу тригліцеридів у жировій тканині:**
- A. Гліцеральдегідфосфат
B. Гліцерин
C. Гліцеринова кислота
D. Діоксіацетонфосфат
E. Піровиноградна кислота
- 9. При яких захворюваннях спостерігається гіпертригліцеридемія?**
- A. Сімейна гіперліпопротеїнемія
B. Цукровий діабет
C. Панкреатит
D. Гепатит
E. Всі відповіді правильні
- 10. Які з названих показників відповідають нормальним значенням тригліцеридів:**

- A. 0,56 – 1,69
- B. 2,16 – 3,56
- C. 4,12 – 6,16
- D. 3,5 – 4,0
- E. 1,55 – 2,15

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 6

1. ТЕМА: Обмін вищих жирних кислот та кетонових тіл. Кетонемія, кетонурія.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ: Вищі жирні кислоти є субстратом для синтезу структурних компонентів біологічних мембран, а також виконують роль енергетичного депо. Порушення обміну ВЖК викликає такі патології, як ожиріння та кетоацидоз при цукровому діабеті.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичні положення обміну ВЖК та шляхи його регуляції. Вміти визначати вміст кетонових тіл в сироватці крові.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. β -Окислення вищих жирних кислот (ВЖК) насиченого і ненасиченого ряду. Роль карнітину в транспорті жирних кислот з цитоплазми в мітохондрії.
2. Енергетична цінність β -окислення ВЖК в клітинах (для стеаринової і олеїнової кислот).
3. Біосинтез вищих жирних кислот. Особливості складу і функції ацетил-КоА-карбоксилази, пальмітатсинтазного комплексу. Регуляція процесу.
4. Біосинтез мононенасичених вищих жирних кислот в організмі людини.
5. Кетонові тіла. Реакції біосинтезу і утилізації кетонових тіл: локалізація в організмі, біологічне значення. Кетонемія і кетонурія при цукровому діабеті, голодуванні.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 6

Дата

1.Якісні реакції на кетонові тіла

1.1. Реакція Лібена

Принцип методу: Ацетон реагує в лужному середовищі з йодом, перетворюючись у йодоформ. Про утворення йодоформу дізнаються за специфічним запахом.

Хід роботи:

До 1 мл розчину ацетону додають 5-6 крапель 10% р-ну NaOH і 3-4 краплі реактиву Люголя. Утвориться йодоформ. При великих кількостях

ацетону в сечі випадає кристалічний осад йодоформу. Про утворення йодоформу дізнаються за специфічним запахом

Результат:

Висновки:

1.2. Реакція Легаля.

Принцип методу: Ацетон і ацетооцтова кислота в лужному середовищі утворюють з натрію нітропрусидом помаранчево-червоне забарвлення. Після підкислення крижаною оцтовою кислотою утворюється сполука вишневого кольору.

Хід роботи: В пробірку наливають 1 мл ацетону, підлужнюють 10% розчином NaOH і додають 1-5 крапель свіжовиготовленого нітропрусиду натрію. Рідина забарвлюється в червоний колір. Інтенсивність підсилюється від додавання оцтової кислоти.

Результат:

Висновки:

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть білки крові, що транспортують жирні кислоти:

- A. Глобуліни
- B. Гемоглобін
- C. Альбуміни
- D. α -Ліпопротеїни
- E. β -Ліпопротеїни

2. Укажіть локалізацію процесу β -окислення жирних кислот у клітині:

- A. Ядро
- B. Цитозоль
- C. Мітохондрії
- D. Лізосоми
- E. Апарат Гольджи

3. Назвіть вітаміноподібну речовину, що бере участь у транспорті жирних кислот з цитоплазми у мітохондрії:

- A. Коензим А
- B. Карнітин
- C. Біотин
- D. Пантотенова кислота
- E. Фолієва кислота

4. Укажіть на скільки атомів вуглецю стає коротшим вуглецевий ланцюг вищих жирних кислот за один цикл β -окислення:

- A. 3
- B. 4
- C. 2
- D. 1
- E. 0

5. Виберіть додатковий фермент, необхідний для окислення ненасичених жирних кислот:

- A. $\Delta^{3,4}$ – цис – $\Delta^{2,3}$ - транс-еноїл – КоА - ізомераза
- B. Ацил –КоА- дегідрогеназа
- C. Еноїл – КоА - гідратаза
- D. Оксіацил – КоА - дегідрогеназа
- E. Тіолаза

6. Укажіть кінцевий продукт β -окислення жирних кислот з непарним числом вуглецевих атомів:

- A. Сукциніл-КоА
- B. Ацетил-КоА
- C. Ацетоацетил-КоА
- D. Пропіоніл-КоА
- E. Оксиметилглутарил-КоА

7. Вкажіть представника кетонових тіл в організмі:

- A. Оцтова кислота
- B. Масляна кислота
- C. Пальмітинова кислота
- D. Олеїнова кислота
- E. Ацетооцтова кислота

8. Укажіть місце синтезу кетонових тіл в організмі:

- A. Печінка
- B. Нирки
- C. М'язи
- D. Підшлункова залоза
- E. Легені

9. Назвіть продукт, що утворюється при конденсації двох молекул ацетил-КоА у процесі біосинтезу кетонових тіл:

- A. Оксипутират
- B. Ацетоацетат

- C. Ацетон
- D. Сукциніл-КоА
- E. Ацетоацетил-КоА

10. Виберіть патологію, при якій спостерігається кетонемія в організмі:

- A. Інфаркт міокарду
- B. Атеросклероз
- C. Цукровий діабет
- D. Ревматизм
- E. Гострі вірусні інфекції

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 7

1. ТЕМА: Метаболізм холестеролу в організмі. Лабораторні методи визначення холестролу в сироватці крові

2. АКТУАЛЬНІСТЬ: Особливості метаболізму ліпідів в умовах норми і патології разом з широким застосуванням численних показників ліпідного обміну в якості продіагностичних показників (зокрема визначення вільного та зв'язаного холестерину) має велике практичне значення.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити особливості специфіки обміну холестеролу та жовчних кислот в умовах норми і патології. Вміти поєднувати знання теоретичного матеріалу з результатами лабораторного практикума і можливістю використання тестів ліпідного обміну в якості продіагностичних показників.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Будова, класифікація та біологічні функції ліпідів.
2. Біосинтез холестеролу: локалізація, початкові субстрати, схема реакцій, регуляція процесу.
3. Шляхи біотрансформації холестеролу, локалізація в організмі: етерифікація; утворення жовчних кислот, стероїдних гормонів, активних форм вітаміну D₃
4. Поняття про загальний холестерин плазми крові. Екзогенний та ендогенний холестерин, їх співвідношення у крові здорової людини.
5. Загальне уявлення про синтез холестерину та його регуляцію в організмі людини.
6. Зміни вмісту холестерину в організмі в залежності від віку, статі, дієти, місця проживання, сезону року.

7. Особливості впливу лікарських препаратів на вміст холестерину в крові пацієнтів.
8. Загальні вимоги до проведення досліджень крові на вміст ліпідів.
9. Методи визначення загального холестерину крові

ПРОТОКОЛ № 7

Дата

1. Визначення загального холестерину ферментативним методом

Принцип методу: Холестерин сироватки крові під дією холестерин оксидази окислюється киснем повітря до холестерен-3-ону та перекису водню. Останній під дією пероксидази утворює з фенолом та 4-аміноантипірином хінонімін рожево-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення розчину прямо пропорційна концентрації холестерину у крові.

Лінійність методу: 0,05 – 19,4 ммоль/л

Нормальні значення: 3,88 – 6,72 ммоль/л

Концентрація холестерину стабільна протягом 24 годин при температурі +2 - +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 540 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5 мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,02, 0,2 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Фізіологічний розчин
- 5) Реактив 1 (розчин ферменту)
- 6) Стандартний розчин холестерину

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірку:	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Досліджуваний матеріал	0,02 мл	--	--
Стандартний розчин	--	0,02 мл	--
Фіз. розчин	--	--	0,02 мл
Реактив 1	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 20 хвилин або 10 хвилин при температурі 37⁰С. Виміряти оптичну щільність дослідної ($E_{\text{дос}}$) і стандартної ($E_{\text{каліб}}$) проб проти холостої проби при довжині хвилі 540 нм.

Забарвлення розчину стабільне протягом 60 хвилин.

Розрахунок

Вміст холестерину у досліджуваному матеріалі розраховують за стандартом по формулі:

$$C_{\text{дос}} (\text{ммоль/л}) = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де $C_{\text{дос}}$ – концентрація холестерину у досліджуваній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{ст}}$ – оптична щільність стандартної проби;

$C_{\text{ст}}$ – концентрація холестерину в стандартному розчині

При вмісті холестерину в дослідній пробі понад 19,4 ммоль/л (поза зоною лінійності методу), аналізовану рідину слід розвести фізіологічним розчином і повторити вимірювання, а отриманий результат розрахунку помножити на коефіцієнт розведення.

Клініко-діагностичне значення.

Холестерин може накопичуватися у крові у великих кількостях при порушеннях ліпідного обміну. Тривала гіперхолестеринемія за умови зниженої розчинності холестерину призводить до розвитку атеросклерозу внаслідок відкладення у стінках артерій переважно зв'язаного холестерину з наступним утворенням атероматозних бляшок. Збільшення концентрації холестерину відмічається також при механічній жовтяниці, нефриті, нефрозах, що супроводжуються набряком, гіпотиреозі, цукровому діабеті. Зниження вмісту холестерину спостерігається при анеміях, туберкульозі, лихоманках, гіпертиреозі, паренхіматозній жовтяниці, раковій кахексії, голодуванні.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновок:

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть сполуку, з якої синтезується холестерин в організмі:

А. Кротоніл-КоА

В. Пальмітил-КоА

- C. Оксипутирил-КоА
- D. Ацетил-КоА
- E. Бутирил-КоА

2. Виберіть, у якому органі найбільше активно здійснюється синтез холестерину:

- A. Нирки
- B. Печінка
- C. Кишечник
- D. Кора надниркових залоз
- E. Репродуктивні органи

3. Укажіть, які функції виконує холестерин в організмі людини:

- A. Обов'язковий компонент біологічних мембран
- B. З холестерину синтезуються жовчні кислоти
- C. Попередник кортикостероїдів, статевих гормонів
- D. Попередник вітаміну D₃
- E. Усі зазначені функції

4. Укажіть сполуку, що утворюється після конденсації трьох молекул ацетил-КоА і подальшого відновлення у процесі синтезу холестерину:

- A. Мевалонова кислота
- B. Масляна кислота
- C. Оксиметилглутарил-КоА
- D. Фумарова кислота
- E. Лимонна кислота

5. Укажіть кінцевий продукт, у який перетворюється мевалонова кислота на другій стадії синтезу холестерину

- A. Ланостерин
- B. Ізопрен
- C. Фарнезилпірофосфат
- D. Сквален
- E. Геранілпірофосфат

6. Назвіть регуляторний фермент процесу синтезу холестерину:

- A. Ацетил-КоА-ацетилтрансфераза
- B. Оксиметилглутарил-КоА-редуктаза
- C. Оксиметилглутарил-КоА-синтетаза
- D. Ацетил-КоА-карбоксилаза
- E. Тіолаза

7. Основним кінцевим продуктом обміну холестеролу в печінці є:

- A. Вітамін D₃
- B. Гіпурова кислота
- C. Тваринний індиан
- D. Жовчні кислоти
- E. Скатола

8. В регуляції обміну ліпідів приймають участь:

- A. Гормони наднирників

- В. Глюкагон
- С. Інсулін
- Д. Статеві гормони
- Е. Все перелічене

9. Який з результатів визначення вмісту холестерину в сироватці крові відповідає нормі?

- А. 2,7 ммоль/л
- В. 5,1 ммоль/л
- С. 7,8 ммоль/л
- Д. 8,3 ммоль/л
- Е. 12 ммоль/л

10. Через який час після останнього споживання їжі доцільно брати кров для визначення ліпідів?

- А. 30 хвилин
- В. 2 години
- С. 4 години
- Д. 12 годин
- Е. 24 години

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

Заняття № 8

1. ТЕМА: Ліпопротеїни плазми крові. Визначення ліпопротеїнів та лабораторна діагностика атеросклерозу

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Особливості метаболізму окремих груп ліпопротеїнів можуть суттєво змінюватись при порушенні процесу їх обміну. Такі захворювання людини, як гіпертонія, ішемічна хвороба серця, інсульт головного мозку, інсулін-незалежний цукровий діабет, ожиріння відповідно до молекулярного механізму багато в чому обумовлені дисбалансом у вмісті ліпідів і ліпопротеїнів плазми крові (ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ЛПДВЩ), які діагностують як дисліпопротеїнемію (зміна від норми процентного відношення вмісту фракцій ліпопротеїнів плазми крові). Висока частота виникнення вищевказаних патологій у цивілізованих країнах світу вимагає від майбутнього лікаря ретельного вивчення питань про причини виникнення дисліпопротеїнемії та особливості їх діагностики.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Оцінити стан ліпідного обміну за показниками холестерину у різних класах ліпопротеїнів крові та встановити їхнє значення у розвитку атеросклерозу

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ

4.1 ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Класифікація ліпопротеїдів плазми крові за методом розділення (центрифугування, електрофорез)
2. Порівняльна оцінка вмісту холестерину та його ефірів у різних класах ліпопротеїдів
3. Ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ) – локалізація, утворення фракції в організмі. Механізм перетворення насцентних ЛПВЩ у ремнантну форму, функція у крові. Антиатерогенні властивості ЛПВЩ.
4. Гіпер- і гіпо- α -ліпопротеїдемії. Зміни вмісту холестерину та ЛПВЩ у крові пацієнтів при атеросклеротичному ураженні судин
5. Ліпопротеїни низької та дуже низької щільності (ЛПНЩ, ЛПДНЩ): локалізація утворення фракцій в організмі, механізм перетворення насцентної форми в ремнантну, функція в крові. Атерогенні властивості ЛПНЩ
6. Ліпопротеїни плазми крові в діагностиці порушень обміну ліпідів
7. Первинні та вторинні гіперліпопротеїнемії. Зміна вмісту холестерину та ЛПНЩ в крові пацієнтів при атеросклеротичному ураженні судин

4.2 ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 8

Дата

1. Визначення холестерину в ліпопротеїдах високої щільності прямим методом

Принцип методу: Антитіла до β -ліпопротеїдів, що містяться у реагенті 1, утворюють імунний комплекс з усіма ліпопротеїдами, окрім ЛПВЩ. Утворення імунних комплексів блокує участь зв'язаних ліпопротеїдів у реакції з реактивом 2. Холестериноксидаза та холестеринестераза з реагенту 2 окислюють тільки ЛПВЩ.

Лінійність методу: 0,05–19,4 ммоль/л

Нормальні значення: 3,88–6,72 ммоль/л

Концентрація холестерину ЛПВЩ стабільна протягом 24 годин при температурі $+2 - +8^{\circ}\text{C}$, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 540 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5 мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,02, 0,2 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Фізіологічний розчин
- 5) Реактив 1 (розчин ферменту)
- 6) Стандартний розчин холестерину, ммоль/л.

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірці:	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Досліджуваний матеріал	0,02 мл	--	--
Стандартний розчин	--	0,02 мл	--
Фізіол. розчин	--	--	0,02 мл
Реактив 1	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 20 хвилин або 10 хвилин при температурі 37⁰С. Виміряти оптичну щільність дослідної (E_{дос}) і стандартної (E_{каліб}) проб проти холостої проби при довжині хвилі 540 нм.

Забарвлення розчину стабільне протягом 60 хвилин.

Розрахунок

Вміст холестерину ЛПВЩ у досліджуваному матеріалі розраховують за стандартом по формулі:

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де C_{дос} – концентрація холестерину у досліджуваній пробі, ммоль/л;
 E_{дос} – оптична щільність дослідної проби;
 E_{ст} – оптична щільність стандартної проби;
 C_{ст} – концентрація холестерину в стандартному розчині

При вмісті холестерину в дослідній пробі понад 19,4 ммоль/л (поза зоною лінійності методу), аналізовану рідину слід розвести фізіологічним розчином і повторити вимірювання, а отриманий результат розрахунку помножити на коефіцієнт розведення.

Клініко-діагностичне значення.

Зменшення вмісту α-ліпопротеїнів спостерігається при гострих гепатитах, цирозах печінки та застійних жовтяницях. Збільшення рівня α-ліпопротеїнів інколи спостерігається при хронічному гепатиті.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновок:

2. Визначення холестерину в ліпопротеїдах низької щільності турбідиметричним методом

Принцип методу: В присутності хлориду кальцію та гепарину порушується колоїдна стійкість білків сироватки крові, у зв'язку з чим в осад випадають тільки β -ліпопротеїни. При цьому гепарин утворює з β -ліпопротеїнами комплекс, який під дією хлористого кальцію випадає в осад. За ступенем каламутності визначають вміст β -ліпопротеїнів у сироватці крові.

Нормальні значення: 0,35–0,55 оптичних одиниць або 35–55 умовних одиниць.

Концентрація β -ліпопротеїнів стабільна протягом 24 годин при температурі $+2 - +8^{\circ}\text{C}$.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 720 нм та довжиною оптичного шляху 5 мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,04, 0,2 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Фізіологічний розчин
- 5) 0,28% розчин хлориду кальцію. Розчин готують шляхом додавання до 1 мл 10% мпельного розчину хлориду кальцію 17 мл дистильованої води.
- 6) Розчин гепарину активністю 1000 одиниць в 1 мл

Проведення аналізу

В праву та ліву кювети фотоколориметра вносять по 2 мл 0,28% розчину хлориду кальцію та виставляють нульову точку при червоному світофільтрі. Потім у праву кювету приливають 0,2 мл сироватки та після перемішування скляною паличкою вимірюють оптичну щільність, яка звичайно складає 0,01; 0,02; 0,03. Потім в цю ж кювету додають 0,04 мл розчину гепарину, перемішують паличкою та засікають час секундоміром. Через 4 хвилини повторно вимірюють оптичну щільність вмісту кювети.

Розрахунок

Результат виражають в одиницях оптичної щільності: $E = E_2 - E_1$, або в умовних одиницях: $E = (E_2 - E_1)$, де E_1 – оптична щільність розчину перед додаванням розчину гепарину, E_2 – оптична щільність розчину через 4 хвилини після додавання розчину гепарину.

Клініко-діагностичне значення.

Збільшення вмісту β -ліпопротеїнів – патологія, що найчастіше зустрічається при дослідженні ліпідограми. Вона супроводжує атеросклероз, інтрагепатальний застій жовчі, механічній жовтяниці, діабеті, гіпотиреозі,

мононуклеозі, β_1 -плазмоцитомі. Зменшення β -ліпопротеїнової фракції відмічається при β_2 -плазмоцитомі.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновок:

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які показники ліпідного обміну необхідно визначити для розрахунку вмісту ЛПНЩ по формулі?

- A. Загальні ліпіди
- B. Загальний холестерин, ТГ
- C. Фосфоліпіди
- D. Загальний холестерин, ТГ, ХС-ЛПВЩ
- E. Тригліцериди та фосфоліпіди

2. Що таке дисліпопротеїдемія?

- A. Гіпохолестеринемія або гіпертригліцеридемія або і те й інше разом
- B. Підвищення вмісту в плазмі одного або декількох класів ліпопротеїдів
- C. Збільшення ХС і ЛПДНЩ у плазмі крові
- D. порушення кількісного співвідношення ЛП у плазмі крові
- E. Підвищення вмісту загальних ліпідів у сироватці крові

3. Який клас ліпопротеїдів містить найбільшу кількість холестерину?

- A. Хіломікрони
- B. Бета-ліпопротеїди (ЛПНЩ)
- C. Альфа-ліпопротеїди (ЛПВЩ)
- D. Пре-бета-ліпопротеїди (ЛПДНЩ)
- E. Ліпопротеїни проміжної щільності (ЛППЩ)

4. Вміст якого класу ліпопротеїдів в крові залежить від функції статевих гормонів, естрогенів?

- A. ЛПДНЩ

- В. ЛПНЩ
 - С. ЛПВЩ
 - Д. Хіломікронів
 - Е. Всі відповіді правильні
- 5. Назвіть принцип турбідиметричного методу визначення бета- і пре-бета-ліпротеїдів:**
- А. Бета- і пре-бета-ліпротеїди утворюють нерозчинні комплекси з іоном кальцію
 - В. Бета- і пре-бета-ліпротеїди осаджуються гепарином в присутності іонів кальцію, утворюючи нерозчинні комплекси
 - С. Бета- і альфа-ліпротеїди утворюють комплекси з гепарином
 - Д. Бета-ліпопротеїди утворюють комплекси з гепарином
 - Е. Альфа-ліпротеїди утворюють комплекси з гепарином
- 6. Який тип гіперліпопротеїдемії варто встановити, якщо плазма злегка каламутна, вміст ліпопротеїдів збільшений за рахунок бета- і пребета-ЛП, збільшена концентрація ХС, ТГ?**
- А. II б
 - В. II а
 - С. IV
 - Д. I
 - Е. V
- 7. Які фракції ліпопротеїдів є антиатерогенними?**
- А. ЛПДНЩ
 - В. ЛПНЩ
 - С. ЛПВЩ
 - Д. Хіломікрони
 - Е. Всі відповіді правильні
- 8. При яких захворюваннях виявляється IV тип гіперліпопротеїдемії?**
- А. Цукровому діабеті, ожирінні
 - В. Ішемічної хвороби серця
 - С. Нефротичному синдромі
 - Д. Гіпотиреозі
 - Е. Всі відповіді правильні
- 9. Зменшення якого класу ліпопротеїдів плазми крові розглядається як ознака розвитку атеросклерозу:**
- А. ЛПДНЩ
 - В. ЛПНЩ
 - С. ЛПВЩ (альфа-ліпопротеїдів)
 - Д. Хіломікрони
 - Е. Хіломікрони і ЛПНЩ
- 10. Яка зміна показників ліпідного обміну (ТГ, ХС, ФЛ, Бета-ЛП) відзначається при легкій формі вірусного гепатиту?**
- А. Близьке до норми
 - В. Знижене
 - С. Помірно підвищене

- D. Різко підвищене
- E. Різко знижене

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 9

1. ТЕМА: Підсумкове заняття зі змістовних модулів 1, 2

2. МЕТА:

Перевірити засвоєння тем занять з питань теоретичної частини і завдання, які пов'язані з темами лабораторних робіт

3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

1. Структура та біологічна роль вуглеводів.
2. Біохімічні показники обміну вуглеводів в нормі та при патології.
3. Шляхи регуляції обміну вуглеводів.
4. Метаболізм глюкози. Гіпер- та гіпоглікемія, глюкозурія.
5. Методи визначення глюкози у сироватці крові та сечі.
6. Цукровий діабет I і II типів, їх патогенез
7. Схеми проведення навантажень глюкозою (однократна, двократна)
8. Патофізіологічні механізми, що обумовлюють динаміку змін концентрації глюкози після глюкозотолерантного тесту
9. Глікемічні коефіцієнти Бодуена та Рафальського
10. Клініко-діагностичне значення проведення глюкозотолерантного тесту
11. Метаболізм фруктози і галактози в організмі людини та його порушення.
12. Біохімічні показники обміну вуглеводів в нормі та при патології
13. Шляхи регуляції обміну вуглеводів
14. Будова і біологічна роль полісахаридів (глікогену, глікозаміногліканів).
15. Біосинтез глікогену (глікогенез): хімізм, ключові ферменти процесу, фізіологічне значення.
16. Фосфоролітичний шлях розпаду глікогену в печінці і м'язах (глікогеноліз).
17. Роль адреналіну, глюкагону і інсуліну в регуляції метаболізму глікогену в м'язах і печінці. Механізми ц-АМФ-залежної регуляції активностей глікогенфосфорилази і глікогенсинтетази.
18. Механізми реципрокної регуляції глікогенолізу і глікогенезу.
19. Генетичні порушення дії ферментів метаболізму глікогену (глікогенози, аглікогенози).
20. Загальні уявлення про метаболізм глікозаміногліканів.
21. Мукополісахаридози: генетичні порушення метаболізму глюкозаміногліканів.
22. Будова, класифікація та біологічні функції ліпідів.

23. Біосинтез холестеролу: локалізація, початкові субстрати, схема реакцій, регуляція процесу.
24. Шляхи біотрансформації холестеролу, локалізація в організмі: етерифікація; утворення жовчних кислот, стероїдних гормонів, активних форм вітаміну D₃
25. Поняття про загальний холестерин плазми крові. Екзогенний та ендогенний холестерин, їх співвідношення у крові здорової людини.
26. Загальне уявлення про синтез холестерину та його регуляцію в організмі людини.
27. Зміни вмісту холестерину в організмі в залежності від віку, статі, дієти, місця проживання, сезону року.
28. Особливості впливу лікарських препаратів на вміст холестерину в крові пацієнтів.
29. Загальні вимоги до проведення досліджень крові на вміст ліпідів.
30. Методи визначення загального холестерину крові
31. β-окислення вищих жирних кислот (ВЖК) насиченого і ненасиченого ряду. Роль карнітину в транспорті жирних кислот з цитоплазми в мітохондрії.
32. Енергетична цінність β-окислення ВЖК в клітинах (для стеаринової і олеїнової кислот).
33. Біосинтез вищих жирних кислот. Особливості складу і функції ацетил-КоА-карбоксилази, пальмітатсинтазного комплексу. Регуляція процесу.
34. Біосинтез мононенасичених вищих жирних кислот в організмі людини.
35. Кетоніві тіла. Реакції біосинтезу і утилізації кетонівих тіл: локалізація в організмі, біологічне значення. Кетонемія і кетонурія при цукровому діабеті, голодуванні.
36. Катаболізм триацилгліцеролів в адипоцитах жирової тканини (ліполіз), послідовність реакцій. Нейрогуморальна регуляція ліполізу адреналіном, норадреналіном, глюкагоном і інсуліном. Окислення гліцеролу (ферментативні реакції, енергоефект процесу).
37. Хімізм і біологічна роль синтезу триацилгліцеролів в ентероцитах кишечника, печінки, в жировій тканині.
38. Ліполіз гліцерофосфоліпідів в клітині: локалізація і особливості дії фосфоліпаз A₁, A₂ C і D.
39. Біосинтез гліцерофосфоліпідів на прикладі фосфатиділхоліна (ФХ). Роль активної форми метіоніну в синтезі ФХ.
40. Порушення обміну тригліцеридів при патологіях – цукровий діабет, ожиріння, атеросклероз
41. Лабораторні методи визначення рівня тригліцеридів у сироватці крові
42. Класифікація ліпопротеїдів плазми крові за методом розділення (центрифугування, електрофорез)
43. Порівняльна оцінка вмісту холестерину та його ефірів у різних класах ліпопротеїдів

44. Ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ) – локалізація, утворення фракції в організмі. Механізм перетворення насцентних ЛПВЩ у ремнантну форму, функція у крові. Антиатерогенні властивості ЛПВЩ.
45. Гіпер- і гіпо- α -ліпопротеїдемії. Зміни вмісту холестерину та ЛПВЩ у крові пацієнтів при атеросклеротичному ураженні судин
46. Ліпопротеїни низької та дуже низької щільності (ЛПНЩ, ЛПДНЩ): локалізація утворення фракцій в організмі, механізм перетворення насцентної форми в ремнантну, функція в крові. Атерогенні властивості ЛПНЩ
47. Ліпопротеїни плазми крові в діагностиці порушень обміну ліпідів
48. Первинні та вторинні гіперліпопротеїнемії. Зміна вмісту холестерину та ЛПНЩ в крові пацієнтів при атеросклеротичному ураженні судин

Змістовий модуль 3

Обмін білків і амінокислот в нормі та при патології

ЗАНЯТТЯ № 10

1. ТЕМА: Загальний білок та його фракційний склад. Транспортні білки та інгібітори протеолізу. Білки гострої фази

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Вивчення функцій, хімічного складу крові у нормі та при патологічних станах має велике значення для розуміння її ролі у координації взаємодії процесів метаболізму у різних органах та об'єднання їх у єдину систему. Аналіз основних фракцій білків плазми та сироватки крові відіграє важливу роль для корекції їх порушень.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичний матеріал стосовно загального білку крові та його фракційного складу. Вміти визначити загальний білок та альбумін в сироватці крові, а також засвоїти основні типи протеїнограм.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Біохімічні функції крові в організмі людини.
2. Порівняльна характеристика хімічного складу плазми та сироватки крові в нормі.
3. Основні фракції білків плазми та сироватки крові (альбуміни, α -, β -, γ -глобуліни): клініко-біохімічна характеристика, зміна вмісту при патологіях. Типові протеїнограми.
4. Поняття про гіпо-, гіпер-, пара- і диспротеїнемії.
5. Клініко-біохімічна характеристика транспортних білків, білків гострої фази та інгібіторів протеолізу.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 11

Дата:

1. Кількісне визначення загального білка в сироватці крові біуретовим методом

Принцип методу: Іони міді в лужному середовищі реагують з білком з утворенням комплексу фіолетового кольору. Оптична щільність комплексу, що утворюється, прямо пропорційна вмісту білка в пробі.

Лінійність методу: 10 – 150 г/л.

Обладнання і реанти:

1. Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 540 нм та довжиною оптичного шляху 1 см
2. Автоматичні або скляні піпетки на 0,1 і 5 мл
3. Сироватка крові
4. Фізіологічний розчин
5. Реагент (гідроксид натрію – 600 ммоль/л, калій-натрій тартрат – 32 ммоль/л, сульфат міді – 12 ммоль/л, йодидкалію – 30 ммоль/л)
6. Калібратор – калібрувальний розчин загального білка, 80,0 г/л

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірці, мл:	Холоста проба	Калібрувальна проба	Дослідна проба
Калібратор	--	0,1	--
Сироватка	--	--	0,1
Реагент	5	5	5

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 10 хвилин. Виміряти оптичну щільність дослідної (E_{дос}) і калібрувальної (E_{каліб}) проб проти холостої проби при довжині хвилі 540 нм. Забарвлення розчину стабільне протягом 30 хвилин.

Гемоліз і ліпемія впливають на результат, тому для таких проб аналіз слід виконувати з бланком по пробі (20 мкл сироватки змішати з 1 мл фізіологічного розчину). Вимірюється оптична щільність бланка проти фізіологічного розчину і її значення віднімається з оптичної щільності аналізованої проби.

Розрахунок

Вміст загального білка в сироватці розраховують за стандартом (калібратором) по формулі:

$$ЗБ \text{ (г/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{каліб}}} \times C_{\text{каліб}}$$

де ЗБ – концентрація загального білка в аналізованій пробі, г/л

E_{дос} – оптична щільність дослідної проби

E_{каліб} – оптична щільність калібрувальної проби

C_{каліб} – концентрація загального білка в калібраторі

При вмісті загального білка в пробі понад 150 грам/л (поза зоною лінійності калібрувального графіка), аналізовану сироватку слід розвести 1:1 фізіологічним розчином і повторити вимірювання, а отриманий результат розрахунку помножити на 2.

Заповнити таблицю:

№ п/п	№ зразка	Екстинкція	Абсолютне значення (г/л)
1			
2			
3			
4			
5			
6			

Висновок:

Клініко-діагностичне значення.

В нормі вміст загального білка складає 65–85 г/л. В клінічній практиці часто зустрічаються стани, що характеризуються змінами вмісту загального білку в сироватці крові. Збільшення його концентрації носить назву гіперпротеїнемії, а зменшення – гіпопротеїнемії. Як гіперпротеїнемія, так і гіпопротеїнемія може бути відносною або абсолютною. **Відносна гіперпротеїнемія** пов'язана зі зменшенням вмісту води в організмі (важкі опіки, перитоніт, непрохідність кишечника, тяжка діарея, хронічний нефрит, посилене потовиділення, діабетичний кетоацидоз). **Абсолютна гіперпротеїнемія** зустрічається рідко і пов'язана з синтезом патологічних білків (парапротеїнів), посиленням синтезу імуноглобулінів та білків гострої фази. Вона спостерігається при мієломній хворобі, хворобі Вальденстрема, хворобі Ходжкіна, хронічному поліартриті, активному хронічному гепатиті, аутоімунних захворюваннях, саркоїдозі. **Відносна гіпопротеїнемія** пов'язана зі збільшенням об'єму води в кровоносному руслі і спостерігається при анурії, олігурії, порушенні видільної функції нирок та посиленій секреції антидиуретичного гормону гіпоталамусом. **Абсолютна гіпопротеїнемія** пов'язана з гіпоальбумінемією та виникає за умов недостатнього надходження білку в організм (голодування, порушення функції шлунково-кишкового тракту), зниження біосинтезу білка (гепатит, цироз печінки, інтоксикація, атрофія печінки), вроджених порушеннях синтезу окремих білків (анальбумінемія, хвороба Вільсона-Коновалова), посиленому розпаді білка (злоякісні новоутворення, тиреотоксикоз), посиленій втраті білка (нефротичний синдром, гломерулонефрит, довготривала діарея, сильні кровотечі). Зменшення вмісту білка може бути обумовлене фізіологічними станами – тривале фізичне навантаження, останній триместр вагітності та період лактації.

В сечі в нормі білок відсутній. Виділення білка з сечею має важливе діагностичне значення. Виділяють преренальну, ренальну та післяренальну протеїнурію. Преренальна протеїнурія обумовлена посиленням процесів розпаду білків (пухлини, опіки, масивний гемолітична анемія). Ренальна протеїнурія пов'язана з патологією нирок (підвищення проникності клубочкового фільтру та зменшенням реабсорбції білка у ниркових каналцях). Післяренальна протеїнурія пов'язана з патологією сечовидільних шляхів та ексудацією при запаленні. Поява білка у сечі також може бути обумовлена й іншими факторами – важким фізичним навантаженням, психоемоційним напруженням, підвищенням температури тіла, значним поступанням білків в організм з їжею.

В клінічній практиці виділяють 10 основних типів електрофореграм (**протеїнограм**), які відповідають різним патологічним станам. Типові електрофореграми з характерними змінами вмісту (співвідношення) білкових фракцій представлені в нижче наведеній таблиці.

Тип протеїнограми	Альбуміни	Фракції глобулінів			
		α_1	α_2	β	γ
Гострі запалення	↓↓	↑	↑	—	—
Хронічні запалення	↓	—	↑↑	—	↑↑
Нефротичний синдром	↓↓	—	↑	↑	↓
Злоякісні пухлини	↓↓	↑↑	↑↑	↑↑↑	↑↑
Гепатити	↓	—	—	↑	↑↑
Некроз печінки	↓↓	—	↓	↑	↑↑
Механічні жовтяниці	↓	—	↑	↑	↑
α_2 -глобулінові плазмоцитомі	↓	↓	↑↑	↓	↓
β -глобулінові плазмоцитомі	↓	↓	↓	↑↑	↓
γ -глобулінові плазмоцитомі	↓	↓	↓	↓	↑↑

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

Укажіть біологічну функцію, не характерну для крові:

- A. Ферментативна
- B. Енергетична
- C. Транспортна
- D. Дихальна
- E. Регуляторна

2. Укажіть індикаторні ферменти крові:

- A. Аспаргатамінотрансфераза
- B. Амідинліаза
- C. Карбоксиліаза
- D. L-малатгідроліаза
- E. Фосфатаза

3. Гіпопротеїнемія спостерігається при:

- A. Блювоті
- B. Діарейі
- C. Нефротичному синдромі
- D. Опіках
- E. Мієломній хворобі

4. Виберіть сполуки плазми крові, що відіграють головну роль у підтримці онкотичного тиску крові:

- A. Метгемоглобін
- B. Гемоглобін
- C. Лактат
- D. Жовчні пігменти
- E. Альбуміни

5. Укажіть, зниження вмісту якої білкової фракції плазми крові супроводжується зниженням захисних сил організму:

- A. γ -Глобуліни
- B. Альбуміни
- C. α -Глобуліни
- D. β -Глобуліни
- E. Проламіни

6. Диспротеїнемія – це:

- A. Поява” неспецифічних” білків у крові
- B. Збільшення вмісту загального білку в крові
- C. Зменшення вмісту загального білку в крові
- D. Зміна процентного співвідношення білкових фракцій
- E. Збільшення гемоглобіну в крові

7. Укажіть білок плазми крові, що з’єднується з гемоглобіном при гемолізі еритроцитів:

- A. Трансферин
- B. Гаптоглобін
- C. Інгібітор трипсину
- D. Інтерферон
- E. Альбуміни

8. Укажіть білок, що з’являється при патологічних станах, які супроводжуються запаленням і некрозом тканин:

- A. Альбуміни
- B. Глобулін
- C. Церулоплазмін
- D. Трансферин
- E. С-реактивний білок

9. Укажіть білок, що застосовується при вірусних інфекціях:

- A. Інтерферон
- B. Трансферин
- C. Кріоглобулін

10. Укажіть білок крові, що містить у своєму складі мідь:

- A. Фібриноген
- B. Тромбін
- C. Церулоплазмін
- D. Альбумін
- E. Фібринолізин

11. Назвіть клас ліпопротеїнів крові, що переважно транспортують вільний та етерифікований холестерин:

- A. Ліпопротеїни високої щільності
- B. Ліпопротеїни низької щільності
- C. Ліпопротеїни проміжної щільності
- D. Ліпопротеїни дуже низької щільності
- E. Хіломікрони

12. Виберіть ліпопротеїни, що видаляють надлишок холестерину з клітин:

- A. Ліпопротеїни низької щільності
- B. Ліпопротеїни високої щільності
- C. Хіломікрони
- D. Ліпопротеїни дуже низької щільності
- E. Ліпопротеїни проміжної щільності

13. Назвіть атерогенні ліпопротеїни крові:

- A. Ліпопротеїни високої щільності
- B. Ліпопротеїни низької щільності
- C. Ліпопротеїни дуже низької щільності
- D. Хіломікрони
- E. Ліпопротеїни проміжної щільності

14. Укажіть, яке захворювання можна діагностувати, якщо при обстеженні у хворого знайшли підвищений вміст ліпопротеїнів низької щільності в сироватці крові:

- A. Гастрит
- B. Атеросклероз
- C. Запалення легень
- D. Гострий панкреатит
- E. Ушкодження нирок

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 11

1. ТЕМА: Залишковий азот крові та його фракційний склад. Діагностика порушень обміну пуринових нуклеотидів

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Вивчення функцій, хімічного складу крові у нормі та при патологічних станах має велике значення для розуміння її ролі у координації взаємодії процесів метаболізму у різних органах та об'єднання їх у єдину систему. Аналіз основних компонентів залишкового азоту сироватки крові та безазотистих сполук відіграє важливу роль для корекції їх порушень.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичний матеріал з біохімії крові. Вміти визначити концентрацію сечової кислоти в сироватці крові.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Визначення поняття «залишковий азот крові» та клініко-діагностичне значення дослідження залишкового азоту крові.
2. Основні небілкові азотовмісні компоненти плазми крові, значення їхнього визначення при патологіях.
3. Клініко-діагностичне значення визначення сечовини в сироватці крові. Коефіцієнт відношення азоту сечовини до залишкового азоту крові при різноманітних патологіях.
4. Креатин і креатинін крові. Клініко-діагностичне значення визначення в сироватці крові.
5. Азотемії:
 - а) абсолютна: ретенційні та продуктивна
 - б) відносна (дегідратаційна)
6. Основні органічні безазотисті компоненти плазми крові, значення їхнього визначення при захворюваннях.
7. Спадкові та набуті порушення обміну пуринових нуклеотидів.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

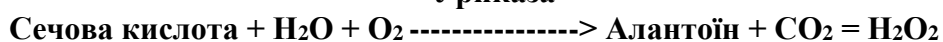
Протокол № 12

Дата:

1. Визначення концентрації сечової кислоти в біологічних рідинах ферментативним методом

Принцип методу: Сечова кислота під дією ферменту урикази окислюється до алантоїну з утворенням перекису водню. Пероксид водню реагує з хромогеном (4-аміноантипирин з N-етил-N-(гідрокси-3-сульфопропил)-m-толуїдином [TOOS]) з утворенням синьо-фіолетового комплексу.

Уриказа



Пероксидаза



Інтенсивність забарвлення розчину при довжині хвилі 550 нм прямо пропорційна концентрації сечової кислоти в ньому.

Лінійність методу: 65,7-1190 мкмоль/л.

Концентрація сечової кислоти зберігається стабільною в сироватці (плазмі) протягом 3-х днів при кімнатній температурі, при температурі зберігання 2-8⁰С– протягом 7 днів, при температурі –20⁰С– протягом 6 місяців. Стабільність концентрації сечової кислоти в сечі – 4 дні при кімнатній температурі.

Обладнання і реagentи:

1. Спектрофотометр з довжиною хвилі 550 нм, довжина оптичного шляху 5 мм
2. Автоматичні або скляні піпетки на 20 мкл, 250 мкл і 1000 мкл

3. Сироватка крові, гепаринізована або ЕДТА- плазма, сеча. Сечу заздалегідь розвести дистильованою водою у співвідношенні 1:10
4. Реагент 1 (хромоген-фосфатний буфер)
5. Реагент 2 (уриказа)
6. Стандартний розчин (розчин сечової кислоти 357 мкмоль/л)
7. Дистильована вода

Приготування робочих розчинів.

1. Розчин 1. Вміст флакону з реактивом 2 розчиняють у 2,5 мл дистильованої води. Стабільність – 14 днів у посудині з темного скла при температурі +2 - +8°C.
2. Розчин 2. Вміст флакону з реактивом 1 змішати з розчином 1 у співвідношенні 20 : 1. Стабільність – 1 доба у посудині з темного скла при температурі +2 - +8°C.

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірці, мл	Дослідна проба	Холоста проба	Стандартна проба
Досліджуваний зразок	0,1	--	--
Стандартний розчин	--	--	0,1
Дистильована вода	--	0,1	--
Розчин 2	2	2	2

Перемішати вміст кожної пробірки. Інкубувати 10 хвилин при кімнатній температурі або 5 хвилин при температурі 37 °С. Виміряти оптичну щільність дослідної і стандартної проб проти холостої проби при довжині хвилі 550 нм. Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Розрахунок за стандартом концентрації сечової кислоти в сироватці проводять за формулою:

$$\text{Сечова кислота (мкмоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де $E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{ст}}$ – оптична щільність стандартної проби;

$C_{\text{ст}}$ – концентрація сечової кислоти в стандартному розчині

Розрахунок за стандартом концентрації сечової кислоти в сечі проводять за формулою:

$$\text{Сечова кислота (мкмоль/добу)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times 11$$

де $E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби

$E_{\text{ст}}$ – оптична щільність стандартної проби

$C_{\text{ст}}$ – концентрація сечової кислоти в стандартному розчині

11 – коефіцієнт розведення

Якщо концентрація сечової кислоти перевищує 1190 мкмоль/л (точка поза зоною лінійності калібрувального графіка), аналізований зразок (сироватка або сеча) слід розвести 1:1 фізіологічним розчином і повторити вимірювання, а отриманий результат розрахунку помножити на 2.

Заповнити таблицю:

№ п/п	№ зразка	Екстинкція	Абсолютне значення (г/л)
1			
2			
3			
4			
5			
6			

Висновок:

2. Визначення сечової кислоти в біологічних рідинах за методом Мюллера-Зейферта

Принцип методу: Сечова кислота у лужному середовищі відновлює фосфорновольфрамний реактив у сполуку синього кольору. Інтенсивність забарвлення реакційного розчину пропорційна концентрації сечової кислоти у дослідному зразку.

Обладнання та реagentи:

1. Спектрофотометр з довжиною хвилі 650 нм і оптичного шляху 10 мм
2. Центрифуга
3. Автоматичні або скляні піпетки на 1, 5 та 10 мл
4. Фосфорновольфрамний реактив
5. Кислота сірчана
6. Вольфромат натрію
7. Карбонат натрію
8. Стандартний розчин сечової кислоти (300 мкмоль/л)
9. Сироватка крові або сеча (розведена у 10 разів дистильованою водою).

Приготування робочих розчинів:

1. Приготування розчину карбонату натрію. У мірну колбу на 200 мл перенести вміст флакону з карбонатом натрію, прилити 130–150 мл дистильованої води, перемішати до повного розчину осаду, довести об'єм розчину до мітки. Розчин стабільний при температурі від 0 до плюс 25°C.

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба	Холоста проба	Стандартна проба
Дистильована вода	4,0	4,5	4,0
Досліджуваний зразок (сироватка)	0,5	--	--
Стандартний розчин	--	--	0,5
Кислота сірчана	0,25	0,25	0,25
Вольфромат натрію	0,25	0,25	0,25
Перемішати, витримати 10 хвилин при кімнатній температурі			
Центрифугувати 10 хвилин при 1500 – 2000 об/хв			
Надосадкова рідина	2,0	2,0	2,0
Розчин карбонату натрію	1,0	1,0	1,0
Фосфорновольфрамний реактив	0,6	0,6	0,6
Перемішати, витримати 30 хвилин при кімнатній температурі, виміряти оптичну щільність дослідної та стандартної проби проти холостої			

У випадку дослідження сечі використовують добову сечу, в яку доданий NaOH для збереження лужного середовища.

Визначенню в сироватці (плазмі) заважають оксалати. Зразки стабільні 3-5 днів при температурі +4⁰С, до 6 місяців при температурі – 20⁰С.

Їжа збагачена пуринами (печінка, нирки), а також важка фізична праця може викликати підвищення рівня сечової кислоти.

Розрахунок.

$$\text{Сечова кислота (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де $E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби

$E_{\text{ст}}$ – оптична щільність стандартної проби

$C_{\text{ст}}$ – концентрація сечової кислоти в стандартному розчині

Для розрахунку концентрації сечової кислоти в сечі результат необхідно помножити на коефіцієнт розведення – 10

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновки:

Клініко-діагностичне значення

В нормі вміст сечової кислоти в сироватці крові у чоловіків **214-488** мкмоль/л, жінок – **137-363** мкмоль/л, в сечі – **333–583** ммоль/добу. Причинами підвищення рівня сечової кислоти в крові є подагра, лейкози, В₁₂-дефіцитна анемія, злоякісні новоутворення, масивні опіки, деякі захворювання залоз внутрішньої секреції, порушення виділення сечової кислоти нирками, їжа, що багата пуринами. Зниження концентрації сечової кислоти у крові спостерігається при гепатобіліарній дегенерації печінки (хворобі Вільсона-Коновалова), лімфогрануломатозі, мієломній хворобі та ін. захворюваннях.

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть небілкові азотовмісні сполуки:

- A. Сечова кислота
- B. Креатин
- C. Креатинін
- D. Сечовина
- E. Усі зазначені вище

2. Збільшення яких метаболітів у крові приводить до стану ацидозу:

- A. Амонійних солей
- B. Кетонових тіл
- C. Глюкози
- D. Лактози
- E. Сечової кислоти

3. Кінцевим продуктом пуринового обміну в організмі людини є:

- A. Сечовина
- B. Креатинін
- C. Сечова кислота
- D. Індикан
- E. Всі відповіді вірні

4. Гіперурикемія спостерігається при:

- A. Захворюваннях нирок
- B. Голодуванні
- C. Прийомі алкоголю
- D. Прийомі деяких лікарських препаратів
- E. Всі відповіді вірні

5. Назвіть принцип фотометричного методу визначення сечової кислоти:

- A. Утворення забарвленого комплексу при відновленні фосфорновольфрамового реактиву сечовою кислотою
- B. Утворення забарвленого комплексу при взаємодії з фосфорною кислотою
- C. Утворення забарвленого комплексу сечовою кислоти з сульфосаліциловою кислотою
- D. Утворення забарвленого комплексу при взаємодії з сірчаною кислотою
- E. Утворення забарвленого комплексу при взаємодії з карбонатом натрію

6. Перелічіть можливі помилки при визначенні сечової кислоти:

- A. Неточне приготування розчинів
- B. Нестабільність стандартного розчину
- C. Недотримання часу осадження білків
- D. Недостатнє центрифугування
- E. Всі перелічені

7. Назвіть захворювання, при яких визначення сечової кислоти має діагностичне значення:

- A. Подагра
- B. Гепатити
- C. Прогресуюча м'язова атрофія
- D. Пневмонія
- E. Ниркова недостатність

8. Вкажіть діапазон нормальних значень сечової кислоти у сечі:

- A. 30 – 300 мкмоль/добу
- B. 300 – 580 мкмоль/добу
- C. 550 – 900 мкмоль/добу
- D. 10 – 300 мкмоль/добу
- E. Більше 1000 мкмоль/добу

9. Вкажіть діапазон нормальних значень сечової кислоти у сироватці крові чоловіків:

- A. 130 – 360 мкмоль/л
- B. 220 – 500 мкмоль/л
- C. 500 – 900 мкмоль/л
- D. 100 – 300 мкмоль/л
- E. Менше 10 мкмоль/л

10 Вкажіть діапазон нормальних значень сечової кислоти у сироватці крові жінок:

- A. 130 – 360 мкмоль/л
- B. 220 – 500 мкмоль/л
- C. 500 – 900 мкмоль/л
- D. 100 – 300 мкмоль/л
- E. Менше 100 мкмоль/л

11. Найбільш значною частиною залишкового азоту сироватки крові є :

- A. Аміак
- B. Сечовина
- C. Сечова кислота
- D. Креатинін
- E. Індикан

12. В нормі рівень сечовини в сироватці крові дорівнює:

- A. 0,7 – 1,5 ммоль/л
- B. 1,7 – 8,3 ммоль/л
- C. 8,0 – 15,5 ммоль/л
- D. 15,0 – 30,0 ммоль/л
- E. 20,0 – 40,0 ммоль/л

13. Вміст сечовини досліджують з метою:

- A. Встановлення стану білкового обміну
- B. Функціонального стану печінки
- C. Функціонального стану нирок
- D. Порушення екскреторної функції нирок
- E. Всі відповіді вірні

14. При яких захворюваннях спостерігається продукційна азотемія:

- A. Тяжкі опіки
- B. Злоякісні новоутворення в стадії розпаду та інфекційні захворювання з деструкцією
- C. Лейкози
- D. Обширні ураження, синдром стиснення
- E. Всі відповіді вірні

15. Назвіть найбільш специфічний метод визначення сечовини:

- A. Газометричний
- B. Діацетилмонооксимний
- C. Уреазний
- D. Хроматографічний
- E. Рефрактометричний

6. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 12

1. ТЕМА: Спадкові порушення орнітинового циклу сечовиноутворення. Гіперамоніємії. Патології обміну окремих амінокислот та їх лабораторна діагностика.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Аміак – токсична речовина, яка має виводитись з організму. Порушення шляхів нейтралізації аміаку (синтез сечовини) та спадкові ферментопатії обміну деяких амінокислот призводять до порушення фізичного та нервово-психічного стану.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити основні шляхи утилізації аміаку в організмі. Вміти трактувати біохімічні особливості обміну окремих амінокислот в світлі виникнення молекулярних патологій.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Генетичні аномалії ферментів циклу утворення сечовини. Характеристика гіпераммоніємій
2. Шляхи метаболізму фенілаланіну і тирозину, їх генетичні порушення.
3. Обмін триптофану та його порушення.
4. Обмін цистеїну та метіоніну. Глутатіон: структура, біосинтез і функції в організмі.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №10

Дата:

Кількісне визначення сечовини в сироватці крові

Принцип методу:

Сечовина утворює із діацетилмонооксимом в присутності іонів Fe (III) і тіосемикарбазиду комплекс червоного кольору, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації сечовини.

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба	Контрольна проба
Діацетил-монооксим	2,0	2,0
Тіосемикарбазид	2,0	2,0
Сироватка	0,02	--
Фізіол. розчин	--	0,02

Пробірки закривають алюмінієвою фольгою й поміщають у киплячу водяну баню на 10 хвилин. Потім вміст пробірок швидко охолоджують під холодною водою й одразу на фотоколориметрі визначають оптичну щільність дослідної проби проти контрольної. Вимір слід при світло-зеленому світлофільтрі в кюветі товщиною 10 мм проводити не більше, ніж через 15 хвилин після охолодження

Розрахунок:

$$C = 16,64 \times (E_{\text{дослід}}/E_{\text{калібр}})$$

C- концентрація сечовини в сироватці, (ммоль/л)

$E_{\text{дослід}}$ - оптична щільність дослідної проби

$E_{\text{калібр}}$ - оптична щільність каліброваної проби = 0,16

В сироватці крові здорової людини міститься 3,33-8,32 ммоль/л сечовини.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Зниження вмісту сечовини спостерігається при паренхіматозному гепатиті, цирозі печінки (різке зниження сечовиноутворюючої функції печінки), під час вагітності. Вміст сечовини може підвищуватися при нефритах, гарячкових станах, сепсисі, туберкульозі нирок та ін.

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Після обробки сечі немовляти розчином $FeCl_3$ з'являється зелене забарвлення. Укажіть, порушенню обміну якої амінокислоти це відповідає:

- A. Гістидину
- B. Цистеїну
- C. Фенілаланіну
- D. Глутаміну
- E. Лізину

2. Укажіть фермент, спадковий дефект якого є причиною фенілкетонурії:

- A. Тирозиназа
- B. Аспартатамінотрансфераза
- C. Фенілаланінгідроксилаза
- D. Гексокіназа
- E. Піруватдекарбоксілаза

3. Укажіть регуляторний фермент орнітинового циклу утворення сечовини:

- A. Орнітиндекарбоксілаза
- B. Цитрулінсинтетаза
- C. Карбамоїлфосфатсинтетаза
- D. Аргіназа
- E. Аргінінсукцинатліаза

4. Укажіть, в якій тканині переважно локалізований процес утворення сечовини:

- A. Нирок
- B. Кишечника
- C. Печінки
- D. М'язів
- E. Підшлункової залози

5. Укажіть клітинну локалізацію процесу утворення сечовини:

- A. Апарат Гольджі
- B. Мітохондрії
- C. Лізосоми
- D. Цитозоль
- E. Ядро

6. Укажіть, за рахунок якого процесу відбувається знешкодження аміаку в тканині нирок:

- A. Синтезу амонійних солей
- B. Відновного амінування
- C. Непрямого дезамінування
- D. Синтезу сечовини
- E. Синтезу біогенних амінів

7. Укажіть процес, за рахунок якого переважно відбувається знешкодження аміаку в нервовій тканині:

- A. Трансамінування
- B. Синтезу сечовини
- C. Утворення амідів дикарбонових амінокислот
- D. Синтезу амонійних солей
- E. Синтезу біогенних амінів

8. У сечі пацієнта визначена фенілпіровиноградна кислота. Укажіть, наслідком порушення якого обміну це є:

- A. Фосфорно-кальцієвого
- B. Ліпідного
- C. Обміну амінокислот
- D. Вуглеводного
- E. Водно-сольового

9. З приведенного списку виберіть транспортну форму аміаку крові:

- A. Аланін
- B. Ізолейцин
- C. Амонійна сіль
- D. Глутамін
- E. Сечовина

10. Альбіноси не переносять вплив сонця, у них швидко з'являються опіки. Укажіть порушення метаболізму, яке лежить в основі цього явища:

- A. Руйнування меланіну
- B. Порушення транспорту холестерину
- C. Відсутність тирозинази
- D. Порушення гідроксилювання холестерину

Е. Руйнування вітаміну D₃

11. У дитини 3 років після перенесеної важкої вірусної інфекції спостерігаються повторна блювота, втрата свідомості, судоми. При дослідженні виявлено гіперамоніємію. З чим пов'язані зміни біохімічних показників крові дитини?

- А. Активація процесів декарбокซิлювання амінокислот
- В. Порухення знешкодження біогенних амінів
- С. Пригнічення активності ферментів трансамінування
- Д. Порухення знешкодження аміаку в орнітиновому циклі
- Е. Посилення гниття білків в кишечнику

12. У хлопчика 4 років після перенесеного важкого вірусного гепатиту – блювота, втрата свідомості, судоми. В крові – гіперамоніємія. Порухення якого біохімічного процесу викликало паталогічний стан хворого?

- А. Порухення знешкодження аміаку в печінці
- В. Порухення знешкодження біогенних амінів
- С. Пригнічення ферментів трансамінування
- Д. Посилення гниття білків в кишечнику
- Е. Активація декарбокซิлювання амінокислот

13. У новонародженої дитини спостерігається зниження інтенсивності смоктання, часта блювота, гіпотонія. В сечі та крові значно підвищена концентрація цитруліну. Порухення якого метаболічного процесу має місце?

- А. ЦТК
- В. Глюконеогенез
- С. Цикл Корі
- Д. Гліколіз
- Е. Орнітиновий цикл

14. Основна маса азоту з організму виводиться у вигляді сечовини. Зниження активності якого фермента в печінці приводить до гальмування синтезу сечовини та накопиченню амоніаку у крові та тканинах?

- А. Аспаратамінотрансфераза
- В. Амілаза
- С. Уреаза
- Д. Пепсин
- Е. Карбамоілфосфатсинтаза

15. В лікарню доставлена дворічна дитина зі сповільненим розумовим та фізичним розвитком, яка страждає від частої блювоти після вживання їжі. В сечі знайдена фенілпіривиноградна кислота. Наслідком порухення якого обміну є ця паталогія?

- А. Ліпідного обміну
- В. Обміну амінокислот
- С. Вуглеводного обміну
- Д. Водно-сольового обміну
- Е. Фосфорно-кальцієвого обміну

16. У хворого з діагнозом «злоякісний карциноїд» різко підвищений вміст серотоніну в крові. З якої амінокислоти може утворитися цей біогенний амін?

- A. Треоніну
- B. Метіоніну
- C. Аланіну
- D. Триптофану
- E. Лейцину

17. Метильна група (-CH₃) використовується в організмі для синтезу таких важливих сполук як креатин, холін, адреналін тощо. Яка з незамінних амінокислот є джерелом цієї групи?

- A. Валін
- B. Лейцин
- C. Триптофан
- D. Ізолейцин
- E. Метіонін

18. До лікаря звернувся хворий зі скаргами на опіки шкіри та порушення зору як результат дії сонячної радіації. Попередній діагноз: альбінізм. Порушення обміну якої амінокислоти спостерігається у цього хворого?

- A. Пролін
- B. Триптофан
- C. Аланін
- D. Тирозин
- E. Лізин

19. Педіатр при огляді дитини відмітив відставання у фізичному та розумовому розвитку. В сечі різко підвищений вміст кетокислоти, яка дає якісну кольорову реакцію з хлорним залізом. Яке порушення обміну речовин було знайдено?

- A. Цистинурія
- B. Тирозинемія
- C. Фенілкетонурія
- D. Алкаптонурія
- E. Альбінізм

20. Хлопчик 13 років скаржиться на загальну слабкість, запаморочення, стомлюваність. Відмічено відставання в розумовому розвитку. При обстеженні виявлена висока концентрація валіну, ізолейцину, лейцину в крові та сечі. Сеча зі специфічним запахом. Який найбільш вірогідний діагноз?

- A. Хвороба "кленового сиропу"
- B. Гістидинемія
- C. Тирозиноз
- D. Базедова хвороба
- E. Хвороба Адісона

21. У грудної дитини спостерігається забарвлення склер, слизових оболонок. Виділяється сеча, яка темніє на повітрі. В крові та сечі виявлена гомогентизинова кислота. Що є причиною цього стану?

- A. Цистинурія
- B. Гістидинемія
- C. Алкаптонурія
- D. Галактоземія
- E. Альбінізм

22. Немовля відмовляється від годування груддю, збуджене, дихання неритмічне, сеча має запах «пивної закваски» або «кленового сиропу». Уроджений дефект якого ферменту визвав дану патологію?

- A. Дегідрогеназа розгалужених альфа-кетокислот
- B. Аспаратамінотрансфераза
- C. УДФ-глюкуронілтрансфераза
- D. Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа
- E. Гліцеролкіназа

7. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 13

1. ТЕМА: Роль ферментів плазми крові (АЛТ, АСТ, КФК, ЛДГ, фосфатаз) та методи визначення їх активності

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Сучасна ензимодіагностика розвивається в двох головних напрямках. Один з них – це використання ферментів як реагентів для кількісного визначення нормальних чи аномальних хімічних речовин в сироватці крові, сечі, шлунковому соку і т.п. Інший шлях – це кількісне визначення самих ферментів в біологічних рідинах. Ферментні тести вигідно відрізняються від інших хімічних діагностичних тестів, які використовуються в клініці, високою чутливістю і специфічністю. Відомо близько 20 тестів, заснованих на кількісному визначенні активності ферментів і ізоферментів. Тканини людини характеризуються специфічним ферментним і ізоферментним спектром. Існує градієнт концентрації ферментів між внутрішньоклітинними і позаклітинними частинами тіла. Тому будь-які, навіть незначні, пошкодження клітин (іноді функціональні розлади) призводять до виділення ферментів в позаклітинний простір, звідки вони надходять в кров. Підвищення рівня внутрішньоклітинних ферментів у плазмі крові прямо залежить від природи шкідливого впливу, часу дії та ступеня пошкодження біомембран клітин і субклітинних структур органів. Дуже істотним є знання особливостей розподілу ферментів в органах і тканинах, а також їх внутрішньоклітинної локалізації.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичний матеріал з ензимодіагностики та навчитись практично визначати активність ферментів в сироватці крові.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Класифікація ферментів плазми крові, їх використання при діагностиці захворювань.
2. Поняття про ізоферменти та їх діагностичне значення.
3. Визначення активності трансаміназ (АЛТ, АСТ) у сироватці крові. Уніфікований метод Райтмана-Френкеля. Кінетичні методи визначення активності амінотрансфераз.
4. Клініко-діагностичне значення та методи визначення активності γ -глутамілтрансферази в сироватці крові.
5. Визначення активності лактатдегідрогенази в сироватці крові колориметричним і кінетичним методами. Ізоферментний спектр ЛДГ.
6. Визначення активності креатинкінази у сироватці крові. Клініко-діагностичне значення ізоферментів КФК.
7. Визначення активності α -амілази в сироватці крові та сечі.
8. Визначення активності лужної та кислої фосфатаз в сироватці крові.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 13

Дата:

1. Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ) у сироватці крові.

Принцип методу:

В результаті переамінування аланіну й альфа-кетоглутарату, що відбувається під дією АЛТ, утворюються глутамінова й пірвіноградна кислоти. При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється забарвлений розчин гідразону пірвіноградної кислоти, інтенсивність забарвлення якого пропорційна активності фермента. Оптичну щільність розчину визначають фотоколориметрично.

Хід роботи:

Готують реакційні суміші у відповідності зі схемою:

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба	Контрольна проба
Субстратно-буферний розчин	0,5	0,5
Інкубація 3 хвилини при 37 ⁰ С		
Стоп реагент	-	0,5
Сироватка крові	0,1	0,1
Інкубація 30 хвилин при 37 ⁰ С		
Стоп реагент	0,5	-
Інкубація 20 хвилин при кімнатній температурі		
0,4 N NaOH	5	5
Інкубація 10 хвилин при кімнатній температурі		

Вимірюють оптичну щільність дослідної проби проти контрольної при 490-540 нм (світло-зелений світлофільтр) у кюветах 10 мм. Розрахунок активності фермента проводять за калібрувальним графіком.

У сироватці крові здорових людей активність АЛТ складає 5-30 од/мл (0,1-0.7 мкм/мл) за 60 хвилин.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Визначення активності АСТ (аспартатдегідрогеназа) і АЛТ широко використовується для діагностики захворювань серця й печінки. При хворобі Боткіна (ще в переджовтняничний період) значно зростає активність АЛТ. Зміни активності, як правило, відображають ступінь поразки печінкової паренхіми. Збільшується активність АЛТ при загостренні хронічного гепатиту, при токсичній поразці паренхіми печінки.

Підвищення активності АЛТ має місце також при гострому інфаркті міокарда. Однак це підвищення не настільки різке в порівнянні зі змінами активності АСТ. При інфаркті міокарда активність АСТ підвищується вже через 4-6 годин після виникнення гострого больового приступу та тримається високою протягом 3-7 днів. Тому одночасне визначення активності двох сироваткових амінотрансфераз є цінним діагностичним тестом.

У нормі співвідношення активностей АСТ/АЛТ (коефіцієнт де Рітіса) дорівнює $1,33 \pm 0,42$.

У хворих інфекційним гепатитом відбувається зниження коефіцієнта, а при гострому інфаркті міокарда величина цього коефіцієнта, навпаки, різко зростає.

2. Кількісне визначення активності аспартатамінотрансферази (Асат) в сироватці крові.

Принцип методу:

У результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яка відбувається під дією ферменту аспартатамінотрансферази (АсАТ), утворюються L-глутамінова та щавелевооцтова кислоти (остання

спонтанно декарбоксілюється з утворенням пірвіноградної кислоти). При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утвориться забарвлений розчин гідразону пірвіноградної кислоти, інтенсивність забарвлення якого пропорційна активності ферменту.

Хід роботи:

Готують реакційні суміші у відповідності зі схемою:

Відміряти в пробірці,мл	Дослідна проба	Контрольна проба
Субстратно-буферний розчин	0,5	0,5
Інкубація 3 хвилини при 37 °С		
Стоп реагент	-	0,5
Сировотка крові	0,1	0,1
Інкубація 10 хвилин при 37 °С		
Стоп реагент	0,5	-
Інкубація 20 хвилин при кімнатній температурі		
0,4н NaOH	5	5
Інкубація 10 хвилин при кімнатній температурі		

Вимірюють оптичну щільність дослідної проби проти вільної при 490-540 нм (світло-зелений світлофільтр) у кюветах 10 мм. Розрахунок активності ферменту проводять за графіком.

У сироватці крові здорових людей активність АсАТ дорівнює 0.1-0.45 мкм/година·мл.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Оптична щільність	Абсолютне значення, ммоль/л

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Органічні порушення при гострих і хронічних ураженнях супроводжуються руйнуванням клітин і призводять до виходу трансаміназ із місця ураження в кров. Так, при інфаркті міокарду рівень АсАТ сироватки крові вже через 3-5 годин після інфаркту різко збільшується (в 20-30 разів).

Зростання активності чітко спостерігається через 24-36 годин і лише на 3-7 день активність ферменту знижується до норми.

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

Укажіть, яка патологія найбільш імовірна при збільшенні в сироватці крові активності аспартатамінотрансферази:

- A. Вірусний гепатит
- B. Ниркова недостатність
- C. Нецукровий діабет
- D. Цукровий діабет
- E. Інфаркт міокарду

2. Укажіть вид дезамінування, який найбільш активно протікає в тканинах організму людини:

- A. Гідролітичне
- B. Внутрішньомолекулярне
- C. Змішане (гідролітичне і внутрішньомолекулярне)
- D. Відновне
- E. Окисне

3. Укажіть фермент, який здійснює дезамінування глутамату:

- A. Глутаматдегідрогеназа
- B. γ -Глутамілтрансфераза
- C. Глутаматдекарбоксилаза
- D. Глутаміназа
- E. Цистатіонін- γ -ліаза

4. Укажіть клас ферментів, до якого відноситься глутаматдегідрогеназа:

- A. Трансферази
- B. Ізомерази
- C. Ліази
- D. Оксидоредуктази
- E. Лігази

5. Укажіть продукти реакції декарбоксилювання амінокислот:

- A. Ацетон + CO_2
- B. Гліцерин + CO_2
- C. Глюкоза + CO_2
- D. Кетокислоти + CO_2
- E. Біогенні аміни + CO_2

6. Укажіть біологічну роль біогенного аміну, що утворюється за рахунок декарбоксилювання глутамату:

- A. Кофермент складних ферментів
- B. Активатор протеосинтезу
- C. Медіатор гальмування ЦНС

D. Інгібітор ліполізу

E. Інгібітор глюконеогенезу

7. Укажіть біологічну роль гістаміну – продукту декарбоксілювання гістидину:

A. Активатор секреції шлункового соку

B. Інгібітор секреції шлункового соку

C. Активатор секреції бікарбонатів підшлунковою залозою

D. Інгібітор секреції бікарбонатів підшлунковою залозою

E. Має бактерицидну активність

8. Укажіть біологічну роль серотоніну – продукту декарбоксілювання 5-окситриптофану:

A. Інгібітор ферментів протеосинтезу

B. Активатор ферментів глюконеогенезу

C. Активатор ферментів гліколізу

D. Активатор ферментів ліполізу

E. Регулятор артеріального тиску і температури тіла

9. При декарбоксілюванні глутамата в ЦНС утворюється медіатор. Назвіть його:

A. Аспарагін

B. Серотонін

C. Гістамін

D. Глутатіон

E. ГАМК

10. Укажіть головний фермент тканин організму людини, який бере участь у дезамінуванні амінокислот:

A. Аспартатдегідрогеназа

B. Аланіндегідрогеназа

C. Алкогольдегідрогеназа

D. Каталаза

E. Глутаматдегідрогеназа

7. ЛІТЕРАТУРА (див. стор. 89)

Змістовий модуль 4

Біохімія гормонів

ЗАНЯТТЯ № 14

1. ТЕМА: Класифікація й властивості гормонів. Механізми дії гормонів білково-пептидної природи та біогенних амінів (семінар).

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Гормони – біологічно активні речовини, які виділяються в кров ендокринними залозами і гуморальним шляхом (через кров, лімфу, слину, спинномозкову рідину), регулюють усі види обміну речовин і фізіологічні процеси. Гормони є універсальними регуляторами життєдіяльності організму. Вони відіграють важливу роль у підтриманні гомеостазу, впливають на функціональні процеси життя (ріст, метаболізм, розвиток, імунний захист, розмноження, поведінку і адаптацію організму до умов існування).

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Вивчити теоретичний матеріал з класифікації, біохімічних властивостей та механізму дії гормонів білково-пептидної природи та біогенних амінів. Вміти проводити якісне визначення інсуліну.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальні уявлення про гормони і їхні властивості. Класифікація гормонів за хімічною будовою та механізмом дії.
2. Поняття про органи- та клітини-мішені гормонів. Типи рецепторів: особливості структури й локалізації в клітині.
3. Мембранно-внутрішньоклітинний механізм дії пептидних гормонів та біогенних амінів. Функція компонентів системи передачі гормонального сигналу в клітину: G-білків, аденілатциклази, фосфодіестерази, фосфоліпази C, вторинних посередників, протеїнкіназ. Механізми дії адреналіну.
4. Молекулярні механізми дії інсуліну. Рецепторні тирозин-кінази.

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть амінокислоту, з якої синтезуються катехоламіни:

- A. Лізин
- B. Тирозин
- C. Треонін
- D. Триптофан
- E. Глутамінова кислота

2. Укажіть гормон, що належить до класу стероїдних гормонів:

- A. Адреналін
- B. Інсулін
- C. Меланотонін
- D. Анренокортикотропін

Е. Кортизол

3. Яка з вказаних сполук не являється вторинним месенджером:

А. цАМФ

В. цГМФ

С. Аденілатциклаза

Д. Інозитолтрифосфат

Е. Діацилгліцерол

4. Укажіть клас складних білків, що виконують в організмі функцію рецепторів:

А. Ліпопротеїни

В. Фосфопротеїни

С. Нуклеопропротеїни

Д. Глікопротеїни

Е. Хромопротеїни

5. Укажіть іон металу, що виконує у клітині функцію вторинного месенджера:

А. Fe^{3+}

В. Ca^{2+}

С. Na^{+}

Д. Mg^{2+}

Е. Mn^{2+}

6. Укажіть індекс G-білку, що активує аденілатциклазу:

А. I

В. A

С. K

Д. S

Е. Q

7. Укажіть вторинний месенджер, який утворюється в результаті дії фосфоліпази С:

А. цАМФ

В. цГМФ

С. Холін

Д. Діацилгліцерол

Е. Na^{+}

8. За своєю молекулярною організацією рецептори інсуліну є:

А. Гетеродимерами

В. Гетеротетрамерами

С. Гомодимерами

Д. Гомотетрамерами

Е. Гексамерами

9. Одним із ферментів, що фосфорилується рецепторними тирозинкіназами, є:

А. Гексокіназа

В. Фосфоліпаза С

С. Протеїнкіназа А

D. Протеїнкіназа С

E. Фосфоліпаза Д

10. Укажіть фермент, який розщеплює вторинний месенджер цАМФ до неактивного АМФ:

A. Аденілатциклаза

B. Аденілаткіназа

C. Гуанілатциклаза

D. Фосфодіестераза

E. Протеїнкіназа А

6. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 89)

ЗАНЯТТЯ №15

1. ТЕМА: Лабораторна діагностика та роль білково-пептидних гормонів та біогенних амінів

2. АКТУАЛЬНІСТЬ:

Широкий спектр біологічної активності гормонів обумовлений характерними особливостями їхньої будови. Група азотовмісних гормонів включає в себе гормони білкової природи, а саме білки, пептиди, амінокислоти та їх похідні. Вони синтезуються різними ендокринними залозами та чинять різноманітні біологічні ефекти, регулюючи життєдіяльність організму в цілому.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Сформуувати знання про значення та механізм дії білково-пептидних гормонів та біогенних амінів в організмі людини

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

4.1 ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Пептидні гормони
2. Гормони – похідні амінокислот
3. Гіпоталамо-гіпофізарна система та регуляція її функціонування
4. Порухення синтезу гормонів у аденогіпофізі
5. Чинники, що впливають на лабораторну оцінку вмісту гормонів аденогіпофіза
6. Порухення синтезу гормонів у задній долі гіпофізу

4.2 ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 15

Дата

1. Визначення інсуліну імуноферментним методом

Принцип методу: в наборі використовується «сендвіч»-варіант твердофазного імуноферментного аналізу.

Лінійність методу: 0,0–100,0 мкОд/мл

Нормальні значення: 2,0–25,0 мкОд/мл

Концентрація інсуліну стабільна протягом 2 діб при температурі +2 - +8° С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реанти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Автоматичні піпетки на 0,025, 0,05 і 1 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Дистильована вода
- 5) Калібрувальні проби
- 6) Концентрат буферу для промивання
- 7) Ензимний кон'югат
- 8) Ензимний комплекс
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-регент)

Проведення аналізу

1. Всі реанти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,025 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,025 мл ензимного кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 30 хвилин при кімнатній температурі
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,05 мл ензимного комплексу
8. Інкубувати стрипи при кімнатній температурі 30 хв
9. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
10. Внести у всі лунки по 0,05 мл розчину ТМБ
11. Витримати 20 хв у темному місці для розвитку забарвлення
12. Додати у всі лунки по 0,05 мл розчину сірчаної кислоти (стоп-регент)
13. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту інсуліну у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

1. Визначення тиреотропного гормону імуноферментним методом

Принцип методу: в наборі використовується «сендвіч»-варіант твердофазного імуноферментного аналізу. Для реалізації цього варіанту використані 2 моноклональних антитіла з різною специфічністю до тиреотропного гормону (ТТГ). Один з видів антитіл імобілізований на твердій фазі (внутрішній поверхні лунок), другий вид – зв'язаний з пероксидазою хрину. В лунках, при додаванні досліджуваного зразка та кон'югату анти-ТТГ-пероксидаза, під час інкубації одночасно відбувається імобілізація ТТГ, що знаходиться у досліджуваному зразку, та зв'язування його з кон'югатом. При видаленні вмісту з лунок та промиванні відбувається видалення надлишку кон'югату, який не зв'язався з ТТГ під час інкубації. Кількість зв'язаного кон'югату прямопропорційна кількості ТТГ у досліджуваному зразку.

Лінійність методу: 0,25–15,0 мкМОд/мл

Нормальні значення: 0,23–3,4 мкМОд/мл

Концентрація тиреотропного гормону стабільна протягом 2 діб при температурі $+2 - +8^{\circ}\text{C}$, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат з можливістю підтримування температури $+37^{\circ}\text{C}$
- 3) Автоматичні піпетки на 0,05, 0,1 і 1 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Калібрувальні проби
- 7) Кон'югат анти-ТТГ-пероксидаза
- 8) Концентрат буферу для промивання
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,05 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,1 мл кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 1 години при струшуванні та температурі $+37^{\circ}\text{C}$
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
8. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)

10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту тиреотропного гормону у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

2. Визначення пролактину імуноферментним методом

Принцип методу: в наборі використовується «сендвіч»-варіант твердофазного імуноферментного аналізу. Для реалізації цього варіанту використані 2 моноклональних антитіла з різною специфічністю до пролактину. Один з видів антитіл іммобілізований на твердій фазі (внутрішній поверхні лунок), другий вид – зв'язаний з пероксидазою хрину. В лунках, при додаванні досліджуваного зразка та кон'югату анти-пролактин-пероксидаза, під час інкубації одночасно відбувається іммобілізація пролактину, що знаходиться у досліджуваному зразку, та зв'язування його з кон'югатом. При видаленні вмісту з лунок та промиванні відбувається видалення надлишку кон'югату, який не зв'язався з пролактином під час інкубації. Кількість зв'язаного кон'югату прямопропорційна кількості пролактину у досліджуваному зразку.

Лінійність методу: 0–100 000 мМОд/л

Нормальні значення: для чоловіків – 105–540 мМОд/л
для жінок – 67–726 мМОд/л

Концентрація пролактину стабільна протягом 2 діб при температурі +2 - +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат з можливістю підтримування температури +37⁰ С
- 3) Автоматичні піпетки на 0,05, 0,1 і 1 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Калібрувальні проби
- 7) Кон'югат анти-пролактин-пероксидаза
- 8) Концентрат буферу для промивання
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.

2. Внести по 0,02 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,15 мл кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 1 години при струшуванні та температурі +37⁰ С
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
8. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту пролактину у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які фізіологічні ефекти викликає тиреотропний гормон?

- A. Знижує продукцію тиреоїдних гормонів
- B. Стимулює синтез тиреоїдних гормонів
- C. Підвищує рівень глюкози
- D. Регулює обмін кальцію
- E. Посилює розпад білків

2. До гормонів гіпофізу глікопротеїдної природи відносяться:

- A. Адренкортикотропний гормон
- B. Пролактин
- C. Лютеїнізуючий гормон
- D. Тиреотропний гормон
- E. Всі відповіді правильні

3. Які гормони синтезуються нейрогіпофізом?

- A. Вазопресин
- B. Пролактин
- C. Соматотропний гормон
- D. Фолікулостимулюючий гормон
- E. Альдостерон

4. Ефекторною ендокринною залозою для гормону росту є:

- A. Щитовидна залоза
 - B. Гіпоталамус
 - C. Підшлункова залоза
 - D. Тимус
 - E. Статеві залози
- 5. При надлишку якого гормону розвивається синдром Іценко-Кушинга?**
- A. Соматотропний гормон
 - B. Фолікулостимулюючий гормон
 - C. Окситоцин
 - D. Норадреналін
 - E. Адренкортикотропний гормон
- 6. Дефіцит якого гормону викликає появу нецукрового діабету?**
- A. Інсуліну
 - B. Вазопресину
 - C. Гормону росту
 - D. Тиреотропного гормону
 - E. Альдостерону
- 7. Ацидофільні пухлини гіпофізу характеризуються підвищеним рівнем в крові:**
- A. Тиреотропного гормону
 - B. Адренкортикотропного гормону
 - C. Гормону росту
 - D. Меланоцитстимулюючого гормону
 - E. Всі відповіді правильні
- 8. Середня (проміжна) зона гіпофізу виділяє в кров:**
- A. Ліпотропін
 - B. Окситоцин
 - C. Соматотропін
 - D. Меланоцитстимулюючий гормон
 - E. Пролактин
- 9. У хворого спостерігається значне збільшення добового діурезу без глюкозурії. Який гормональний препарат можна рекомендувати для замісної терапії?**
- A. Альдостерон
 - B. Тиреоїдин
 - C. Вазопресин
 - D. Інсулін
 - E. Адреналін
- 10. Хворий віком 23 роки скаржиться на головний біль, зміну зовнішнього вигляду (збільшення розмірів ніг, рис обличчя), огрубіння голосу, погіршення пам'яті. Захворювання почалося приблизно 3 року тому без видимих причин. Об'єктивно: збільшення надбрівних дуг, носа, язика. Аналіз сечі без особливих змін. Причиною такого стану може бути:**
- A. Гіперпродукція соматотропіну

- В. Дефіцит альдостерону
- С. Гіперпродукція кортикостероїдів
- Д. Дефіцит глюкагону
- Е. Надлишок тироксину

6. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 16

1. 1. ТЕМА: Механізм дії й вплив на обмін речовин стероїдних і тиреоїдних гормонів. Ейкозаноїди. Медіатори й гормони імунної системи.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ: Для стероїдних та тиреоїдних гормонів характерний цитозольно-ядерний механізм дії. Представниками стероїдних гормонів є гормони кори наднирників, статевих залоз. До тиреоїдних гормонів відносять гормони щитовидної залози. Вивчення цих гормонів має важливе значення для розуміння процесів мінерального та основного обміну, статевого розвитку. Іони кальцію відіграють ключову роль в багатьох фізіологічних та біохімічних процесах, тому гормональна регуляція гомеостазу кальцію має велике біохімічне значення.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичний матеріал з механізму дії, особливостей синтезу, секреції, транспорту в крові та впливу на обмін речовин стероїдних та тиреоїдних гормонів. Вивчити теоретичний матеріал з гормональної регуляції гомеостазу кальцію. Вміти проводити кількісне визначення кальцію в сироватці крові.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальні положення про цитозольний механізм дії ліпофільних гормонів: стероїдних, тиреоїдних.
2. Гормони кори наднирникових залоз (глюкокортикоїди, мінералокортикоїди): структура, контроль секреції, особливості транспорту в крові.
3. Гормони статевих залоз – андрогени, естрогени, прогестерон: структура, особливості транспорту в крові, регуляція секреції.
4. Тиреоїдні гормони (трийодтиронін, тироксин): особливості синтезу й секреції, транспорту в крові.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №16

Дата

1. Визначення тестостерону імуноферментним методом

Принцип методу: конкурентний імуноферментний аналіз. Тестостерон досліджуваного зразку конкурує з тестостероном, кон'югованим з пероксидазою, за місця зв'язування з антитілами проти тестостерону на дні

лунок планшету. Кількість зв'язаного кон'югата пероксидази з антитілами обернено пропорційна концентрації тестостерону в сироватці крові.

Чутливість методу: 0,2 нмоль/л

Нормальні значення: чоловіки: 12,1–38,3 нмоль/л

жінки: 0,1–4,3 нмоль/л

Концентрація тестостерону стабільна протягом 7 діб при температурі +2 - +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Автоматичні піпетки на 0,025, 0,05 і 1 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Дистильована вода
- 5) Калібрувальні проби
- 6) Концентрат буферу для промивання
- 7) Ензимний кон'югат
- 8) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 9) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,05 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,15 мл ензимного кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 90 хвилин при кімнатній температурі
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
8. Витримати 20 хв у темному місці для розвитку забарвлення
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину сірчаної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту тестостерону у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

2. Визначення вмісту прогестерону в сироватці крові імуноферментним методом

Принцип методу: конкурентний імуноферментний аналіз. Прогестерон досліджуваного зразку конкурує з прогестероном, кон'югованим з пероксидазою, за місця зв'язування з антитілами проти прогестерону на дні

лунок планшету. Кількість зв'язаного кон'югата пероксидази з антитілами обернено пропорційна концентрації прогестерону в сироватці крові.

Чутливість методу: 0,5 нмоль/л

Нормальні значення: чоловіки: 0,5–5,2 нмоль/л

жінки: фолікулінова фаза – 0,5–6,0 нмоль/л

лютеїнова фаза – 10–89 нмоль/л

Концентрація прогестерону стабільна протягом 2 діб при температурі +2 - +8⁰ С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат з можливістю підтримування температури +37⁰ С
- 3) Автоматичні піпетки на 0,02; 0,1; 0,15 і 1 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Калібрувальні проби
- 7) Розчин кон'югату
- 8) Концентрат буферу для промивання
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,02 мл калібрувальних та ослідуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,15 мл розчину кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 60 хвилин при струшуванні та температурі +37⁰ С
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
8. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту прогестерону у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть метаболіт, що є попередником стероїдних гормонів:

- A. Триптофан
- B. Фенілаланін
- C. Холестерин
- D. Левулінова кислота
- E. Тирозин

2. Укажіть білок колоїду щитовидної залози, який приймає участь у біосинтезі тиреоїдних гормонів:

- A. Тиреоальбумін
- B. Тиреокальцитонін
- C. Йодтиреоглобулін
- D. Тиреоліберин
- E. Тиреостатин

3. Укажіть локалізацію в клітині рецепторів тиреоїдних гормонів:

- A. Ядро
- B. Ендоплазматичний ретикулум
- C. Плазматична мембрана
- D. Апарат Гольджі
- E. Лізосоми

4. Укажіть найактивніший з йодтиронінів:

- A. Дійодтиронін
- B. Трийодтиронін
- C. Тетрайодтиронін
- D. Йодтиреоглобулін
- E. Монойодтирозін

5. Укажіть кінцевий продукт обміну кортикостероїдів, визначення якого в сечі має діагностичне значення:

- A. 11-Дезоксикортизол
- B. 18-Оксипрегнанелон
- C. 17-Кетостероїди
- D. 17-Оксипрегненолон
- E. 21-Дезоксикортизол

6. Укажіть найактивніший мінералокортикоїд організму:

- A. Альдостерон
- B. Дезоксикортикостерон
- C. Гідрокортизон
- D. Тестостерон
- E. Естріол

7. Укажіть причину виникнення мікседеми:

- A. Гіпертиреоз

- В. Гіпотиреоз
 - С. Гіпокальціємія
 - Д. Гіперальдостеронемія
 - Е. Гіперплазія наднирників
- 8. Укажіть назву патології, що викликана аномальним збільшенням концентрації кортизолу в організмі:**
- А. Хвороба Вільсона
 - В. Хвороба Аддісона
 - С. Хвороба Паркінсона
 - Д. Хвороба Іценко-Кушинга
 - Е. Хвороба Боткіна
- 9. Укажіть гормон, який може знижувати рівень кальцію та неорганічних фосфатів у плазмі крові:**
- А. Тироксин
 - В. Інсулін
 - С. Кортизол
 - Д. Кальцитонін
 - Е. Прогестерон
- 10. Укажіть гормон білкової природи, недостатність якого в організмі викликає тетанічні судоми на тлі різкого зниження концентрації кальцію:**
- А. Інсулін
 - В. Тироксин
 - С. Паратгормон
 - Д. Вазопресин
 - Е. Адреналін
- 6. ЛІТЕРАТУРА** (див. на стор. 89)

ЗАНЯТТЯ № 17

1. ТЕМА: Підсумкове заняття зі змістовних модулів 3, 4.

2. МЕТА:

Перевірити засвоєння тем занять з питань теоретичної частини і завдання, які пов'язані з темами лабораторних робіт

3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

2. Загальні уявлення про гормони і їхні властивості. Класифікація гормонів за хімічною будовою та механізмом дії.

3. Поняття про органи- та клітини-мішені гормонів. Типи рецепторів: особливості структури й локалізації в клітині.

4. Мембранно-внутрішньоклітинний механізм дії пептидних гормонів та біогенних амінів. Функція компонентів системи передачі гормонального

- сигналу в клітину: G-білків, аденілатциклази, фосфодіестерази, фосфоліпази C, вторинних посередників, протеїнкіназ. Механізми дії адреналіну.
5. Молекулярні механізми дії інсуліну. Рецепторні тирозин-кінази.
 6. Пептидні гормони
 7. Гормони – похідні амінокислот
 8. Гіпоталамо-гіпофізарна система та регуляція її функціонування
 9. Порушення синтезу гормонів у аденогіпофізі
 10. Чинники, що впливають на лабораторну оцінку вмісту гормонів аденогіпофіза
 11. Порушення синтезу гормонів у задній долі гіпофізу
 12. Загальні положення про цитозольний механізм дії ліпофільних гормонів: стероїдних, тиреоїдних.
 13. Гормони кори наднирникових залоз (глюкокортикоїди, мінералокортикоїди): структура, контроль секреції, особливості транспорту в крові.
 14. Гормони статевих залоз – андрогени, естрогени, прогестерон: структура, особливості транспорту в крові, регуляція секреції.
 15. Тиреоїдні гормони (трийодтиронін, тироксин): особливості синтезу й секреції, транспорту в крові.
 16. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію. Кальцитонін та паратгормон: особливості структури, синтез, регуляція секреції, вплив на тканини-мішені.
 17. Гормоноподібна дія кальцитріолів (похідних вітаміну D₃).
 18. Особливості обміну кальцію та фосфатів при порушеннях секреції та зміні концентрації у крові кальцитоніну, паратгормону та кальцитріолів
 19. Жіночі статеві гормони, регуляція синтезу та біологічна роль
 20. Чоловічі статеві гормони, регуляція синтезу, біологічна роль
 21. Регуляція функціонування статевих залоз системою гіпоталамус – гіпофіз – гонади
 22. Порушення функцій статевих залоз
 23. Лабораторні методи, які використовуються для дослідження статевих гормонів
 24. Гормони щитоподібної залози та їхня фізіологічна дія
 25. Синтез та секреція гормонів щитоподібної залози
 26. Регуляція функції щитоподібної залози
 27. Гіпертиреоз: клінічна картина, види, лабораторна діагностика
 28. Гіпотиреоз: клінічна картина, види, лабораторна діагностика
 29. Гормони прищитоподібних залоз та їх фізіологічна роль
 30. Порушення функцій прищитоподібних залоз
 31. Принцип прямого та зворотного зв'язку; довгі та короткі зворотні зв'язки в регуляції секреції гормонів.
 32. Гормони гіпоталамусу (ліберини, статини): особливості структури, секреції та впливу на гіпофіз.
 33. Гормони передньої та середньої часток гіпофізу: хімічна природа, регуляція секреції, вплив на обмін речовин і порушення секреції.

Посттрансляційний процесинг проопіомеланокортину: продукти та їх біохімічні ефекти.

34.Вазопресин та окситоцин: хімічна природа, локалізація синтезу та секреції, механізм дії, ефекти. Нецукровий діабет.

35.Гормони підшлункової залози (інсулін і глюкагон): хімічна природа, особливості біосинтезу, регуляція секреції та вплив на обмін речовин. Ростостимулюючі ефекти інсуліну

36.Ейкозаноїди (простагландини, тромбоксани, простацикліни, лейкотрієни): шляхи та локалізація синтезу, біохімічні ефекти. Використання лікарських препаратів у регуляції обміну ейкозаноїдів (аспірин та інші не стероїдні протизапальні засоби)

37.Медіатори й гормони імунної системи (цитокіни, інтерферони): хімічна природа, локалізація синтезу, біохімічні ефекти.

ЗАНЯТТЯ № 18

1. ТЕМА: Підсумкове заняття з модулю 2

2. МЕТА:

Перевірити засвоєння тем занять модулю 2 з питань теоретичної частини і завдання, які пов'язані з темами лабораторних робіт

3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

1. Будова і класифікація вуглеводів.
2. Метаболізм фруктози і галактози в організмі людини та його порушення.
3. Біохімічні показники обміну вуглеводів в нормі та при патології
4. Шляхи регуляції обміну вуглеводів
5. Глюкоза. Гіпер- та гіпоглікемія, глюкозурія
6. Методи визначення глюкози у сироватці крові та сечі
7. Цукровий діабет I і II типів, їх патогенез
8. Схеми проведення навантажень глюкозою (однократна, двократна)
9. Патофізіологічні механізми, що обумовлюють динаміку змін концентрації глюкози після глюкозотолерантного тесту
- 10.Глікемічні коефіцієнти Бодуена та Рафальського
- 11.Клініко-діагностичне значення проведення глюкозотолерантного тесту
- 12.Будова і біологічна роль полісахаридів (глікогену, глікозаміногліканів).
- 13.Біосинтез глікогену (глікогенез): хімізм, ключові ферменти процесу, фізіологічне значення.
- 14.Фосфоролітичний шлях розпаду глікогену в печінці і м'язах (глікогеноліз).
- 15.Роль адреналіну, глюкагону і інсуліну в регуляції метаболізму глікогену в м'язах і печінці. Механізми ц-АМФ-залежної регуляції активностей глікогенфосфорилази і глікогенсинтетази.

16. Механізми реципрокної регуляції глікогенолізу і глікогенезу.
17. Генетичні порушення дії ферментів метаболізму глікогену (глікогенози, аглікогенози).
18. Загальні уявлення про метаболізм глікозаміногліканів.
19. Мукополісахаридози: генетичні порушення метаболізму глікоза-міногліканів.
20. Будова, класифікація та біологічні функції ліпідів.
21. Біосинтез холестеролу: локалізація, початкові субстрати, схема реакцій, регуляція процесу.
22. Шляхи біотрансформації холестеролу, локалізація в організмі: етерифікація; утворення жовчних кислот, стероїдних гормонів, активних форм вітаміну D₃
23. Поняття про загальний холестерин плазми крові. Екзогенний та ендогенний холестерин, їх співвідношення у крові здорової людини.
24. Загальне уявлення про синтез холестерину та його регуляцію в організмі людини.
25. Зміни вмісту холестерину в організмі в залежності від віку, статі, дієти, місця проживання, сезону року.
26. Особливості впливу лікарських препаратів на вміст холестерину в крові пацієнтів.
27. Загальні вимоги до проведення досліджень крові на вміст ліпідів.
28. Методи визначення загального холестерину крові
29. β-окислення вищих жирних кислот (ВЖК) насиченого і ненасиченого ряду. Роль карнітину в транспорті жирних кислот з цитоплазми в мітохондрії.
30. Енергетична цінність β-окислення ВЖК в клітинах (для стеаринової і олеїнової кислот).
31. Біосинтез вищих жирних кислот. Особливості складу і функції ацетил-КоА-карбоксілази, пальмітатсинтазного комплексу. Регуляція процесу.
32. Біосинтез мононенасичених вищих жирних кислот в організмі людини.
33. Кетоніві тіла. Реакції біосинтезу і утилізації кетонівих тіл: локалізація в організмі, біологічне значення. Кетонемія і кетонурія при цукровому діабеті, голодуванні.
34. Катаболізм триацилгліцеролів в адипоцитах жирової тканини (ліполіз), послідовність реакцій. Нейрогуморальна регуляція ліполізу адреналіном, норадреналіном, глюкагоном і інсуліном. Окислення гліцеролу (ферментативні реакції, енергоєфект процесу).
35. Хімізм і біологічна роль синтезу триацилгліцеролів в ентероцитах кишечника, печінки, в жировій тканині.
36. Ліполіз гліцерофосфоліпідів в клітині: локалізація і особливості дії фосфоліпаз A₁, A₂, C і D.
37. Біосинтез гліцерофосфоліпідів на прикладі фосфатиділхоліна (ФХ). Роль активної форми метіоніну в синтезі ФХ.
38. Порушення обміну тригліцеридів при патологіях – цукровий діабет, ожиріння, атеросклероз

- 39.Лабораторні методи визначення рівня тригліцеридів у сироватці крові
- 40.Класифікація ліпопротеїдів плазми крові за методом розділення (центрифугування, електрофорез)
- 41.Порівняльна оцінка вмісту холестерину та його ефірів у різних класах ліпопротеїдів
- 42.Ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ) – локалізація, утворення фракції в організмі. Механізм перетворення насцентних ЛПВЩ у ремнантну форму, функція у крові. Антиатерогенні властивості ЛПВЩ.
- 43.Гіпер- і гіпо- α -ліпопротеїдемії. Зміни вмісту холестерину та ЛПВЩ у крові пацієнтів при атеросклеротичному ураженні судин
- 44.Ліпопротеїни низької та дуже низької щільності (ЛПНЩ, ЛПДНЩ): локалізація утворення фракцій в організмі, механізм перетворення насцентної форми в ремнантну, функція в крові. Атерогенні властивості ЛПНЩ
- 45.Ліпопротеїни плазми крові в діагностиці порушень обміну ліпідів
- 46.Первинні та вторинні гіперліпопротеїнемії. Зміна вмісту холестерину та ЛПНЩ в крові пацієнтів при атеросклеротичному ураженні судин
- 47.Загальні уявлення про гормони і їхні властивості. Класифікація гормонів за хімічною будовою та механізмом дії.
- 48.Поняття про органи- та клітини-мішені гормонів. Типи рецепторів: особливості структури й локалізації в клітині.
- 49.Мембранно-внутрішньоклітинний механізм дії пептидних гормонів та біогенних амінів. Функція компонентів системи передачі гормонального сигналу в клітину: G-білків, аденілатциклази, фосфодіестерази, фосфоліпази С, вторинних посередників, протеїнкіназ. Механізми дії адреналіну.
- 50.Молекулярні механізми дії інсуліну. Рецепторні тирозин-кінази.
- 51.Пептидні гормони
- 52.Гормони – похідні амінокислот
- 53.Гіпоталамо-гіпофізарна система та регуляція її функціонування
- 54.Порушення синтезу гормонів у аденогіпофізі
- 55.Чинники, що впливають на лабораторну оцінку вмісту гормонів аденогіпофіза
- 56.Порушення синтезу гормонів у задній долі гіпофізу
- 57.Загальні положення про цитозольний механізм дії ліпофільних гормонів: стероїдних, тиреоїдних.
- 58.Гормони кори наднирникових залоз (глюкокортикоїди, мінералокортикоїди): структура, контроль секреції, особливості транспорту в крові.
- 59.Гормони статевих залоз – андрогени, естрогени, прогестерон: структура, особливості транспорту в крові, регуляція секреції.
- 60.Тиреоїдні гормони (трийодтиронін, тироксин): особливості синтезу й секреції, транспорту в крові.

61. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію. Кальцитонін та паратгормон: особливості структури, синтез, регуляція секреції, вплив на тканини-мішені.
62. Гормоноподібна дія кальцитріолів (похідних вітаміну D₃).
63. Особливості обміну кальцію та фосфатів при порушеннях секреції та зміні концентрації у крові кальцитоніну, паратгормону та кальцитріолів
64. Жіночі статеві гормони, регуляція синтезу та біологічна роль
65. Чоловічі статеві гормони, регуляція синтезу, біологічна роль
66. Регуляція функціонування статевих залоз системою гіпоталамус – гіпофіз – гонади
67. Порушення функцій статевих залоз
68. Лабораторні методи, які використовуються для дослідження статевих гормонів
69. Гормони щитоподібної залози та їхня фізіологічна дія
70. Синтез та секреція гормонів щитоподібної залози
71. Регуляція функції щитоподібної залози
72. Гіпертиреоз: клінічна картина, види, лабораторна діагностика
73. Гіпотиреоз: клінічна картина, види, лабораторна діагностика
74. Гормони прищитоподібних залоз та їх фізіологічна роль
75. Порушення функцій прищитоподібних залоз
76. Принцип прямого та зворотного зв'язку; довгі та короткі зворотні зв'язки в регуляції секреції гормонів.
77. Гормони гіпоталамусу (ліберини, статини): особливості структури, секреції та впливу на гіпофіз.
78. Гормони передньої та середньої часток гіпофізу: хімічна природа, регуляція секреції, вплив на обмін речовин і порушення секреції. Посттрансляційний процесинг проопіомеланокортину: продукти та їх біохімічні ефекти.
79. Вазопресин та окситоцин: хімічна природа, локалізація синтезу та секреції, механізм дії, ефекти. Нецукровий діабет.
80. Гормони підшлункової залози (інсулін і глюкагон): хімічна природа, особливості біосинтезу, регуляція секреції та вплив на обмін речовин. Ростостимулюючі ефекти інсуліну
81. Ейкозаноїди (простагландини, тромбокساني, простацикліни, лейкотрієни): шляхи та локалізація синтезу, біохімічні ефекти. Використання лікарських препаратів у регуляції обміну ейкозаноїдів (аспірин та інші не стероїдні протизапальні засоби)
82. Медіатори й гормони імунної системи (цитокіни, інтерферони): хімічна природа, локалізація синтезу, біохімічні ефекти.

ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
2. Вороніна Л.М. Клінічна біохімія. – Харків: Основа, 2005.
3. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч.3: Клиническая биохимия / Под ред. проф. М.А.Базарновой, проф. В.Т.Морозовой – К.: Вища школа, 1986. – 279 с.
4. Березов Т.Т, Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.
5. Вороніна Л.М. Біологічна хімія. – Харків: Основа, 2000. – 608 с.
6. Губський Ю.І. Біологічна хімія. – Київ – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
7. Клиническая оценка лабораторных тестов: перевод с англ./ Под редакцией Н.У. Тица. – М.: Медицина, 1986. – 480 с.

Додаткова:

1. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической биохимии. – Минск: Беларусь – 1982. – 367 с.
2. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Биохимические анализы в клинике. Справочник. – М.: Мед.информ.агентство. – 1998. – 302 с.
3. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина. – 1987. – 437 с.
4. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. Перевод с англ. – СПб.: Изд-во БИОНОМ «Невский диалект». – 2000. – 368 с.
5. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. 2-е изд., стереотипное. – М.: Медицина, 2002. – 544 с.
6. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АЛЛ «Джангар», 1998. – 250 с.
7. Бышевский А.Ш. Биохимия для врача. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. – 384 с.
8. Клиническая биохимия /Под редакцией В.А. Ткачука. – 2-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 512 с.