

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра клінічної лабораторної діагностики

**ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ КЛІНІЧНОЇ І
БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ ТА ОСНОВИ
ЕНЗИМОЛОГІЇ. МЕТАБОЛІЗМ
ВУГЛЕВОДІВ. ОБМІН РЕЧОВИН ТА
ЕНЕРГІЇ. ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ
БІОЛОГІЇ**

Модуль 1.

ПРАКТИКУМ

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

студента

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

Запоріжжя

2017

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра клінічної лабораторної діагностики

**ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ КЛІНІЧНОЇ І
БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ ТА ОСНОВИ
ЕНЗИМОЛОГІЇ. МЕТАБОЛІЗМ
ВУГЛЕВОДІВ. ОБМІН РЕЧОВИН ТА
ЕНЕРГІЇ. ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ
БІОЛОГІЇ**

Модуль 1.

ПРАКТИКУМ

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

студента

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

Запоріжжя

2017

УДК 577.01(075.8)
ББК 28.072 я73
З 14

Навчальний посібник затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМУ (протокол № від 20 р.) та рекомендовано для використання в навчальному процесі.

Колектив авторів:

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

Рецензенти:

Белєнічев І. Ф., професор, завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури д.біол.н.
Романенко М. І., професор кафедри біохімії д.фар.н.

Під загальною редакцією **Павлова С. В.**

П 69 **Практикум з біологічної та клінічної хімії.** Модуль 1. Загальні питання клінічної і біологічної хімії та основи ензимології. Метаболізм вуглеводів. Обмін речовин та енергії. Основи молекулярної біології : для самостійної аудиторної та позааудиторної підготовки до практичних занять і ліцензійного іспиту «Крок-Б» / С. В. Павлов [та ін.] ; під заг. ред. Павлова С.В. – Запоріжжя, 2017. – 84 с.

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

Практикум містить тематичний план лекцій та практичних занять з модулю 1. Для кожного заняття вказана актуальність теми, що вивчається, мета заняття, перелік теоретичних 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 1.

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

УДК 577.01(075.8)
ББК 28.072 я73

©Колектив авторів, 2017
©Запорізький державний медичний університет

Зміст:

1. Тематичний план лекцій	4
2. План лабораторно-практичних занять	5
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1:	
3. Заняття № 1	7
4. Заняття № 2	9
5. Заняття № 3	16
6. Заняття № 4	20
7. Заняття № 5	29
8. Заняття № 6	34
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2:	
9. Заняття № 1	43
10. Заняття № 2	51
11. Заняття № 3	57
12. Заняття № 4	63
13. Заняття № 5	69
14. Заняття № 6	76
15. Література	81

ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ЛЕКЦІЙ

№ п/п	Тема	Кількість годин
Модуль 1. Загальні питання клінічної і біологічної хімії та основи ензимології. Метаболізм вуглеводів. Обмін речовин та енергії. Основи молекулярної біології.		
1	Введення в клінічну та біологічну хімію. Її завдання, цілі, методи та значення як клініко-діагностичної дисципліни	2
2	Будова та хімічний склад клітин. Структура, класифікація та фізико-хімічні властивості амінокислот і білків.	2
3	Ферменти – структура, властивості, класифікація, механізм дії. Значення досліджень ферментів в лабораторній діагностиці.	2
4	Кінетика ферментативних реакцій. Регуляція активності ферментів, конкурентні та неконкурентні інгібітори.	2
5	Поняття про вітаміни. Коферментні функції водорозчинних вітамінів. Роль жиророзчинних вітамінів в метаболізмі. Вітаміноподібні речовини. Антивітаміни.	2
6	Перетравлення та всмоктування поживних речовин у ШКТ.	2
7	Вуглеводи: класифікація, структура моно-, оліго- та полісахаридів, їх фізико-хімічні властивості та біологічна роль.	2
8	Анаеробне окислення глюкози (гліколіз) та її біосинтез (глюконеогенез).	2
9	Аеробне окислення глюкози. Пентозофосфатний шунт.	2
10	Загальні закономірності обміну речовин і енергії. Цикл трикарбонових кислот.	2
11	Молекулярні основи біоенергетики. Механізми субстратного та окисного фосфорилування.	2
12	Будова та біохімічні функції нуклеотидів. Структура, рівні організації та функції нуклеїнових кислот.	2
13	Обмін пуринових та піримідинових нуклеотидів і його порушення.	2
14	Біосинтез нуклеїнових кислот.	2
15	Генетичний код та його властивості. Біосинтез білків.	2
Всього		30

ПЛАН ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

Модуль 1. Загальні питання клінічної і біологічної хімії та основи ензимології. Метаболізм вуглеводів. Обмін речовин та енергії. Основи молекулярної біології.		
<i>Змістовий модуль 1: Загальні питання клінічної і біологічної хімії та основи ензимології.</i>		
1	Тема 1: Введення в клінічну та біологічну хімію. Будова та хімічний склад клітин; органели. Біологічні мембрани.	2
2	Тема 2: Будова, класифікація та фізико-хімічні властивості простих білків.	2
3	Тема 3: Будова, класифікація та фізико-хімічні властивості складних білків. Методи виділення та кількісного визначення білків.	2
4	Тема 4: Будова та фізико-хімічні властивості білків-ферментів. Класифікація та номенклатура ферментів. Визначення активності ферментів в біологічних середовищах. Одиниці активності.	2
5	Тема 5: Механізм дії ферментів та кінетика ферментативних реакцій. Коферментна роль водорозчинних вітамінів. Регуляція активності ферментів. Основи медичної ензимології, поняття про ензимопатії.	2
6	Контроль засвоєння змістового модулю 1.	2
<i>Змістовий модуль 2: Метаболізм вуглеводів. Обмін речовин та енергії. Основи молекулярної біології.</i>		
1	Тема 1: Перетравлення та всмоктування поживних речовин у шлунково-кишковому тракті.	2
2	Тема 2: Анаеробне окислення глюкози (гліколіз). Біосинтез глюкози (глюконеогенез).	2
3	Тема 3: Аеробне окислення глюкози. Пентозофосфатний шунт.	2
4	Тема 4: Загальні закономірності обміну речовин і енергії. Цикл трикарбонових кислот. Молекулярні основи біоенергетики (семінар).	2
5	Тема 5: Матричні синтези (семінар).	2
6	Контроль засвоєння змістового модулю 2.	2
Підсумковий контроль засвоєння модулю 1		2
Всього годин		26

Змістовий модуль 1

*Загальні питання клінічної
та біологічної хімії.
Основи ензимології.*

ЗАНЯТТЯ № 1

ТЕМА: Введення в біохімію. Біохімічні компоненти клітини. Особливості роботи в біохімічній лабораторії. Інструктаж з техніки безпеки. Контроль вихідного рівня знань.

- 1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:** Біохімія – наука, яка займається вивченням молекул, хімічних реакцій та процесів, що протікають в живих клітинах і організмах. Знання біохімії необхідне для успішного засвоєння двох головних напрямків біомедичних наук: 1) рішення проблем збереження здоров'я людини; 2) з'ясування причин різних захворювань та розробку шляхів їх ефективної діагностики та лікування.
- 2. МЕТА ЗАНЯТТЯ:** Вивчити етапи становлення біохімії як фундаментальної медико-біологічної науки та визначити роль біохімічних досліджень функціонального стану організму людини в нормі і при патології.
- 3. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.**

4.1. ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ВИХІДНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ

1. Загальні поняття органічної хімії:
 - 1.1. Полярність, гідрофобність і гідрофільність органічних молекул.
 - 1.2. Кислотні, основні і амфотерні властивості органічних молекул.
2. Характерні особливості структури спиртів, альдегідів, кетонів, карбонових кислот і амінів.
3. Структура окремих представників класів органічних речовин: етанол, гліцерол; оцтова, янтарна, фумарова, пальмітинова, олеїнова; піровиноградна, щавлевооцтова, 2-оксоглутарова, молочна, яблучна кислоти; оцтовий альдегід, ацетон, етаноламін і холін.
4. Механізм утворення естерів на прикладі триацилгліцеролів і ацетилхоліну, їх біологічна роль.
5. Загальні уявлення про ліпіди і їх класифікацію. Біологічна роль різних класів ліпідів.
6. Особливості структури і біологічної ролі моносахаридів (альфа-D-глюкоза, альфа-D-фруктоза, альфа-D-галактоза, бета-D-рибоза), полісахаридів (крохмаль, глікоген, целюлоза).
7. Класифікації та властивості α -амінокислот. Структура окремих представників (гліцин, аланін, цистеїн, глутамінова кислота, аспарагінова кислота, лізин, фенілаланін, триптофан, метіонін).
8. Білки: механізм утворення пептидного зв'язку, рівні структурної організації, біологічна роль.
9. Нуклеїнові кислоти, нуклеозиди, нуклеотиди: особливості структури і складу. Біологічна роль.

4.2. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Біологічна хімія як наука. Предмет, завдання, основні етапи і сучасні напрямки розвитку біохімії.
2. Мета і методи проведення біохімічних досліджень, їх клініко-діагностичне значення.
3. Зв'язок біохімії з іншими біомедичними науками. Клінічна біохімія. Біохімічна лабораторна діагностика.
4. Світова історія біохімії та розвиток біохімічних досліджень в Україні.

4.3. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №1

Дата:

Основні правила техніки безпеки при роботі у біохімічній лабораторії

5. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 2

ТЕМА: Будова, класифікація та фізико-хімічні властивості простих білків

1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Більш як 60% сухої маси клітин ссавців складають білки. Кожен з сотень тисяч різних білків має унікальну хімічну і просторову структуру, які визначають його специфічні функції. Набуті при вивченні розділу знання про структурну та функціональну різноманітність білків, їх фізико-хімічні властивості та методи ідентифікації, необхідні майбутньому лікарю-стоматологу для вибору найбільш ефективних методик визначення білків, пептидів та амінокислот при діагностиці різних захворювань.

2. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити матеріали стосовно амінокислотного складу та структурних рівнів організації простих білків, їх фізико-хімічних властивостей; засвоїти методи якісного визначення білків та окремих амінокислот.

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Амінокислотний склад білків та пептидів. Механізм утворення пептидного зв'язку.
2. Структурна організація білків.
3. Фізико-хімічні властивості білків. Реакції осадження білків. Денатурація.
4. Класифікація білків організму людини.
5. Глобулярні білки: структура, фізико-хімічні властивості, розповсюдження в тканинах, біологічна роль. Чинники стійкості глобулярних білків в колоїдних розчинах.
6. Фібрилярні білки: структура, фізико-хімічні властивості, розповсюдження в тканинах, біологічна роль.
7. Загальні уявлення про методи розділення, виділення і очищення білкових препаратів: ультрацентрифугування, висолювання, діаліз.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №2

Дата:

1. Якісні реакції на білки та амінокислоти

1.1 Біуретова проба (реакція Піотровського)

Принцип методу:

У лужному середовищі розчин білка при взаємодії з іонами Cu^{2+} набуває синьо-фіолетового кольору, а продукти його неповного гідролізу - пептони -

дають рожеве забарвлення. Біуретову реакцію здатні давати речовини, які містять не менш двох пептидних зв'язків.

Хід роботи:

До 5 крапель 1% розчину яєчного білка чи досліджуваної рідини додають 5 крапель 10% розчину NaOH, 2 краплі 1% розчину CuSO_4 і все перемішують. Вміст пробірки набуває фіолетового кольору.

! Не можна додавати надлишку CuSO_4 , тому що синій осад $\text{Cu}(\text{OH})_2$ маскує характерне фіолетове забарвлення біуретового комплексу білка.

Спостереження:

Висновки:

1.2 Сульфосаліцилова проба.

Принцип методу:

Сульфосаліцилова кислота денатурує білки, утворюючи з ними нерозчинний комплекс білого кольору. Найчастіше цю реакцію використовують для доказу наявності білків у сечі пацієнтів.

Хід роботи

До 1 мл досліджуваної рідини додають 3 краплі свіжовиготовленого 20% розчину сульфосаліцилової кислоти. Спостерігають утворення білого осаду (або каламуті), кількість якого залежить від концентрації білка.

Спостереження:

Висновки:

1.3. Ксантопротеїнова проба (реакція Мульдера).

Принцип методу:

Реакція доводить наявність у білку ароматичних амінокислот: **Трп, Фен, Тир**. При додаванні до розчину білка концентрованої HNO_3 з'являється жовте забарвлення (продукти нітрування), яке при додаванні лугу переходить у помаранчеве (в лужному середовищі нітропохідні амінокислот утворюють солі хіноїдної структури, забарвлені в помаранчевий колір).

Хід роботи:

Беруть дві пробірки і наливають: в першу – 5 крапель розчину яєчного білка. а в другу – 5 крапель розчину желатину. В обидві пробірки додають по 3 краплі концентрованої HNO_3 та обережно кип'ятять. В першій пробірці з'являється осад жовтого кольору, а в другій – дуже слабке забарвлення (желатин майже не містить ароматичних амінокислот).

Спостереження:

Висновки:

1.4. Сульфгідрильна проба (реакція Фоля).

Принцип методу:

Сульфгідрильні групи ($-\text{SH}$) амінокислотного залишку цистеїну в білку піддаються лужному гідролізу під дією одного з компонентів реактиву Фоля, у результаті чого відбувається відщиплення сірки у вигляді PbS чорного кольору.

Хід роботи:

До 5 крапель 1% розчину білка (або досліджуваної рідини) додають 5 крапель реактиву Фоля, кип'ятять і дають постояти 1-2 хвилини. Спостерігають появу чорного осаду PbS .

Спостереження:

Висновки:

2. Висолювання білків

Принцип методу:

Висолювання – оборотна реакція осадження білків із розчинів за допомогою великих кількостей солей лужних і лужноземельних мета-лів та солей амонію. При цьому, альбуміни осаджуються в насичених розчинах, а глобуліни – у напівнасичених, тому що молекулярна маса глобулінів більше, а розчинність менше, ніж у альбумінів.

Хід роботи:

До 20 крапель нерозведеного яєчного білка додають 20 крапель насиченого розчину амоній сульфату й перемішують. Утворюється напівнасичений розчин амоній сульфату, у якому випадає осад яєчного глобуліну. Через 5 хвилин осад відфільтровують. У фільтраті залишається тільки яєчний альбумін. Для висолювання альбумінів до фільтрату додають подрібнений порошок амоній сульфату до повного насичення (тобто поки нова порція порошку залишиться нерозчиненою). Осад альбуміну, що випав, відфільтровують. З фільтратом проводять біуретову реакцію. Негативна реакція вказує на відсутність білку.

Спостереження:

Висновки:

3. Осадження білків

3.1. Осадження білків солями важких металів

Принцип методу:

Білки при взаємодії з солями важких металів (Cu, Pb, Ag та ін.) утворюють нерозчинні у воді комплексні (хелатні) сполуки. Це зумовлено тим, що іони металів зв'язуються з функціональними групами амінокислот у молекулі білка, в результаті чого руйнується просторова структура останнього і відбувається осадження денатурованого білка. Розчинення утвореного осаду при додаванні надлишку солей важких металів (крім AgNO_3 і HgCl_2) пояснюється адсорбцією іонів металу на

поверхні денатурованого білка і виникненням позитивного заряду на частинках білка (адсорбційна пептизація). При цьому білок у розчині залишається денатурованим.

Хід роботи:

В дві пробірки наливають по 5 крапель розчину яєчного білка і додають: в першу пробірку – 2 краплі 5% розчину CuSO_4 , в другу – 2 краплі 5% розчину $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$. В пробірках утворюється нерозчинний у воді осад. При додаванні до пробірок надлишків (5-10 крапель) відповідного осадника спостерігають розчинення осадів.

Спостереження:

Висновки:

3.2. Осадження білків концентрованими мінеральними кислотами

Принцип методу:

Концентровані мінеральні кислоти (HNO_3 , H_2SO_4 тощо) призводять до дегідратації білкових часток, що супроводжується порушенням просторової структури білка і випадінням його в осад.

Хід роботи:

В пробірку наливають 10 крапель розчину концентрованої HNO_3 . Тримаючи пробірку під кутом 45° обережно нашаровують (по стінці пробірки) 5 крапель 1% яєчного білка. На межі двох рідин утворюється осад у вигляді білого кільця. Цей метод покладено в основу кількісного і якісного визначення білка в сечі.

Спостереження:

Висновки:

4.3. САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть якісну реакцію на пептидний зв'язок:

- A. Фоля
- B. Адамкевича
- C. Піотровського
- D. Міллона
- E. Мульдера

2. Укажіть амінокислоту, у якій відсутній асиметричний атом вуглецю:

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

3. Виберіть із приведеного списку незамінну амінокислоту:

- A. Гліцин
- B. Лізин
- C. Серин
- D. Аланін
- E. Тирозин

4. Виберіть із приведених амінокислот замінну:

- A. Триптофан
- B. Метіонін
- C. Валін
- D. Лізин
- E. Глутамат

5. Назвіть гетероциклічну амінокислоту:

- A. Серин
- B. Лізин
- C. Метіонін
- D. Тирозин
- E. Триптофан

6. Укажіть рівень структурної організації білкової молекули, для якого можливий розгляд фізико-хімічних властивостей та біологічної активності:

- A. Вторинний
- B. Первинний
- C. Тільки третинний
- D. Тільки четвертинний
- E. Четвертинний та третинний

7. Укажіть основні типи зв'язків, характерні для первинної структури білкової молекули:

- A. Гідрофобні
- B. Водневі
- C. Дисульфідні
- D. Іонні взаємодії
- E. Пептидні

8. Укажіть основні типи зв'язків, які характерні для вторинної структури білкової молекули:

- A. Гідрозв'язки
- B. Ефірні
- C. Пептидні
- D. Водневі
- E. Сили Ван-дер-Ваальса

9. Виберіть визначення поняття "денатурація":

- A. Руйнування дисульфідних зв'язків у третинній структурі
- B. Руйнування водневих зв'язків у вторинній структурі
- C. Руйнування всіх рівнів організації білкової молекули, крім первинної структури
- D. Руйнування первинної структури білка до амінокислот
- E. Руйнування четвертинної структури до третинної

10. Виберіть вірне продовження фрази: "Незамінними амінокислотами" називаються ті, котрі...:

- A. Позитивно заряджені
- B. Негативно заряджені
- C. Синтезуються в організмі
- D. Не синтезуються в організмі
- E. Не мають заряду

5.1 ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Для прискорення загоєння рани слизової оболонки в ротовій порожнині хворому призначили препарат, який являє собою термостабільний білок, що міститься у людини в слюзах, слині, грудному молоці матері, а також його можна виявити у свіжознесеному курячому яйці. Відомо, що він являє собою фактор природної резистентності організму й називається:

- A. Іманін
- B. Комплемент
- C. Інтерлейкін
- D. Інтерферон
- E. Лізоцим

2. До фібрилярних білків сполучної тканини належать колаген, еластин і ретикулін. Укажіть амінокислоту, що входить тільки до складу колагену та

визначення якої в біологічних рідинах використовується для діагностики захворювань сполучної тканини:

- A. Пролін
- B. Фенілаланін
- C. Лізин
- D. Гліцин
- E. Гідроксипролін

3. Наявність білка в розчині можливо виявити за допомогою кольорових реакцій. Яка з нижчеперелічених реакцій дасть негативний результат при повному гідролізі білка?

- A. Біуретова
- B. Нінгідрінова
- C. Ксантопротеїнова
- D. Фоля
- E. Сакагучі

4. При активації запального процесу, деяких аутоімунних та інфекційних захворюваннях в плазмі крові різко зростає рівень білків гострої фази. Який з наведених нижче білків здатний утворювати гель при охолодженні сироватки?

- A. С-реактивний білок
- B. Гаптоглобін
- C. Альфа 2-макроглобулін
- D. Церулоплазмін
- E. Кріоглобулін

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 3

1. ТЕМА: Будова, класифікація та фізико-хімічні властивості складних білків. Методи виділення та кількісного визначення білків.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Біологічні рідини організму – кров, ліквор, слина, ротова рідина, жовч, шлунковий і кишковий соки, міжклітинна рідина – містять суміші білків. Особливості фізико-хімічних властивостей білка лежать в основі багатьох прийомів і методів, які використовуються в клініко-біохімічних лабораторіях, фармацевтичній практиці та експериментальній біохімії для їх виділення, очистки, розділення. Для кількісного визначення білків у біологічному матеріалі та лікарських засобах найчастіше застосовують фотоколориметричні і спектрофотометричні методи.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити будову складних білків, їх класифікацію та методи кількісного визначення загального білку в біоматеріалі.

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальні уявлення про методи розділення, виділення і очищення білкових препаратів:
 - а) ультрацентрифугування
 - б) діаліз
 - в) електрофорез
 - г) хроматографія.
2. Методи кількісного визначення білків:
 - а) колориметричні методи
 - б) спектрофотометричні методи
3. Класифікація та характеристика складних білків:
 - а) хромопротеїни (гемопротеїни, магній-порфіріни, флавопротеїни)
 - б) нуклеопротеїни (ДНП, РНП)
 - в) ліпопротеїни
 - г) фосфопротеїни
 - д) глікопротеїни
 - є) металопротеїни

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №3

Дата:

1. Кількісне визначення білка в сироватці крові біуретовим методом.

Принцип методу:

При взаємодії білка з біуретовим реактивом утворюється забарвлений комплекс, інтенсивність забарвлення якого відповідає концентрації білка в досліджуваній пробі. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна оптичній щільності дослідної проби, що вимірюється на фотоелектроколориметрі.

Хід роботи:

До 0,1 мл сироватки додають 5 мл біуретового реактиву, змішують, уникаючи утворення піни. Паралельно готують контроль: до 5 мл робочого біуретового реактиву додають 0,1 мл 0,9% розчину NaCl. Через 30 хвилин вимірюють оптичну щільність (E) дослідної проби проти контрольної на фотоелектроколориметрі в кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 540-560 нм. Розрахунок концентрації білка в сироватці крові (C) ведуть за графіком.

Отримані результати заносять до протоколу.

Результат: $E = \underline{\hspace{2cm}}$; $C = \underline{\hspace{2cm}}$.

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Норма вмісту загального білка в сироватці крові – 6,5–8,5 г%; 65–85 г/л.

Гіперпротеїнемія – збільшення загального вмісту білків плазми крові щодо норми. Діарея у дітей, блювота при непрохідності верхнього відділу тонкої кишки, великі опіки можуть сприяти підвищенню концентрації білків у плазмі крові. Іншими словами, втрата води організмом, а отже, і плазмою призводить до підвищення концентрації білка в крові (відносна гіперпротеїнемія). При ряді патологічних станів може спостерігатися абсолютна гіперпротеїнемія, обумовлена збільшенням рівня глобулінів: наприклад, гіперпротеїнемія в результаті інфекційного або токсичного роздратування системи макрофагів; гіперпротеїнемія при мієломній хворобі.

Гіпопротеїнемія, або зменшення загальної кількості білка в плазмі крові, спостерігається головним чином при зниженні рівня альбумінів. Виражена гіпопротеїнемія – постійний і патогенетично важливий симптом нефротичного синдрому. Крім того, вміст загального білка знижується до 30-40 г/л при пошкодженні печікових клітин (гостра атрофія печінки, токсичний гепатит та ін.), а також, гіпопротеїнемія може виникнути при різкому збільшенні проникності стінок капілярів, при білкової недостатності (пошкодження травного тракту, карцинома й ін.).

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5.МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть білки сироватки крові, що піддаються висолюванню при 50%-ному насиченні амоній сульфатом:

- A. Гістони
- B. Протаміни
- C. Глютеліни
- D. Альбуміни
- E. Глобуліни

2. Укажіть білки сироватки крові, які піддаються висолюванню при 100%-ному насиченні амоній сульфатом:

- A. Глобуліни
- B. Глютеліни
- C. Альбуміни
- D. Гістони
- E. Протаміни

3. При фракціонуванні білків часто використовується метод адсорбційної хроматографії. Укажіть принцип, що лежить у його основі:

- A. Розходження у сорбуванні
- B. Розходження у розчинності
- C. Розходження у денатурації
- D. Розходження у ренатурації
- E. Розходження у рН середовища

4. Укажіть принцип, покладений в основу методу електрофоретичного розділу білків:

- A. Величина молекули білка
- B. Здатність до адсорбції
- C. Специфічність білка
- D. Здатність до гідролізу
- E. Величина заряду білка

5. Укажіть метод очищення білка від низькомолекулярних домішок:

- A. Висолювання
- B. Діаліз
- C. Електрофорез
- D. Гідроліз
- E. Денатурація

6. Укажіть підготовчу операцію, яка використовується для вивчення амінокислотного складу очищеного від домішок білка:

- A. Гідроліз
- B. Висолювання
- C. Денатурація
- D. Заморожування
- E. Розчинення

7. Укажіть білок рослинного походження:

- A. Клупеїн
- B. Інсулін
- C. Оризенін
- D. Сальмін
- E. Альбумін

8. Назвіть білки, які входять до складу дезоксирибонуклеопротейнів:

- A. Проламіни
- B. Глютеліни
- C. Глобуліни
- D. Альбуміни
- E. Гістони

9. Укажіть найбільш сучасний і найточніший метод визначення тримірної конфігурації білка:

- A. Гідроліз
- B. Ультрацентрифугування
- C. Рентгеноструктурний аналіз

- D. Хроматографія
- E. Електрофорез

10. Укажіть принцип, покладений в основу класифікації складних білків:

- A. Хімічна природа білкового компонента
- B. Амінокислотний склад
- C. Розчинність
- D. Хімічна природа протетичної групи
- E. Здатність до ренату раці

5.1. ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Лікар, перш ніж призначити хворому білкове парентеральне харчування, призначив лабораторне дослідження електрофоретичного спектра білків крові. Які фізико-хімічні властивості білків використовує даний метод?

- A. Наявність заряду
- B. Вязкість
- C. Нездатність до денатурації
- D. Гідрофільність і здатність до набухання
- E. Оптичну активність

2. При хворобі Вільсона-Коновалова порушується транспорт міді, що призводить до накопичення цього металу в клітинах мозку і печінки. З порушенням синтезу якого білка це пов'язано?

- A. Металотіонеїну
- B. Гаптоглобіну
- C. Транскобаламіну
- D. Сидерофіліну
- E. Церулоплазміну

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 4

1. ТЕМА: Будова й фізико-хімічні властивості білків-ферментів. Класифікація й номен-клатура ферментів. Визначення активності ферментів в біологічних-середовищах. Одиниці активності ферментів.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Ферменти як біокаталізатори, які містяться в усіх тканинах, клітинах і біологічних рідинах, забезпечують перебіг хімічних реакцій у живих організмах. Їм також належить провідна роль і в метаболізмі ліків. Сучасні методи виділення та очищення ферментів дозволили вивчити структуру, активні та регуляторні центри їх молекул, умови прояву їх активності.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити біохімічні закономірності будови та функціонування різних класів ферментів. Вміти показати на прикладах

відмінність ферментів від небіологічних каталізаторів (специфічність дії, високу ефективність каталізу, здатність діяти в м'яких умовах та ін.).

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Функція білків-ферментів в організмі. Відмінність дії ферментів від дії небілкових каталізаторів.
2. Структура простих і складних ферментів. Поняття про апофермент, кофактор, кофермент і простетичну групу. Вітамінні кофактори (ТПФ, НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД). Особливості структури активного центру простих і складних ферментів.
3. Загальні властивості ферментів: специфічність дії; вплив рН і температури середовища на активність ферментів.
4. Ізоферменти: особливості структури, локалізації синтезу в організмі людини (на прикладі ізоферментів лактатдегідрогенази).
5. Класифікація і номенклатура ферментів. Характеристика типів хімічних реакцій, які лежать в основі класифікації ферментів.
6. Принципи визначення активності ферментів в біологічних середовищах. Одиниці активності ферментів.
7. Основні напрямки досліджень медичної ензимології:
 - 1) розробка методів діагностики захворювань з використанням ферментів як реагентів (глюкозооксидазний метод визначення глюкози в плазмі крові);
 - 2) розробка методів діагностики захворювань по зміні активності ферментів (приклад);
 - 3) використання ферментів і їх інгібіторів як фармацевтичних препаратів (приклад).

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №4

Дата:

1. Специфічність дії амілази слини

Принцип методу:

Ферменти специфічні як стосовно типу реакцій, які каталізують, так і стосовно субстратів, на які вони діють. Амілаза слини, маючи відносну групову специфічність, розщеплює α -1,4-глікозидні зв'язки в полісахаридах і не діє на дисахариди.

На підставі результатів реакції Троммера, яка підтверджує наявність альдегідної групи, можна зробити висновок про гідроліз крохмалю, що відбувся і призвів до утворення глюкози, та відсутність реакції із сахарозою.

Хід роботи:

В 2 пробірки наливають по 5 крапель слини, розведеної в 5 разів. В першу пробірку додають 10 крапель 1% розчину крохмалю, в другу – 10 крапель 1% розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять у термостат при 38°C на 10 хвилин. Після цього з вмістом пробірок проводять реакцію Троммера.

Реакція Троммера:

У кожену пробірку вносять по 5 крапель 10% розчину NaOH та по 3 краплі 5% розчину CuSO₄. Збовтують вміст пробірок (утворюється яскраво-синій прозорий розчин). Обережно нагрівають пробірки і кип'ячать 1 хвилину. Поява червоного забарвлення вказує на наявність глюкози (продукту гідролізу крохмалю) в пробі.

Спостереження:

1-а пробірка –

2-а пробірка –

Висновки:

2. Термолабільність амілази слини

Принцип методу:

Про вплив температури на активність амілази слини судять по розщепленню цим ферментом крохмалю до глюкози при різних температурних умовах. Ступінь розщеплення крохмалю амілазою визначають йодною пробою, а утворення продукту реакції – пробую Троммера.

Хід роботи:

У першу пробірку збирають 2-3 мл слини. В іншу пробірку відбирають 4 краплі слини й додають 16 крапель води – (таким чином розводять слину в 5 разів). Кількість слини що залишилася у першій пробірці кип'ячать 5 хвилин, після чого її охолоджують.

Потім беруть 3 пробірки, у кожену з яких наливають по 10 крапель 1% розчину крохмалю. Далі в першу пробірку додають 10 крапель розведеної в 5 разів не кип'яченої слини, в другу 10 крапель кип'яченої слини, в третю – 10 крапель води як контроль. Всі пробірки ставлять у термостат на 10 хвилин при 38°C. Потім вміст кожної пробірки ділять на 2 частини й проводять якісну реакцію на крохмаль, а з другою частиною – реакцію Троммера на продукти його розщеплення (знадобиться ще три пробірки).

а) Реакція на крохмаль (йодна проба):

В усі три пробірки наливають по 1 краплі 1% розчину йоду в калію йодиді. В присутності крохмалю з'являється синє забарвлення.

Спостереження:

1-а пробірка –

2-а пробірка –

3-я пробірка -

Висновки:

б) Реакція Троммера (див. роботу №1):

Спостереження:

1-а пробірка –

2-а пробірка –

3-я пробірка -

Висновки:

3. Дослідження активності амілази слини при різних значеннях рН середовища

Принцип методу:

Про вплив рН середовища на активність амілази слини судять по розщепленню цим ферментом крохмалю при різних значеннях рН. Ступінь розщеплення крохмалю визначається по йодній пробі, оптимум рН відповідає забарвленню негативної йодної проби.

Хід роботи:

Слину розводять в 100 разів. Беруть 6 пробірок і в кожному з них наливають по 2 мл фосфатного буферу з різним значенням рН: 6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6; 8,0. Потім доливають по 1 мл 0,5% розчину крохмалю і по 1 мл розведеної слини. Перемішують вміст пробірок і ставлять їх у термостат при 38°C на 10 хвилин. Потім в усі пробірки доливають по 1 краплі розчину йоду, перемішують, спостерігають забарвлення та відзначають оптимум рН.

Результати роботи заносять у таблицю:

№ пробірки	pH середовища	Забарвлення йодної проби
1		
2		
3		
4		
5		
6		

Висновки:

4. Визначення активності амілази (діастази) сечі за методом Вольгемута

Принцип методу:

Метод Вольгемута заснований на виявленні мінімальної кількості ферменту, здатного повністю розщепити 2 мг крохмалю за 15 хв. Цю кількість ферменту приймають за одиницю амілазної активності.

Хід роботи:

У вісім пробірок вносять по 1 мл 0,85% розчину натрій хлориду. В першу пробірку додають 1 мл досліджуваної сечі і ретельно перемішують. Далі 1 мл суміші переносять в другу пробірку, з неї таким же чином – в третю і т.д. З восьмої пробірки 1 мл рідини виливають. Таким чином готуються розведення сечі, представлені в таблиці. У всі пробірки додають по 2 мл 0,1% розчину крохмалю, перемішують і ставлять в термостат при 38°C на 30 хвилин. Після закінчення часу інкубації пробірки виймають, охолоджують і додають в кожену по 2 краплі 0,1% розчину йоду в 0,2% розчині калій йодиду. Вміст пробірок перемішують і вибирають для розрахунку розведення останньої пробірки з розчином жовтого кольору після проведення йодної проби (де відбулося повне розщеплення крохмалю).

Результати заносять в таблицю.

Показник	№ пробірки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Розведення сечі	2	4	8	16	32	64	12 8	25 6
1мл 0,85% розчину NaCl								
2 мл 0,1% розчину крохмалю								
Забарвлення йодної проби								

Розрахунок проводиться по формулі: $X \text{ (од)} = 1 \cdot 2^*$ розведення

де :

X – активність амілази слини в умовних одиницях (од).

1 – кількість сечі в мл; 2 – кількість 0,1% розчину крохмалю, в мл;

Результат:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення визначення активності амілази (діастази) сечі пза методом Вольгемута:

Нормальні значення активності амілази сечі (по Вольгемуту) знаходяться в межах 16–64 одиниць. При гострому панкреатиті активність амілази сечі і сироватки крові зростає в 10–30 разів. Визначення активності амілази сечі проводять з метою постановки діагнозу, а також коли хворого виписують з лікарні. Визначення активності амілази сечі проводять також після важко перенесеного паротиту для діагностики функціонального стану підшлункової залози, оскільки вірус, що викликає запалення привушних залоз може пошкодити і підшлункову залозу.

5. Визначення активності холінестерази в сироватці крові

Принцип методу:

Під дією холінестерази сироватки крові відбувається гідроліз ацетилхоліну з утворенням оцтової кислоти і холіну. Оцтова кислота знижує рН розчину, що встановлюється за допомогою індикатора (зміна малинового забарвлення на жовтий колір). Інтенсивність зміни фарбування пропорційна активності ферменту в досліджуваній пробі.

Хід роботи:

Перед роботою буферно-індикаторний і фізіологічний розчини витримують у термостаті при 37°C протягом 10 хвилин.

Паралельно готують дві проби згідно схеми:

Додати, мл	Досліджувана проба	Контрольна проба
Буферно-індикаторний розчин	2,5	-
Сироватка крові	0,05	0,05
Фізіологічний розчин	-	2,7
Ацетилхолін	0,1	-

Суміш інкубують протягом 30 хвилин при температурі 37°C

Стоп-реагент	0,1	-
--------------	-----	---

Вимірюють оптичну щільність кожної проби відносно дистильованої води при 540 нм (зелений світлофільтр); кювети (5 мм).

Розрахунки проводять за формулою:

$E = E_{xp} + E_{kp} - E_{dp}$, де E_{xp} , E_{kp} і E_{dp} – поглинання холостої, контрольної і досліджуваної проби.

Значення E_{xp} видає старший лаборант, решту значень (E_{kp} , E_{dp}) студент визначає самостійно. Одержане значення E використовують для пошуку по калібрувальному графіку активності холінестерази в сироватці.

Результат:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення визначення холінестерази (ХЕ) в сироватці крові:

Нормальна активність холінестерази в сироватці крові знаходиться в діапазоні 45-95 мкмоль/сек•л.

Суттєве зниження активності ХЕ в сироватці крові спостерігається при захворюваннях печінки, гіпотиреозі, бронхіальній астмі, суглобовому ревматизмі, інфаркті міокарду, опіках, травматичному шоці, в післяопераційному стані. При важкій формі хвороби Боткіна активність ХЕ різко і стійко знижується впродовж всього жовтяничного періоду. При загостренні захворювання падіння активності ХЕ випереджає білірубіновий пік, граючи роль передвісника загострення. Динаміка зміни активності сироваткової ХЕ в процесі хвороби може мати прогностичне значення.

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Виберіть речовину, яка не здатна виконати функцію субстра-ту для ферментів організму людини:

- A. Глюкоза
- B. Вища жирна кислота
- C. Нітратна кислота
- D. Оцтова кислота в активній формі
- E. Глікоген

2. Укажіть субстрат, руйнування якого здійснює клас ферментів – гідролази:

- A. Вищі жирні кислоти
- B. Білки
- C. Глюкоза
- D. Піровиноградна кислота
- E. Вуглекислий газ

3. Укажіть субстрат для амілази слини:

- A. Білок
- B. Крохмаль
- C. Сахароза
- D. Глюкоза
- E. Амінокислота

4. Виберіть небілкову частину ферментів, яка використовується для утворення активних форм ацилів різних кислот:

- A. КоQ
- B. HSKoA
- C. ТПФ
- D. НАДФ
- E. ФМН

5. Ферменти класу ліаз здатні каталізувати тип реакції:

- A. Гідроліз
- B. Окислення
- C. Відновлення
- D. Трансамінування
- E. Декарбоксілювання

6. Укажіть клас ферментів, який здійснює процес фосфорилювання субстратів:

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

7. Фермент уреаза здатний руйнувати тільки структуру сечовини. Укажіть його тип специфічності:

- A. Стереохімічний
- B. Абсолютний
- C. Абсолютний груповий
- D. Відносний груповий
- E. Класичний

8. D-оксидаза аланіну здатна дезамінувати тільки D-аланін, але не руйнує структуру L-аланіну. Укажіть тип специфічності цього ферменту:

- A. Стереохімічний
- B. Абсолютний
- C. Абсолютний груповий
- D. Відносний груповий
- E. Класичний

9. Укажіть ознаку, яка покладена в основу класифікації ферментів:

- A. Зворотність реакції
- B. Хімічна структура ферменту
- C. Тип специфічності ферменту
- D. Тип реакції, яка каталізується
- E. Хімічна структура субстрату

10. Дайте повну назву складному ферменту, у якому поліпептидні ланцюги приєднуються до небілкової частини:

- A. Протетична група
- B. Кофактор
- C. Кофермент
- D. Апофермент
- E. Холофермент

5.1 ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Із сироватки крові людини виділили п'ять ізоферментних форм лактатдегідрогенази і вивчили їхні властивості. Яка властивість доводить, що виділено ізоферментні форми одного і того ж самого ферменту?

- A. Однакова молекулярна маса.
- B. Каталізують одну і ту ж саму реакцію.
- C. Однакова електрофоретична рухливість
- D. Тканинна локалізація.
- E. Однакові фізико-хімічні властивості

2. У легенях вугільна кислота (H_2CO_3) за допомогою ферменту розкладається до води і вуглекислого газу, який виділяється при диханні. Який фермент каталізує дану реакцію?

- A. Карбоангідраза
- B. Каталаза
- C. Пероксидаза
- D. Цитохром С
- E. Цитохромоксидаза

3. Недостача в організмі мікроелементу селену проявляється кардіоміопатією. Ймовірною причиною такого стану є зниження активності наступного селенвмісного ферменту:

- A. Лактатдегідрогенази
- B. Цитохромоксидази
- C. Сукцинатдегідрогенази
- D. Каталази
- E. Глутатіонпероксидази

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 5

1. ТЕМА: Механізм дії ферментів та кінетика ферментативних реакцій. Ензимопатії. Медична ензимологія.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Сучасна біохімія характеризується широким застосуванням методів визначення активності ферментів та її регуляція в біологічних рідинах і тканинах. Це дозволяє встановити патогенез багатьох захворювань і запропонувати методи диференційної діагностики та терапії.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити та вміти аналізувати механізм дії ферментів і шляхи регуляції ферментативних процесів як основи обміну речовин в організмі в нормі та при патології.

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Сучасні положення про механізм дії ферментів: поняття про енергію активації ферментативної реакції; утворення фермент-субстратного комплексу і механізми отримання продуктів ферментативної реакції (ковалентний і кислотно-лужний каталіз). Значення робіт Е. Фішера і Д. Кошленда.
2. Кінетика ферментативних реакцій: вплив концентрації субстрата і ферменту на швидкість ферментативної реакції (графічні залежності). Рівняння Міхаеліса-Ментен. Константа Міхаеліса, її визначення і значення.
3. Чинники регуляції активності ферментів: концентрація субстрата, концентрація ферменту, концентрація продуктів реакції; температура і рН середовища.
4. Поняття про хімічну природу і функцію активаторів. Механізми активації ферментів.
5. Загальне поняття про інгібітори. Типи інгібування ферментів: зворотне (конкурентне, неконкурентне) і незворотне (прикладі). Особливості зміни кінетичних параметрів ферментів при конкурентному і неконкурентному інгібуванні (використання методу Лайнуївера-Берка).
6. Поняття про алостеричний центр і його функцію у ферментативному каталізі. Алостеричний тип регуляції активності ферментів. Ретроінгібування ферментів.
7. Загальне поняття про ензимопатії та причини їх виникнення (прикладі).

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол №5

Дата:

1. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази слини

Принцип методу:

Активатором амілази слини є натрій хлорид, а одним з інгібіторів – купрум (II) сульфат. Про вплив цих речовин на активність амілази судять по ступеню гідролізу крохмалю під дією ферменту в їх присутності (ступінь гідролізу оцінюється по йодній пробі).

Хід роботи:

Слину розбавляють в 200 разів (до 1 мл слини додають 199 мл води). Беруть 3 пробірки. У першу наливають 2 краплі 1% розчину NaCl, у другу – 2 краплі 1% розчину CuSO₄, а в третю – 2 краплі води. В усі три пробірки додають по 1 мл розведеної слини й по 5 крапель 1% розчину крохмалю. Вміст перемішують і залишають при кімнатній температурі на 2 хвилини. Після цього в усі пробірки додають по 1 краплі розчину йоду, перемішують і спостерігають характер забарвлення.

Результати роботи заносять у таблицю:

Вміст пробірок	Пробірки		
	1	2	3
1% розчин NaCl	+	-	-
1% розчин CuSO ₄	-	+	-
Дистильована вода	-	-	+
Слина розведена	+	+	+
1% розчин крохмалю	+	+	+
Забарвлення йодної проби			

Висновки:

2. Залежність швидкості ферментативної реакції від кількості ферменту на прикладі α -амілази слини

Принцип методу:

Метод заснований на визначенні швидкості гідролізу крохмалю залежно від кількості α -амілази в пробі (визначається розведенням слини). Швидкість гідролізу полісахариду оцінюється за часом утворення із крохмалю еритродекстринів, які дають червоне забарвлення при проведенні йодної проби.

Хід роботи:

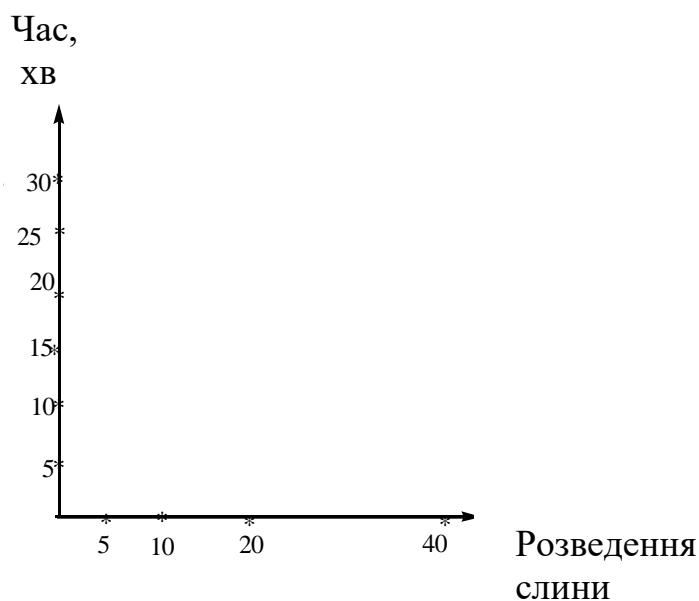
Приготувати розчини слини (в 5, 10, 20 і 40 разів розведення). Пронумерувати чотири пробірки та внести в кожну по 1 мл розчину слини відповідного розведення.

В кожну пробірку додати по 5 мл 1% розчину крохмалю, швидко перемішати і помістити їх на водяну баню (термостат) при 38⁰С. Кожні 1-2 хвилини на предметне скло відбирають по 1-2 краплі розчину з кожної пробірки, додають по 1 краплі 0,1% розчину йоду в 0,2% розчині KI. Спочатку спостерігають синє забарвлення, потім фіолетове, червоно-фіолетове, а наприкінці – червоне забарвлення (йодною пробєю доводиться наявність еритродекстринів). Відзначають час від початку дослідження і до появи червоного забарвлення (в кожній пробірці). Результати відображують графічно, відкладаючи на осі абсцис відносну

концентрацію α -амілази (розведення), а на осі ординат – час (термін) утворення еритродекстринів у хвиликах.

Результати:

Розведення слини	Час утворення еритродекстринів
5	
10	
20	
40	



Висновки:

4.3 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть інгібітор дії амілази слини:

- A. Хлорид натрію
- B. Сульфат амонію
- C. Сульфат міді
- D. Хлорид магнію
- E. Глюконат кальцію

2. Укажіть активатор дії амілази слини:

- A. Хлорид натрію
- B. Сульфат амонію
- C. Сульфат міді
- D. Хлорид магнію
- E. Глюконат кальцію

3. Константа Міхаеліса для ферменту визначає:

- A. Ступінь спорідненості ферменту до продукту реакції
- B. Ступінь спорідненості ферменту до субстрату
- C. Ступінь спорідненості ферменту до інгібітору
- D. Середню швидкість ферментативної реакції
- E. Максимальну швидкість ферментативної реакції

4. Виберіть фактор, який не впливає на значення константи дисоціації фермент-субстратного комплексу:

- A. Концентрація субстрату
- B. Хімічна природа ферменту
- C. Концентрація ферменту
- D. Концентрація фермент-субстратного комплексу
- E. Ступінь спорідненості ферменту до субстрату

5. Укажіть прізвище вченого, який запропонував гіпотезу «індукованої відповідності»:

- A. Г. Кребс
- B. Д. Кошленд
- C. М. Ментен
- D. Ф. Крік
- E. К. Функ

6. Укажіть фактор, який зменшує дію конкурентного інгібітора на фермент:

- A. Підвищення концентрації ферменту
- B. Введення в реакційне середовище катіона металу
- C. Підвищення концентрації субстрату
- D. Введення в реакційне середовище алостеричного активатора
- E. Видалення з реакційного середовища продукту реакції

7. Продовжите фразу: «Незначна зміна рН середовища впливає на молекулу ферменту, змінюючи...»:

- A. Структурний рівень організації молекули ферменту
- B. Ступінь поляризації амінокислотних радикалів в активному центрі
- C. Товщину гідратної оболонки ферменту
- D. Оптичні властивості ферменту
- E. Біологічну функцію ферменту

8. Укажіть показник, який вико-ристовують при визначенні пито-мої активності ферменту, якщо відома загальна активність ферменту:

- A. Концентрація даного ферменту в досліджуваній пробі

- В. Концентрація білка в досліджуваній пробі
- С. Концентрація субстрату в досліджуваній пробі
- Д. Константа Міхаеліса для даного ферменту
- Е. Максимальна швидкість досліджуваної ферментативної реакції

9. Укажіть активатори фермента гліколізу енолази:

- А. Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^{+}
- В. Mg^{2+} , Mn^{2+} , K^{+}
- С. Mn^{2+} , Ni^{2+} , K^{+}
- Д. цАМФ
- Е. цГМФ

10. Укажіть тип інгібування, при якому інгібітором ферменту є продукт реакції:

- А. Конкурентне
- В. Неконкурентне
- С. Бесконкурентне
- Д. Стереохімічне
- Е. Ретроінгібування

5.1. ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. У регуляції активності ферментів важливе місце належить їх постсинтетичній ковалентній модифікації. За допомогою якого механізму здійснюється регуляція глікогенфосфорилази та глікогенсинтетази?

- А. Фосфорилування-дефосфорилування
- В. Метилування
- С. Аденілування
- Д. Обмеженого протеолізу
- Е. АДФ-рибозилування

2. У медичній практиці для профілактики алкоголізму широко використовується препарат тетурам, що є інгібітором альдегіддегідрогена-зи. Підвищення в крові якого метаболіту викликає відразу до алкоголю:

- А. Ацетальдегіду
- В. Етанолу
- С. Малонового альдегіду
- Д. Пропіонового альдегіду
- Е. Метанолу

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 6

1. **ТЕМА:** Контроль засвоєння змістовного модулю 1.

2. **МЕТА ЗАНЯТТЯ:** Визначити рівень засвоєння студентами основних положень і загальних закономірностей метаболізму.

3. ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ ДО ЗАНЯТТЯ

Введення в біохімію. Біохімічні компоненти клітин

1. Біологічна хімія як наука. Місце біохімії серед інших медико-біологічних дисциплін.
2. Об'єкти вивчення і завдання біохімії. Провідна роль біохімії у визначенні молекулярних механізмів патогенезу захворювань людини.
3. Зв'язок біохімії з іншими біомедичними науками. Медична біохімія. Клінічна біохімія. Біохімічна лабораторна діагностика.
4. Історія біохімії; розвиток біохімічних досліджень в Україні.
5. Біохімічні компоненти клітин, їх функції. Класи біомолекул. Ієрархія біомолекул, їх походження.

Ферменти і коферменти. Регуляція метаболізму.

1. Ферменти: визначення; властивості ферментів як біологічних каталізаторів.
2. Класифікація і номенклатура ферментів, характеристика окремих класів ферментів.
3. Будова і механізм дії ферментів. Активний і алостеричний (регуляторний) центри.
4. Кофактори і коферменти. Будова і властивості коферментів, вітаміни як попередники в біосинтезі коферментів.
5. Ізоферменти, особливості будови і функціонування, значення в діагностиці захворювань.
6. Механізми дії ферментів і кінетика ферментативних реакцій: залежність швидкості реакції від концентрації субстрату, рН і температури.
7. Регуляція ферментативних процесів. Активатори і інгібітори ферментів: приклади і механізми дії.
8. Типи інгібування ферментів: зворотне (конкурентне, неконкурентне) і незворотне інгібування.
9. Механізми регуляції алостеричних ферментів; ковалентна модифікація ферментів.
10. Загальне уявлення про ензимопатії і причини їх виникнення.
11. Ензимодіагностика патологічних процесів і захворювань.
12. Ензимотерапія – використання ферментів, їх активаторів і інгібіторів в медицині.
13. Принципи і методи визначення ферментів в біооб'єктах. Одиниці вимірювання активності ферментів.

3.1 ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ РОБІТ І ЗАВДАНЬ ДО ЗМІСТОВОГО МОДУЛЮ 1.

1. Якісні реакції на білки і амінокислоти: біуретова реакція, реакція Фоля, сульфосаліцилова проба. Принципи реакцій.
2. Кількісне визначення білка в сироватці крові біуретовим методом. Принцип методу, норма, клініко-діагностичне значення.
3. Поясніть основні принципи вивчення дії ферментів на прикладі амілази слини (використання йодної проби на крохмаль і реакції Троммера).
4. Доведіть білкову природу ферментів біуретовою реакцією, реакцією Фоля, сульфосаліциловою пробєю. Поясніть принципи методів.
5. Поясніть термолабільність ферментів на прикладі вивчення цієї властивості у амілази слини. Накресліть графік залежності активності ферменту від температури середовища.
6. Накресліть графік залежності активності ферменту від рН середовища за наслідками визначення активності амілази слини. Поясніть його.
7. Доведіть відносну специфічність амілази слини. Які ще види специфічності характерні для ферментів?
8. Поясніть вплив модуляторів на активність ферментів на прикладі зміни активності амілази слини в присутності натрію хлориду і купрум (II) сульфату.
9. Вивчення впливу концентрації ферменту (амілази слини) на швидкість ферментативної реакції. Принцип методу
10. Визначення активності діастази (амілази) сечі. Принцип методу, норма і клініко-діагностичне значення.
11. Визначення активності холінестерази сироватки крові. Принцип методу, норма і клініко-діагностичне значення.
12. Принцип методу вивчення активності сукцинатдегідрогенази м'язів. Вкажіть локалізацію цього ферменту циклу Кребса в мітохондріях.
13. Інгібування сукцинатдегідрогенази м'язів малою кислотою. Назвіть тип інгібування. Яким чином можна позбавитися від негативної дії малою кислоти? Накресліть графік залежності активності сукцинатдегідрогенази від концентрації субстрату без малою кислоти і в її присутності.

4. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть одиницю активності ферменту, яка визначається кількістю ферменту, що перетворює 1 моль субстрату за 1 секунду в оптимальних умовах:

- A. Катал
- B. Стандартна міжнародна одиниця
- C. Умовна одиниця
- D. Число оборотів

Е. Молярна активність

2. Укажіть метод досліджень, який використовується для виділення ферментативних систем окремих субклітинних фракцій з гомогенату тканини:

- А. Діаліз
- В. Ізоелектричне фокусування
- С. Диференційне центрифугування
- Д. Якісний аналіз
- Е. Рентгеноструктурний аналіз

3. Укажіть фермент, активність якого слід визначати в сечі пацієнта при гострому панкреатиті:

- А. Амілаза
- В. Протеїназа
- С. Холінестераза
- Д. Лейцинамінопептидаза
- Е. Лужна фосфатаза

4. Для оцінки ступеню поразки паренхіми печінки у пацієнтів використовують тест визначення:

- А. Концентрації ізоформ ЛДГ₁ і ЛДГ₂ плазми крові
- В. Активності холінестерази плазми крові
- С. Активності амілази сечі
- Д. Концентрації ізоформи ЛДГ₃ плазми крові
- Е. Активності кислої фосфатази

5. Укажіть клас ферменту, який каталізує тип хімічної реакції:



- А. Ліази
- В. Лігази
- С. Оксидоредуктази
- Д. Трансферази
- Е. Гідролази

6. Укажіть ізоформи лактат-дегідрогенази (ЛДГ), концентрація яких збільшується у плазмі крові пацієнтів з інфарктом міокарду:

- А. ЛДГ₁ і ЛДГ₂
- В. ЛДГ₃, ЛДГ₄
- С. Тільки ЛДГ₃
- Д. ЛДГ₄ і ЛДГ₅
- Е. Тільки ЛДГ₅

7. Укажіть фермент, активність якого визначають у плазмі крові пацієнтів з патологіями кісткової тканини:

- А. Пепсин
- В. Трипсин
- С. Амілаза
- Д. Кисла фосфатаза
- Е. Лужна фосфатаза

8. Укажіть фермент, активність якого стійко знижується при хворобі Боткіна:

- A. Пепсин
- B. Холінестераза
- C. Амілаза
- D. Кисла фосфатаза
- E. Лужна фосфатаза

9. Укажіть фермент плазми крові, який використовують у терапевтичній практиці для зниження кров'яного тиску:

- A. Ізоформа ЛДГ₁
- B. Трипсин
- C. Хімотрипсин
- D. Холінестераза
- E. Калікреїн

10. Укажіть патологію, при якій значення активності амілази сечі зростає в десять і більш разів:

- A. Вірусний гепатит
- B. Гострий панкреатит
- C. Хронічний холецистит
- D. Інфаркт міокарду
- E. Цукровий діабет

4.1. ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Виділяють декілька груп молекулярних механізмів, які відіграють важливу роль у патогенезі ушкодження клітин, що сприяє розвитку патології. Які процеси забезпечують протейнові механізми ушкодження?

- A. Осмотичне розтягнення мембран
- B. Пригнічення ферментів
- C. Активація фосфоліпаз
- D. Ацидоз
- E. Перекисне окислення ліпідів

2. У крові хворого виявлено підвищення активності ізоферментів лактатдегідро-генази ЛДГ₄, ЛДГ₅, аланін-амінотрансферази (АЛАТ), карбамоїлорнітинтрансферази. В якому органі можливо передбачити розвиток патологічного процесу?

- A. Серцевий м'яз (можливий інфаркт міокарду)
- B. Нирки
- C. Скелетні м'язи
- D. Сполучна тканина
- E. Печінка (можливий гепатит)

3. У слині знаходиться фермент, який має сильну бактерицидну дію завдяки здатності руйнувати пептидоглікани бактеріальної стінки.

Вкажіть цей фермент:

- A Лізоцим (мурамідаза)
- B Альфа-амілаза
- C Трипсин
- D Фосфатаза
- E Рибонуклеаза

4. Хвора 46-ти років довгий час страждає від прогресуючої м'язової дистрофії (дистрофія Дюшена). Зміна рівня активності якого ферменту плазми крові є діагностичним тестом у даному випадку?

- A Креатинфосфокінази
- B Лактатдегідрогенази
- C Піруватдегідрогенази
- D Глутаматдегідрогенази
- E Аденілаткінази

5. Захисна функція слини зумовлена декількома механізмами, в тому числі присутністю ферменту, який має бактерицидну дію, викликаючи лізис полісахаридного комплексу оболонки стафілококів, стрептококів.

Вкажіть цей фермент:

- A Лізоцим
- B Альфа-амілаза
- C Оліго-1,6-глюкозидаза
- D Коллагеназа
- E Бета-глюкуронідаза

6. У хворого виявлено підвищення активності ЛДГ₁ і ЛДГ₂, АсАТ, креатин-фосфокінази. У якому (яких) органі (органах) є найбільш вірогідним розвиток патологічного процесу?

- A У серцевому м'язі (початкова стадія інфаркту міокарда)
- B У скелетному м'язі (дистрофія, атрофія)
- C У нирках і наднирниках
- D У сполучній тканині
- E У печінці та нирках

7. Хворому поставлений попередній діагноз: інфаркт міокарду. Характерною особливістю даного захворювання є істотне підвищення активності:

- A Креатинфосфокінази
- B Каталази
- C Глюкозо-6-Ф-дегідрогенази
- D Альфа-амілази
- E Аргінази

8. При дослідженні крові хворого виявлено значне підвищення активності МВ-ізоформи КФК (креатинфосфо-кінази) і ЛДГ₁. Зробіть припущення щодо можливої патології:

- A Інфаркт міокарда
- B Гепатит
- C Ревматизм

- D Панкреатит
- E Холецистит

9. При патологічних процесах, що супроводжуються гіпоксією, відбувається відновлення молекул кисню в дихальному ланцюзі до пероксиду водню. Вкажіть фермент, який забезпечує руйнування даної цитотоксичної речовини:

- A Каталаза
- B Цитохромоксидаза
- C Сукцинатдегідрогеназа
- D Альфа-кетоглутаратдегідро-геназа
- E Аконітаза

10. На основі клінічних даних хворому поставлений діагноз - гострий панкреатит. Вкажіть біохімічний тест, який підтвердить цей діагноз. Це визначення:

- A Активності амілази крові
- B Активності кислої фосфатази крові
- C. Активності лужної фосфат-ази крові
- D Активності амінотрансфераз крові
- E Рівня креатиніну в крові

11. У відділення реанімації госпіталізований чоловік 47 років з діагнозом - інфаркт міокарду. Яка з фракцій лактатдегідрогенази (ЛДГ) буде вища за концентрацією в крові перші дві доби?

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

12. У відділення інтенсивної терапії доставили жінку 50-ти років з діагнозом інфаркт міокарду. Активність якого ферменту в плазмі крові хворої буде значно підвищена в перші дві доби?

- A Аспартатамінотрансферази
- B Аланінамінотрансферази
- C Аланінамінопептидази
- D ЛДГ₄
- E ЛДГ₅

13. У хворого через 12 годин після гострого нападу за грудинного болю виявили різке підвищення активності АСТ у сироватці крові. Вкажіть патологію, при якій відбуваються такі зміни в крові:

- A Інфаркт міокарду
- B Вірусний гепатит
- C Колагенози
- D Цукровий діабет
- E Нецукровий діабет

14. У юнака 18 років з ураженням паренхіми печінки в сироватці крові найбільш ймовірно збільшений рівень активності:

- A Аланінамінотрансферази
- B Лактатдегідрогенази 1
- C Креатинкінази
- D Кислої фосфатази
- E Альфа-амілази

15. У сироватці крові хворого виявлена висока активність ізоферменту ЛДГ₁. Патологічний процес в якому органі має місце?

- A Серце
- B Печінка
- C Скелетні м'язи
- D Підшлункова залоза
- E Нирки

16. Діагностичним тестом при гострих панкреатитах є визначення в сечі активності такого ферменту:

- A Амілази
- B Лактатдегідрогенази
- C Креатинкінази
- D Альдолази
- E Аланінамінопептидази

17. Хворого доставили в стаціонар з попереднім діагнозом гострий панкреатит. Активність якого ферменту потрібно досліджувати в крові та сечі для підтвердження попереднього діагнозу?

- A Альфа-амілази
- B АЛАТ
- C АсАТ
- D Лактатдегідрогенази
- E Холінестерази

18. Активність яких ферментів слід визначати з діагности-чною та прогностичною метою, якщо в клініку поступив хворий з патологією серцевого м'яза?

- A Креатинкінази, АЛТ, АСТ
- B. Аргінази, пептидази, фосфат-ази
- C Лізоциму, цитратсинтази, альдолази
- D Нейрамінідази, гексокінази, піруваткінази
- E ПДГ, МДГ, ІДГ, КГДГ

19. У хворого на гострий панкреатит при аналізі крові і сечі виявлено високу активність одного з зазначених ферментів:

- A Альфа-амілази
- B Пепсину
- C Дипептидази
- D Сахарази
- E Лактази

20. Назвіть фермент, визначення активності якого є найбільш інформативним тестом в перші години розвитку інфаркту міокарду:

- A Креатинфосфокиназа

- В Аспаратамінотрансфераза
- С Аланінамінотрансфераза
- Д Лактатдегідрогеназа
- Е Глутаматдегідрогенази

21. У хворого гострий панкреатит. Які препарати повинен призначити хворому лікар, щоб уникнути аутолізу підшлункової залози?

- А Інгібітори протеаз
- В Активатори протеаз
- С Трипсин
- Д Хімотрипсин
- Е Амілаза

22. У хворого геморагічний інсульт. У крові хворого підвищена концентрація кінинів. Лікар призначив хворому препарат контрікал. Для інгібування якої протеїнази було зроблено лікарем дане призначення препарату?

- А Калікреїну
- В Пепсину
- С Трипсину
- Д Хімотрипсину
- Е Колагенази

5. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

Змістовий модуль 2:

Метаболізм вуглеводів. Обмін речовин та енергії. Основи молекулярної біології

ЗАНЯТТЯ № 7

1. ТЕМА: Перетравлення та всмоктування поживних речовин у шлунково-кишковому тракті.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Перетравлення поживних речовин (білків, вуглеводів, ліпідів) – це процес гідролізу відповідних сполук у складі продуктів харчування, що відбувається у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) і призводить до утворення простих біомолекул, які за рахунок дії спеціальних механізмів мембранного транспорту всмоктуються у кров. Процес травлення відбувається за допомогою ферментів ШКТ, які утворюються з проферментів шляхом часткового протеолізу. Ферменти травлення характеризуються специфічністю та рН оптимумом дії.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичні основи процесів перетравлення білків, вуглеводів, ліпідів у ШКТ. Вміти проводити кількісне визначення пепсину, показників кислотності шлункового соку; якісно визначати наявність патологічних компонентів в ньому (лактат, кров'яні пігменти); жовчні кислоти.

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Хімічний склад поживних речовин і їх значення для організму. Критерії біологічної цінності поживних речовин (вуглеводів, ліпідів, білків, мікро- і макроелементів) для людини.
2. Добова потреба та перетравлення вуглеводів. Ферменти перетравлення вуглеводів: локалізація, оптимум рН і специфічність дії. Спадкова недостатність лактази.
3. Кінцеві продукти перетравлення вуглеводів і механізм їхнього всмоктування в тонкому кишечнику.
4. Добова потреба та перетравлення ліпідів. Ферменти перетравлення ліпідів: локалізація синтезу, активація проферментів, оптимум рН і специфічність дії активних форм ферментів.
5. Роль жовчних кислот у перетравленні та всмоктуванні ліпідів. Стеаторея: види (панкреатична, гепатогенна, ентерогенна), причини виникнення, діагностика.
6. Позитивний та негативний азотистий баланси. Добова потреба білків. Ферменти перетравлення білків: локалізація синтезу та активації проферментів, оптимум рН і специфічність дії активних форм ферментів.
7. Механізми всмоктування амінокислот.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 7

Дата

1. Кількісне визначення пепсину шлункового соку.

Принцип методу:

Пепсин - протеолітичний фермент, який здатний гідролізувати білки при рН 1,5-2,5, а при рН 5,0 – звурджувати казеїноген молока за рахунок перетворення його в казеїн (при цьому відбувається гідроліз пептидних зв'язків).

За одиницю активності пепсину приймають таку його кількість, яка звурджує 5 мл молочно-ацетатної суміші (МАС) при рН 5,0 (суміш рівних об'ємів молока й 1 N ацетатного буферу рН 5,0) при температурі 25 °С за 60 секунд (100 одиниць по П'ятницькому відповідає 1 мг ферменту).

У нормі активність пепсину шлункового соку 20-40 од/мл (0,2-0,4 мг/мл, або 0,2-0,4 г/л).

Хід роботи:

У чисту суху пробірку мікропіпеткою відміряти 0,1 мл шлункового соку. В іншу пробірку відміряти 5 мл МАС (рН 5,0) і на водяній бані (+25 °С) підігріти. Потім влити МАС у пробірку зі шлунковим соком і одночасно включити секундомір. Перемішуючи пробірку з реакційною сумішшю, слід стежити за появою пластівців казеїну на стінках пробірки. У момент їхньої появи виключити секундомір і записати час звурдження.

Розрахунок активності пепсину:

Якщо при активності 1 од/мл звурдження повинне відбуватися за 60 секунд, то шукана активність дорівнює:

$$X = \frac{60 \times 10}{t}, \text{ де}$$

X – активність пепсину, од/мл;

60 секунд – стандартний час звурдження;

t – отриманий час звурдження (у сек);

10 – розрахунок на 1 мл шлункового соку.

Розрахувати активність в одиницях активності і в мг/мл.

Результат:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

При ахілії пепсин у шлунковому соці може повністю бути відсутнім, а при виразковій хворобі шлунка кількість пепсину різко збільшена.

2. Кількісне визначення показників кислотності шлункового соку в нормі та при патології.

Принцип методу:

При визначенні кислотності шлункового соку розрізняють загальну кислотність, загальну соляну кислоту, вільну й зв'язану соляну кислоту. Під загальною кислотністю шлункового соку розуміють суму всіх кислотреагуючих речовин.

Загальну кислотність шлункового соку вимірюють у мл 0,1н розчину NaOH, витраченого на нейтралізацію 1000 мл шлункового соку в присутності індикатора фенолфталеїну (зона переходу рН 8,3-10,0; нижче 8,2 – безбарвний; вище 10,0 – червоний).

Вміст вільної соляної кислоти в шлунковому соці вимірюють у мл 0,1н розчину NaOH, витраченого на нейтралізацію 1000 мл шлункового соку в присутності індикатора диметиламіноазобензолу (зона переходу рН 2,9-4,0; нижче 2,9 – рожево-червоний, вище 4,0 – жовтий). Вільна соляна кислота майже вся відтитровується при рН 3,0; при цьому забарвлення диметиламіноазобензолу змінюється від рожево-червоного до жовтогарячого. Слабкі кислоти (наприклад, молочна), кислі фосфати або зв'язана соляна кислота при рН 2,9-4,0 перебувають у розчині в недиссоційованому стані та у реакцію з лугом не вступають.

Соляна кислота, названа "зв'язаною", перебуває в солевидному стані з білками та продуктами їхнього перетравлення. **Зв'язана соляна кислота шлункового соку** визначається титруванням окремої порції шлункового соку 0,1н розчином NaOH у присутності індикатора натрію алізарінсульфонату, жовтий колір якого переходить у фіолетовий (зона переходу).

Загальна соляна кислота - сума вільної та зв'язаної кислоти.

Хід роботи:

Визначення проводиться титруванням із двома індикаторами: диметиламіноазобензолом і фенолфталеїном.

Відмірюють піпеткою в колбочку 5 мл відфільтрованого шлункового соку, додають 1 краплю диметиламіноазобензолу та 2 краплі фенолфталеїну. При наявності в шлунковому соці вільної соляної кислоти, розчин забарвлюється в червоний колір з рожевим відтінком; при відсутності її відразу з'являється жовте забарвлення. Титрують вільну соляну кислоту 0,1н розчином лугу з мікробюретки до появи жовтогарячого забарвлення.

Результат записують (1 оцінка). Не додаючи лугу в бюретку, продовжують титрування до появи лимонно-жовтого кольору та результат записують (2 оцінка від 1-ї мітки). Продовжують титрувати до появи рожевого забарвлення (3 оцінка від нуля).

Розрахунок:

$$X = \frac{y \times 1000 \times 0,1}{5}, \text{ де}$$

X – концентрація кислот у шлунковому соці, ммоль/л

y – об'єм 0,1н р-ну NaOH, що пішов на титрування, мл;

1000 – перерахування на 1 л;

5 – мл шлункового соку, узятото на аналіз;

0,1 – кількість мг-екв лугу в 1 мл 0,1н розчину NaOH

1-а оцінка відповідає кількості вільної соляної кислоти (див. розрахунок), 2-га використовується для визначення зв'язаної соляної кислоти, а остання оцінка відповідає загальній кислотності. Середнє арифметичне між 2-ю і 3-ю оцінкою вважають відповідним загальній соляній кислоті.

Зв'язану соляну кислоту можна визначити по різниці між вмістом загальної соляної кислоти та вільної.

У нормі загальна кислотність шлункового соку, взятого після пробного сніданку Боаса-Евальда, для дорослої людини коливається в межах 40-60 ммоль/л; у немовлят – 2,8 ммоль/л, у дітей у віці від 1 місяцю до 1 року – 4-20 ммоль/л.

Вміст вільної соляної кислоти коливається в нормі від 20 до 40 ммоль/л (у немовлят – 0,5 ммоль/л).

У нормі вміст зв'язаної соляної кислоти коливається від 10 до 20 ммоль/л.

Результат:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

При виразковій хворобі шлунка чи гіперацидному гастриті (з підвищеною секрецією) відбувається збільшення вмісту вільної соляної кислоти та загальної кислотності (гіперхлоргідрія).

При гіпоацидному гастриті (зі зниженою секрецією) або раку шлунка спостерігається зменшення кількості вільної соляної кислоти та загальної кислотності (гіпохлоргідрія).

При раку шлунка, хронічному гастриті відзначається повна відсутність соляної кислоти й значне зниження загальної кислотності (ахлоргідрія). При злоякісному неодокрів'ї й при раку шлунка можлива повна відсутність соляної кислоти й пепсину в шлунковому соці (ахілія).

3. Якісні реакції на молочну кислоту та кров'яні пігменти.

3.1. Реакція на молочну кислоту.

Принцип методу базується на реакції Уффельмана (здатності молочної кислоти давати жовто-зелене забарвлення з розчином фенолу в присутності FeCl₃).

Хід роботи:

У пробірку внести 20 крапель 1 % розчину фенолу, додати 2 краплі 1 % розчину FeCl_3 - розчин забарвлюється у фіолетовий колір Fe (III) феноляту. Додати по краплях шлунковий сік. При наявності молочної кислоти фіолетове забарвлення переходить у жовто-зелене за рахунок утворення Fe (III) лактату.

Спостереження:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Молочна кислота, як правило, з'являється в шлунковому соці при захворюваннях, що супроводжуються гіпо- і ахлоргідрією (гастрити, рак шлунка).

3.2. Визначення крові в шлунковому соці бензидиновою пробою.

Принцип методу:

Реакція базується на окисленні бензидину атомарним киснем, що вивільнюється з пероксиду водню під дією пероксидази крові.

Хід роботи:

У пробірку налити 20 крапель шлункового соку, додати 20 крапель оцтовокислого розчину бензидину та 3-4 краплі H_2O_2 (пероксиду водню). При наявності крові у шлунковому соці з'являється синьо-зелене забарвлення.

Спостереження:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Кров'яні пігменти можуть попадати в шлунковий сік при ураженнях стінок шлунка (виразка, рак шлунка).

4. Якісна реакція на жовчні кислоти.

Принцип методу:

Жовчні кислоти при взаємодії з оксиметилфурфуролом (що утвориться з тростинного цукру під дією конц. H_2SO_4) дають червоно-фіолетове забарвлення.

Хід роботи:

Під суху чашку Петрі підкласти аркуш білого паперу, нанести на чашку 2 краплі жовчі, 2 краплі 20 % розчину сахарози та ретельно перемішати скляною паличкою, а потім під тягою долити 7 крапель конц. H_2SO_4 й перемішати цією ж скляною паличкою. Через 2-3 хвилини спостерігається червоне забарвлення, що через деякий час переходить у червоно-фіолетове.

Спостереження:**Висновки:****4.3. САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ**

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ**1. Укажіть активатор пепсиногену:**

- A. NaCl
- B. HCl
- C. CuSO_4
- D. NH_4Cl
- E. BaCl_2

2. Укажіть механізм активації пепсиногену:

- A. Денатурація
- B. Взаємодія з муцином
- C. Частковий протеоліз з N-кінця
- D. Частковий протеоліз із C-кінця
- E. Взаємодія з реніном

3. Дайте назву патологічному стану організму людини при відсутності секреції HCl і пепсиногену:

- A. Ахілія
- B. Діабет
- C. Кретинізм
- D. Диспепсія
- E. Деменція

4. Укажіть активатор трипсиногену:

- A. Карбоксипептидаза
- B. Амінопептидаза
- C. Ентерокіназа
- D. Еластаза

Е. Дипептидаза

5. Укажіть кінцевий продукт "гниття" триптофану у товстому кишечнику:

А. Фенол

В. Бензойна кислота

С. Індол

Д. Меркаптан

Е. Сірководень

6. У шлунково-кишковому тракті відбувається перетравлення глікогену, що надійшов з їжею. Назвіть кінцевий продукт даного процесу:

А. Галактоза

В. Фруктоза

С. Лактат

Д. Глюкоза

Е. Лактоза

7. Виявлено, що в шлунково-кишковому тракті людини відсутній фермент, який сприяє перетравленню целюлози. Виберіть цей фермент:

А. β -Амілаза

В. β -Глікозидаза

С. γ -Амілаза

Д. Аміло-1,6-глікозидаза

Е. Оліго-1,6-глікозидаза

8. Укажіть зв'язки в крохмалі, що розщеплюються під дією β -амілази:

А. β -1,3-Глікозидні

В. β -1,4-Глікозидні

С. β -2,4-Глікозидні

Д. β -1,6-Глікозидні

Е. β -1,5-Глікозидні

9. Виберіть ферменти, що розщеплюють фосфоліпіди:

А. Панкреатична ліпаза

В. Моногліцеридліпаза

С. Лізофосфоліпаза

Д. Кишкова ліпаза

Е. Фосфоліпази А₁, А₂, С, D

10. Укажіть роль жовчних кислот у процесі перетравлення ліпідів:

А. Розщеплення жиру

В. Всмоктування гліцерину

С. Активація панкреатичної ліпази

Д. Всмоктування жирних кислот з коротким вуглецевим ланцюгом

Е. Розщеплення стеридів

5.1. ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. В добовому раціоні дорослої здорової людини мають бути жири, білки, вуглеводи, вітаміни, мінеральні солі та вода. Вкажіть кількість білка (у грамах), що забезпечує нормальну життєдіяльність організму.

- A. 40 - 50
- B. 70 -80
- C. 50 - 60
- D. 100 -120
- E. 10 – 20

2. При обстеженні чоловіка 45 років, який тривало перебуває на вегетаріанській рослинній дієті, виявлено негативний азотистий баланс. Яка особливість раціону стала причиною цього?

- A. Надмірна кількість води
- B. Недостатня кількість білків
- C. Недостатня кількість жирів
- D. Недостатня кількість вітамінів
- E. Надмірна кількість вуглеводів

3. У жінки 30 років виявлена недостатність функції підшлункової залози. Гідроліз яких поживних речовин буде порушений?

- A. Жири, вуглеводи
- B. Білки
- C. Білки, жири
- D. Білки, жири, вуглеводи
- E. Білки, вуглеводи

4. Після прийому жирної їжі у хворого з'являються нудота і печія, має місце стеаторея. Причиною такого стану може бути:

- A. Недостатність амілази
- B. Підвищене виділення ліпази
- C. Порушення синтезу фосфоліпази
- D. Порушення синтезу трипсину
- E. Недостатність жовчних кислот

5. Хворий відзначає часті проноси, особливо після вживання жирної їжі, втрату маси тіла. Лабораторні дослідження показали наявність стеатореї; кал гіпохолічний. Що може бути причиною такого стану?

- A. Незбалансована дієта
- B. Обтурація жовчних шляхів
- C. Запалення слизової оболонки тонкої кишки
- D. Недолік панкреатичної фосфоліпази
- E. Недолік панкреатичної ліпази

6. У хворого через наявність каменя у загальній жовчній протоці припинилося надходження жовчі в кишечник. Порушення якого з процесів спостерігається при цьому?

- A. Перетравлення жирів

- В. Всмоктування білків
- С. Перетравлення білків
- Д. Перетравлення вуглеводів
- Е. Всмоктування вуглеводів

7. Глікоген, що поступив з їжею, гідролізувався в шлунково-кишковому тракті. Який кінцевий продукт утворився цього процесу?

- А. Галактоза
- В. Фруктоза
- С. Лактат
- Д. Глюкоза
- Е. Лактоза

8. У хворого, що тривало страждає хронічним ентероколітом, після вживання молока виникли метеоризм, діарея, коліки. З недоліком якого ферменту в кишечнику це пов'язано?

- А. Амілаза
- В. Мальтаза
- С. Сахараза
- Д. Глікогенсинтетаза
- Е. Лактаза

9. У лікарню поступив чоловік 40 років, якому був поставлений діагноз хронічний гіпоацидний гастрит. Порушення перетравлення яких нутрієнтів є характерною ознакою даної патології?

- А Крохмалю
- В Фосфоліпідів
- С Білків
- Д Холестерину
- Е Триацилгліцеридів

10. Після годування новонародженого молоком матері у дитини спостерігалася блювота, метеоризм, пронос. Про спадкову недостатність якого ферменту слід думати?

- А Оліго-1 ,6-глюкозидази
- В Мальтази
- С Ізомерази
- Д Лактази
- Е Пепсин

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 8

1. ТЕМА: Анаеробне окислення глюкози - гліколіз. Біосинтез глюкози - глюконеогенез.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Знання особливостей метаболізму вуглеводів у тканинах людини для майбутнього лікаря надзвичайно важливі. Вони дозволяють зрозуміти специфіку процесу обміну вуглеводів як за умов норми (фізіологічний стан), так і при патології, яка супроводжується змінами в обміні вуглеводів (цукровий діабет, захворювання печінки та ін.).

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити шляхи катаболізму моносахаридів в клітинах, глюконеогенез, процеси отримання енергії при фізичному навантаженні, а також взаємозв'язок і регуляцію гліколізу та глюконеогенезу в організмі.

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Будова і класифікація вуглеводів.
2. Травлення та всмоктування вуглеводів у шлунково-кишковому тракті. Біологічна роль вуглеводів.
3. Шляхи внутрішньоклітинного катаболізму моносахаридів; аеробне та анаеробне окислення глюкози, загальна характеристика процесів.
4. Анаеробне окислення глюкози – гліколіз: послідовність ферментативних реакцій, біологічна роль, локалізація в організмі і клітині.
5. Гліколітична оксидоредукція, субстратне фосфорилування в гліколізі. Енергетичний баланс анаеробного окислення глюкози.
6. Регуляція гліколізу. Ключові ферменти процесу.
7. Спиртове і інші види бродіння.
8. Біосинтез глюкози – глюконеогенез: субстрати, ключові ферменти, реакції, внутрішньомолекулярна локалізація, фізіологічне значення процесу. Балансне рівняння утворення глюкози з пірувату. Енергетичне забезпечення глюконеогенезу.
9. Метаболічна і гормональна регуляція глюконеогенезу.
10. Взаємозв'язок і реципрокна (взаємна) регуляція гліколізу і глюконеогенезу в організмі. Глюкозо-лактатний (цикл Корі) і глюкозо-аланіновий цикли.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 8

Дата

Визначення молочної кислоти у м'язах. Реакція Уффельмана.

Принцип методу:

Метод заснований на реакції Уффельмана (здатності молочної кислоти давати жовто-зелене забарвлення з розчином фенолу в присутності FeCl_3 (хлорне залізо)).

Хід роботи:

1 г м'язів подрібнюють і розтирають 3 хвилини у ступці з невеликою кількістю кварцового піску, додають 5 крапель води до одержання гомогенної маси. Потім доливають 3 мл води, перемішують і фільтрують крізь змочену водою вату.

Готують реактив Уффельмана: у пробірку вносять 20 крапель 1% розчину фенолу, додають 2 краплі 1% розчину $FeCl_3$ - розчин забарвлюється у фіолетовий колір комплексу ферум (III) феноляту. Потім до реактиву Уффельмана додають 15 крапель фільтрату. У присутності молочної кислоти фіолетове забарвлення рідини переходить у жовто-зелене за рахунок утворення лактатного комплексу. Для порівняння проводять реакцію Уффельмана, використовуючи замість фільтрату розчин молочної кислоти.

Результат:

Висновки:

4.3. САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Після інтенсивного фізичного тренування у спортсмена активується глюконеогенез у печінці. Укажіть основний субстрат цього процесу:

- A. Серин
- B. Лактат
- C. α -Кетоглутарат
- D. Аспарагінова кислота
- E. Глутамінова кислота

2. У гліколізі бере участь ряд алостеричних ферментів. Укажіть, який з них каталізує перетворення глюкози в глюкозо-6-фосфат:

- A. Гексокіназа
- B. Піруваткіназа
- C. Лактатдегідрогеназа
- D. Кисла фосфатаза
- E. Лужна фосфатаза

3. У дитини з ознаками анемії лабораторно встановлений дефіцит піруваткінази в еритроцитах. Назвіть, який процес в еритроцитах при цьому порушений:

- A. Окисне фосфорилування

- В. Тканинне дихання
- С. Анаеробний гліколіз
- D. Розпад пероксидів
- Е. Дезамінування амінокислот

4. Назвіть фермент, який каталізує реакцію утворення глюкозо-6-фосфату з глюкози в печінці:

- A. Гексозофосфатізомераза
- В. Глюкокіназа
- С. Піруваткіназа
- D. Глюкозо-6-фосфатаза
- Е. Фосфоглюкомутаза

5. Виберіть правильне визначення поняття "глюконеогенез":

- A. Синтез глікогену з глюкози
- В. Утворення глюкози з глікогену
- С. Синтез глюкози з неуглеводних компонентів
- D. Синтез глікогену з проміжних продуктів метаболізму
- Е. Синтез глюкози з інших моносахаридів

6. Виберіть сполуку, яка може бути субстратом у процесі глюконеогенезу:

- A. Глікоген
- В. Глюкоза
- С. Піруват
- D. Фруктоза
- Е. Галактоза

7. Виберіть головний регуляторний фермент гліколізу:

- A. Фосфофруктокіназа
- В. Фосфорилаза
- С. Лактатдегідрогеназа
- D. Сукцинатдегідрогеназа
- Е. Піруваткіназа

8. Виберіть фермент, який каталізує незворотну реакцію гліколізу:

- A. Піруваткіназа
- В. Альдолаза
- С. Фосфогліцераткіназа
- D. Гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа
- Е. Тріозофосфатізомераза

9. Укажіть кінцеві продукти анаеробного гліколізу:

- A. CO_2 і H_2O
- В. Оксалоацетат
- С. Малат
- D. Піруват
- Е. Лактат

10. Назвіть сполуку, яка включається в реакцію субстратного фосфорилювання в ході гліколізу:

- A. Глюкозо-6-фосфат
- B. Фосфоенолпіруват
- C. Фруктозо-1,6-дифосфат
- D. Гліцеральдегід-3-фосфат
- E. 2-Фосфогліцерина кислота

5.1. ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. У клініку доставили пацієнта з ознаками гострого алкогольного отруєння. Які зміни вуглеводного обміну характерні для цього стану?

- A. В печінці знижується швидкість глюконеогенезу
- B. У м'язах посилюється аеробний розпад глюкози
- C. У печінці посилюється глюконеогенез
- D. У м'язах переважає анаеробний розпад глюкози
- E. У печінці посилюється розпад глюкози

2. Через деякий час після інтенсивного фізичного тренування у спортсмена активується глюконеогенез, основним субстратом якого є:

- A. Лейцин
- B. Оксалоацетат
- C. Лізин
- D. Глікоген
- E. Ацетил-КоА

3. Унаслідок тривалого голодування в організмі людини швидко зникають резерви вуглеводів. Який процес метаболізму підтримує вміст глюкози у крові?

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

4. Через деякий час після інтенсивного фізичного тренування у спортсмена активується глюконеогенез. Що є його основним субстратом?

- A. Аспарагінова кислота
- B. Серин
- C. α -кетоглутарат
- D. Глутамінова кислота
- E. Лактат

5. У хворого, який проходить курс лікувального голодуванням, нормальний рівень глюкози підтримується за рахунок глюконеогенезу. З якої амінокислоти в печінці людини найбільш активно синтезується глюкоза?

- A. Лізин
- B. Аланін
- C. Глутамінова кислота
- D. Лейцин
- E. Валін

6. У цитоплазмі міоцитів розчинена велика кількість метаболітів окислення глюкози. Назвіть один з них, що безпосередньо перетворюється в лактат:

- A. Оксалоацетат
- B. Піруват
- C. Фруктозо-6-Фосфат
- D. Глюкозо-6-Фосфат
- E. Гліцєрофосфат

7. У дівчинки 7 років ознаки анемії. Лабораторно встановлено дефіцит піруваткінази в еритроцитах. Порушення якого процесу відіграє основну роль у розвитку анемії у дівчинки?

- A. Анаеробний гліколіз
- B. Окисне фосфорилування
- C. Дезамінування амінокислот
- D. Розщеплення перекисів
- E. Тканинне дихання

8. У людей після довгого фізичного навантаження виникають інтенсивні болі у м'язах. Які зміни у м'язах є найбільш вірогідною причиною цього?

- A. Накопичення молочної кислоти
- B. Накопичення креатиніну
- C. Посилений розпад білків
- D. Підвищена збудливість
- E. Підвищений вміст АДФ

9. Під час бігу на короткі дистанції у нетренованої людини виникає м'язова гіпоксія. До накопичення якого метаболіта у м'язах це приводить?

- A. Ацетил-КоА
- B. Оксалоацетат
- C. Кетонові тіла
- D. Лактат
- E. Глюкозо-6-фосфат

10. В експерименті було показано, що при саркомі Йенсена споживання глюкози з прівідної пухлини артерії значно збільшується, має місце також приріст вмісту молочної кислоти в відвідній вені. Про що свідчить дане явище?

- A. Посилення анаеробного гліколізу
- B. Посилення окисних процесів
- C. Посилення окислення білків
- D. Зменшення окислювальних процесів
- E. Зменшення анаеробного гліколізу

11. При нестачі кровообігу в період інтенсивної м'язової роботи в м'язі в результаті анаеробного гліколізу накопичується молочна кислота. Яка її подальша доля?

- A. Використовується в тканинах для синтезу жирних кислот
- B. Включається до глюконеогенезу печінки
- C. Використовується в м'язі для синтезу амінокислот
- D. Видаляється через нирки з сечею
- E. Використовується в тканинах для синтезу кетонових тіл

12. Після тривалого фізичного навантаження під час занять фізкультурою у студентів розвинулася м'язова кріпатура. Причиною її виникнення стало накопичення в скелетних м'язах молочної кислоти. Вона утворилася після активації в організмі студентів:

- A. Гліколізу
- B. Глюконеогенезу
- C. Ліполізу
- D. Глікогенеза
- E. Пентозофосфатного циклу

13. При голодуванні м'язові білки розпадаються до вільних амінокислот. У який процес найбільш ймовірно будуть втягуватися ці сполуки за таких умов?

- A. Декарбоксілювання
- B. Глюконеогенез у печінці
- C. Глікогеноліз
- D. Глюконеогенез в м'язах
- E. Синтез вищих жирних кислот

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 9

1. ТЕМА : Аеробне окислення вуглеводів. Пентозофосфатний шунт.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: 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 лікаря 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. Стадії аеробного окислення глюкози.
2. Окислювальне декарбоксілювання піровиноградної кислоти (ферменти, коферменти, послідовність реакцій, регуляція функціонування піруват-дегідрогеназного комплексу).
3. Взаємовідношення анаеробного і аеробного шляхів окислення вуглеводів в клітині, ефект Пастера.
4. Окислення цитозольного НАДН в мітохондріях. Човникові механізми окислення гліколітичного НАДН (гліцерофосфатний, малат-аспартатний).
5. Порівняльна характеристика біоенергетики аеробного і анаеробного окислення глюкози.
6. Пентозофосфатний шлях окислення глюкози: схема та біологічна роль окислювальної фази. Неокислювальна фаза процесу, її взаємовідношення з гліколізом. Спадкове порушення глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази еритроцитів.
7. Метаболізм фруктози і галактози в організмі людини та його порушення.

4.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 12

Дата

1. Кількісне визначення піровиноградної кислоти в сечі.

Принцип методу:

Піровиноградна кислота (ПВК), при взаємодії з 2,4-динітрофенілгідразином у лужному середовищі утворює гідразони ПВК жовто-помаранчевого кольору, інтенсивність забарвлення яких пропорційна концентрації пірувату.

Хід роботи:

Контрольна й дослідна проби ставляться одночасно (працюють з сухими пробірками, піпетками й кюветами). Беруть 2 пробірки, у контрольну наливають 1 мл дистильованої води, а в дослідну - 1 мл сечі. Потім в обидві пробірки доливають по 1 мл 2,5% спиртового розчину КОН, перемішують 1 хвилину і додають по 0,5 мл 0,1% розчину 2,4-динітрофенілгідразину, перемішують і залишають стояти на 15 хвилин при кімнатній температурі. Далі фотоколориметричним методом визначають оптичну щільність дослідної проби проти контролю в кюветах на 5 мм при світло-зеленому світлофільтрі. Отримане значення оптичної щільності використовують для знаходження за графіком вмісту ПВК (мкг) в 1 мл сечі.

Розрахунок проводять за формулою:

$$[\text{ПВК}] \text{ мг/доб} = \mathbf{a * 1,5} \text{ (або } \mathbf{1,2}),$$

де: **a** - показник ПВК за калібрувальним графіком; **1,5** (або **1,2**) - коефіцієнт, що враховує добовий діурез чоловіків (або жінок) і переведення мкг у мг.

Результат:

Висновки:

ДОДАТОК

Клініко-діагностичне значення: Вміст піровиноградної кислоти у сечі в нормі – 10-25 мг/доб (113,7-283,9 мкмоль/доб).

Збільшення вмісту ПВК спостерігається при: гіпо- або авітамінозі тіаміну (vit B₁) в організмі, цукровому діабеті, серцевій недостатності, гіперфункції гіпофізарно-адrenalової системи, великих фізичних навантажень, введенні деяких лікарських препаратів – камфори, стрихніну, адреналіну.

Зниження кількості ПВК спостерігається при наркозі.

2. Реакція Селіванова на фруктозу

Принцип методу:

При нагріванні фруктози (і інших кетогексоз) із соляною кислотою утворюється оксиметілфурфурол, що з резорцином дає сполуку, забарвлену у вишнево-червоний колір. З альдогексозами реакція протікає дуже повільно, на підставі чого можна вважати реакцію Селіванова специфічною для кетогексоз.

Хід роботи:

До 1 мл реактиву Селіванова додають 1-2 краплі розчину фруктози та нагрівають у киплячій водяній бані не більш 1 хвилини. Спостерігають вишнево-червоне забарвлення.

Реакція вважається позитивною, якщо забарвлення з'являється через 30-60 сек. При більш тривалому нагріванні можлива ізомеризація альдоз у кетози.

Результат:

Висновки:

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-фосфат-дегідрогенази

2. У хворого виявлений стан гіповітамінозу В₁. Назвіть фермент пентозофосфатного циклу, активність якого при цьому знижена:

- A. Транскетолаза
- B. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа
- C. Кетоізомераза
- D. Трансальдолаза
- E. Глюконолактонгідролаза

3. Другим етапом аеробного окиснення глюкози в клітині є окисне декарбоксилювання пірувату. Назвіть основний продукт цього процесу:

- A. Сукциніл-КоА
- B. Піруват
- C. Цитрат
- D. Оксалоацетат
- E. Ацетил-КоА

4. Розбіжність шляхів окислення глюкози в гліколізі і пентозофосфатному циклі починається з певної стадії. Виберіть її:

- A. Розщеплення фруктозо-1, 6-дифосфату
- B. Утворення пірувату
- C. Перетворення глюкозо-6-фосфату
- D. Утворення лактату
- E. Утворення фосфоенолпірувату

5. Виберіть сполуку, яка не утворюється в процесі окислювального декарбоксилювання пірувату:

- A. Ацетил-КоА
- B. CO₂
- C. НАДН
- D. Гліцерол-3-фосфат
- E. ФАДН₂

6. Назвіть метаболіт, що використовується в малат-аспартатній човниковій системі для переносу катіонів водню й електронів від цитозольної форми НАДН у мітохондріальний матрикс:

- A. Аспартат
- B. α-Кетоглутарат
- C. Глутамат
- D. Гліцерол-3-фосфат

Е. Малат

7. Укажіть кінцеві продукти аеробного перетворення глюкози в тканинах людини:

А. Лактат

В. Піруват

С. CO_2 і H_2O

Д. Малат

Е. Ацетон

8. Назвіть фермент, який каталізує перетворення пірувату в аеробних умовах:

А. Піруватдегідрогеназа

В. Лактатдегідрогеназа

С. Альдолаза

Д. Гексокіназа

Е. Триозофосфатдегідрогеназа

9. Пентозофосфатний шлях окислення вуглеводів є джерелом:

А. Жирних кислот і АТФ

В. Нуклеїнових кислот і ФАДН_2

С. Незамінних амінокислот і АТФ

Д. Замінних амінокислот і ФАДН_2

Е. Рибозо-5-фосфату і НАДФН

10. Укажіть локалізацію в клітинах тканин реакцій і ферментів пентозофосфатного шляху метаболізму глюкози:

А. Ядро

В. Мітохондріальний матрикс

С. Цитоплазматична мембрана

Д. Цитозоль

Е. Рибосоми

5.1 ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Під час бігу на довгі дистанції скелетна мускулатура використовує глюкозу для утворення макроергічної сполуки АТФ для забезпечення м'язового скорочення. Укажіть основний процес утилізації глюкози в цих умовах:

А. Анаеробний гліколіз

В. Глікогеноліз

С. Аеробний гліколіз

Д. Глюконеогенез

Е. Глікогенез

2. У дитини виявлено галактоземію. Концентрація глюкози в крові майже не змінилася. Нестача якого ферменту спричинила захворювання?

А. Гексокінази

- В. Фосфоглюкомутази
- С. Аміло-1,6-глюкозидази
- Д. Галактокінази
- Е. Галактозо-1-фосфат-уридилтрансферази

3. У хлопчика 2 років спостерігається збільшення печінки та селезінки, катаракта. В крові підвищена концентрація цукру, однак тест толерантності до глюкози у нормі. Спадкове порушення обміну якої речовини є причиною такого стану?

- А. Сахароза
- В. Мальтоза
- С. Глюкоза
- Д. Фруктоза
- Е. Галактоза

4. У немовляти спостерігається блювота і пронос, загальна дистрофія, гепато- і спленомегалія. Після припинення вигодовування молоком симптоми зменшуються. Який основний спадковий дефект буде спостерігатися у патогенезі?

- А. Гіперсекреція залоз зовнішньої секреції
- В. Порушення обміну фенілаланіну
- С. Порушення обміну галактози
- Д. Порушення обміну тирозину
- Е. Нестача глюкозо-6-фосфатдегідрогенази

5. У крові дитини виявлено високий вміст галактози, концентрація глюкози знижена. Спостерігається катаракта, розумова відсталість, розвивається жирове пере-родження печінки. Що це за хвороба?

- А. Галактоземія
- В. Фруктоземія
- С. Лактоземія
- Д. Стероїдний діабет
- Е. Цукровий діабет

6. У хворого 38 років після вживання аспірину і сульфаніламідів спостерігається посилений гемоліз еритроцитів, спричинений нестачою глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Порушенням утворення якого коферменту обумовлена ця патологія?

- А. ФАДН₂
- В. НАДФН
- С. Убіхінон
- Д. ФМНН₂
- Е. Піридоксальфосфат

7. У трирічної дитини з підвищеною температурою тіла після прийому аспірину спостерігається посилений гемоліз еритроцитів. Вроджена недостатність якого ферменту могла викликати у дитини гемолітичну анемію?

- А. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа
- В. Глюкозо-6-Фосфатаза

- C. γ - глутамілтрансфераза
- D. Глікогенфосфорилаза
- E. Гліцеролфосфатдегідрогеназа

8. У хворої дитини виявлена затримка розумового розвитку, збільшення печінки, погіршення зору. Лікар пов'язує ці симптоми з дефіцитом в організмі галактозо-1-фосфатуриї-ділтрансферази. Який патологічний процес є у дитини?

- A. Гіпоглікемія
- B. Галактоземія
- C. Гіперлактатацидемія
- D. Гіперглікемія
- E. Фруктоземія

9. У крові хворого виявлено велику кількість галактози, концентрація глюкози знижена. Відзначено розумову відсталість, помутніння кришталіка. Яке захворювання має місце?

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

6. **ЛІТЕРАТУРА** (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 10

1. ТЕМА: Загальні закономірності обміну речовин та енергії. Цикл трикарбонових кислот. Молекулярні основи біоенергетики (семінар).

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Обмін речовин у живій клітині тісно пов'язаний з обміном енергії. Більшість реакцій біосинтезу, функціонування систем іонного транспорту через клітинні мембрани та робота спеціалізованих внутрішньоклітинних структур є ендоенергетичними процесами. Порушення енергетичного обміну часто виступає в якості важливої ланки патогенезу цілого ряду захворювань. Тому і його корекція складає основу профілактики і лікування цих захворювань.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити біохімічні закономірності протікання обміну речовин та енергії. Вміти трактувати біохімічні закономірності функціонування, механізми регуляції та ключову роль ЦТК в обміні речовин та енергії. Вміти аналізувати порушення синтезу АТФ за умов дії на організм людини різних факторів.

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальні уявлення про метаболізм і обмін енергії в організмі. Катаболічні, анаболічні і амфіболічні шляхи метаболізму, їх взаємозв'язок.
2. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції. Макроергічні фосфати. АТФ, як універсальне джерело енергії в клітині.
3. Стадії катаболізму для екзогенних і ендогенних біомолекул в організмі. Загальні і специфічні шляхи катаболізму. Кінцеві продукти катаболічних шляхів в організмі людини.
4. Цикл трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса): внутрішньоклітинна локалізація і характеристика ферментів, послідовність реакцій, регуляція і біологічна роль. Енергетичний баланс ЦТК.
5. Реакції біологічного окислення: типи реакцій, ферменти (дегідрогенази, оксидази, оксигенази), значення. Сучасні уявлення про тканинне дихання. Стадії тканинного дихання.
6. Сучасні уявлення про структуру і функції мітохондрій.
7. Ферменти біологічного окислення в мітохондріях: піридинзалежні, флавінзалежні дегідрогенази, цитохроми.
8. Послідовність компонентів дихального ланцюга мітохондрій. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій. Утворення ендогенної води в мітохондріях. Продукти неповного відновлення кисню і їх детоксикація.
9. Окисне фосфорилування. Пункти сполучення транспорту електронів і фосфорилування. Коефіцієнт окисного фосфорилування (P/O).
10. Хеміосмотична теорія окислювального фосфорилування (теорія П.Мітчела), АТФ-синтетаза мітохондрій.
11. Інгібітори транспорту електронів і роз'єднувачі окисного фосфорилування.
12. Регулювання тканинного дихання. Дихальний контроль.

4.2 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть клітинну локалізацію ферментів циклу Кребса:

- A. Мітохондрії
- B. Цитоплазма
- C. Ендоплазматичний ретикулум
- D. Ядро
- E. Лізосоми

2. Цикл трикарбонових кислот – друга назва циклу Кребса. Укажіть трикарбовону кислоту з циклу Кребса:

- A. α -Кетоглутарат
- B. Ізоцитрат
- C. Сукцинат
- D. Фумарат
- E. Малат

3. Укажіть продукт першої реакції циклу Кребса:

- A. Цис-аконітат
- B. Ізоцитрат
- C. Цитрат
- D. α -Кетоглутарат
- E. Малат

4. Укажіть фермент циклу Кребса, необхідний для синтезу ГТФ:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- E. Малатдегідрогеназа

5. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого знижується при накопиченні в матриксі мітохондрій ацилів вищих жирних кислот:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- E. Малатдегідрогеназа

6. Укажіть пункт супряження окислення з фосфорилюванням у дихальному ланцюзі, який блоку-ється при накопиченні барбітурату в клітині:

- A. $\text{FMN} \xrightarrow{2e^-} \text{CoQ}$
- B. $\text{CoQH}_2 \xrightarrow{2e^-} 2b(\text{Fe}^{3+})$
- C. $2b(\text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e^-} 2c_1(\text{Fe}^{3+})$
- D. $\text{ЦХО}(\text{Cu}^+, \text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e^-} 1/2 \text{O}_2$
- E. $\text{НАДН} \xrightarrow{2e^-} \text{ФМНДГ}$

7. Електрохімічний потенціал внутрішньої мембрани мітохондрії утворюється завдяки:

- A. Функції АТФ-синтази
- B. Анаеробному окисленню субстратів
- C. Окисному фосфорилюванню
- D. Субстратному фосфорилюванню
- E. Функції дихального ланцюга

8. Укажіть пункт супряження окислення з фосфорилюванням у дихальному ланцюзі, який блоку-ється при накопиченні оксиду вуглецю (II) у клітині:

- A. $\text{ФМНН}_2\text{ДГ} \xrightarrow{2e} \text{КоQ}$
 B. $\text{КоQH}_2 \xrightarrow{2e} 2b(\text{Fe}^{3+})$
 C. $2b(\text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e} 2c_1(\text{Fe}^{3+})$
 D. $\text{ЦХО}(\text{Cu}^+, \text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e} 1/2 \text{O}_2$
 E. $\text{НАДН} \xrightarrow{2e} \text{ФМНДГ}$

9. Енергоефект окислення 1 молю ізоцитрату до α -кетоглутарату дорівнює 3 АТФ. Укажіть, як зміни-ться ця величина з появою інсектициду ротенону в клітині:

- A. Не зміниться
 B. Зменшиться
 C. Збільшиться
 D. Стане рівною нулю
 E. Стане негативною величиною

10. Укажіть кількість макроергич-них субстратів, які синтезуються завдяки субстратному фосфори-люванню в одному циклі Кребса:

- A. Один
 B. Три
 C. одинадцять
 D. Дванадцять
 E. Дев'ять

5.1. ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Яка кількість молекул АТФ може синтезуватися при повному окисленні ацетил - КоА в циклі трикарбонових кислот?

- A. 12
 B. 1
 C. 5
 D. 8
 E. 3

2. Центральним проміжним продуктом усіх обмінів (білків, ліпідів, вуглеводів) є:

- A. Сукциніл-КоА
 B. Щавелево-оцтова кислота
 C. Лактат
 D. Ацетил-КоА
 E. Цитрат

3. Для нормального метаболізму клітин необхідні макроергічні сполуки. Яку з нижчезазначених речовин відносять до макроергів?

- A. Креатинфосфат
 B. Креатин
 C. Креатинін

D. Глюкозо-6-фосфат.

E. Аденозинмонофосфат.

4. Цикл Кребса відіграє важливу роль у реалізації глюкопластичного ефекту амінокислот (участь у синтезі глюкози). Це обумовлено обов'язковим перетворенням деяких амінокислот в:

A. Малат

B. Сукцинат

C. Фумарат

D. Оксалоацетат

E. Цитрат

5. При тиреотоксикозі підвищується продукція тиреоїдних гормонів Т3 та Т4, розвивається тахікардія, схуднення, психічне збудження та інше. Як саме впливають тиреоїдні гормони на енергетичний обмін в мітохондріях клітин?

A. Блокують субстратне фосфорилювання

B. Роз'єднують окислення та окисне фосфорилювання

C. Активують окисне фосфорилювання

D. Блокують дихальний ланцюг

E. Активують субстратне фосфорилювання

6. Жінка 38 років скаржиться на підвищену пітливість, серцебиття, підвищення температури тіла в вечірні години. Основний обмін зріс на 60%. Лікар поставив діагноз тиреотоксикоз. Які властивості тироксину призводять до підвищення теплопродукції?

A. Зменшує дезамінування аміно-кислот

B. Підвищує сполучення окислення та фосфорилювання

C. Роз'єднує окислювальне фосфорилювання

D. Сприяє накопиченню ацетил-КоА

E. Зменшує β -окислення жирних кислот

7. Ціаниди є дуже сильними клітинними отрутами, які при потраплянні в організм людини можуть викликати смерть. Блокування якого компоненту тканинного дихання лежить в основі такої дії?

A. Цитохромоксидаза

B. Глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа

C. Каталаза

D. Ферохелатаза

E. Гемоглобінредуктаза

8. Судмедексперт при огляді трупа 20-річної дівчини встановив, що смерть настала внаслідок отруєння ціанідами. Порушення якого процесу було найбільш ймовірною причиною смерті дівчини?

A. Тканинного дихання

B. Синтезу гемоглобіну

C. Транспорту кисню гемоглобіном

D. Синтезу сечовини

E. Транспорту протонів водню за малат-аспартатним механізмом

9. Як тироксин впливає на процеси тканинного дихання і окисного

фосфорилування у хворі тиреотоксикозом?

- A Знижує активність ФАД-дегідрогенази
- B Блокує транспорт електронів у ланцюзі цитохромів
- C Викликає гідроліз АТФ.
- D Роз'єднує процеси тканинного дихання і окисного фосфорилування
- E Знижує активність НАДН-дегідрогенази

10. Судмедексперт при огляді трупа 20-річної дівчини встановив, що смерть настала внаслідок отруєння ціанідами. Який фермент найбільшою мірою інгібується ціанідами?

- A Малатдегідрогеназа
- B Цитохромоксидаза
- C Гемсинтетаза
- D Аспартатамінотрансфераза
- E Карбамоїлфосфатсинтетаза

11. Процес синтезу АТФ, що є сполученим з реакціями окислення за участі системи дихальних ферментів мітохондрій, називається:

- A Окисним фосфорилуванням
- B Субстратним фосфорилуванням
- C Вільним окисленням
- D Фотосинтетичним фосфорилуванням
- E Перекисним окисленням

12. Ціанід калію, який надійшов в організм пацієнта Б., викликав майже миттєву смерть на тлі симптомів гіпоксії. Найбільш вірогідною причиною токсичної дії ціаніду було інгібування активності:

- A Цитохромоксидази
- B НАДН-дегідрогенази
- C АТФ-синтетази
- D НАДФН-дегідрогенази
- E АТФ-ази

13. В процесі метаболізму в організмі людини виникають активні форми кисню, в тому числі супероксиданіон-радикал $\bullet\text{O}^2$. Цей аніон руйнується за допомогою ферменту:

- A Супероксиддисмутази
- B Каталази
- C Пероксидази
- D Глутатіонпероксидази
- E Глутатіонредуктази

14. Калій ціанід є отрутою, смерть настає миттєво. Назвіть ферменти мітохондрій, на які діє ця отрута:

- A Цитохром P-450
- B Флавінові ферменти
- C Цитохром B₅
- D НАД⁺ - залежні дегідрогенази
- E Цитохромоксидаза [цитохром aa₃]

15. У лікарню доставлений хворий з отруєнням інсектицидом - ротеноном. Яка ділянка мітохондріального ланцюга перенесення електронів блокується цією речовиною?

- A. АТФ-синтетаза
- B. Коензим Q –цитохром C-редуктаза
- C. Сукцинат-коензим Q-редуктаза
- D. Цитохром C-оксидаза
- E. НАДН- коензим Q-редуктаза

16. У хворих тиреотоксикозом спостерігаються гіпертермія, булімія, зменшення маси тіла, що пов'язано з порушенням ...

- A. Синтезу жирів
- B. Бета-окислення жирних ки-слот
- C. Сполучення окислення і фосфорилування
- D. Циклу лимонної кислоти
- E. Розпаду АТФ

17. В реанімаційне відділення у важкому стані, надійшов непритомний пацієнт. Діагностовано передозування барбітуратами, які зумовили феномен тканинної гіпоксії. На якому рівні сталося блокування електронного транспорту?

- A. Убіхінон
- B. Цитохром b-цитохром c
- C. АТФ-синтаза
- D. НАДН-коензим Q-редуктаза
- E. Цитохромоксидаза

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 11

1. ТЕМА: Матричні синтези (семінар).

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Найважливішим досягненням біологічної науки середини ХХ століття було встановлення ролі нуклеїнових кислот у збереженні та передаванні інформації. Нуклеїнові кислоти забезпечують процеси синтезу білка, а цим, в свою чергу, визначається характер обміну речовин, закономірності росту та розвитку, явища спадковості та мінливості. Порушення у структурі нуклеїнових кислот призводять до патологічних змін організму. Біосинтез білка забезпечує процеси самооновлення організму. Порушення біосинтезу білка відбувається через недостатнє забезпечення поживними речовинами та наявності низки патологічних станів.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити теоретичний матеріал стосовно біосинтезу нуклеїнових кислот та біосинтезу білка та його регуляції. Вміти трактувати біохімічні особливості виникнення молекулярних патологій (мутації та

механізм дії мутагенів). Ознайомитися з основними напрямками генної інженерії та біотехнології, а також з сучасними уявленнями про внутрішньоклітинну регуляцію експресії генів (гіпотеза оперону).

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

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Молекулярні механізми реплікації ДНК. Типи реплікації. Послідовність етапів і ферменти синтезу ДНК у прокаріот і еукаріот.
2. Мутації та механізми дії мутагенів. Поняття про молекулярні хвороби.
3. Біологічна роль і механізми репарації ДНК.
4. Сучасні уявлення про механізм транскрипції. РНК-полімерази прокаріот і еукаріот, сигнали транскрипції. Посттранскрипційний процесинг первинного транскрипту (дозрівання мРНК в еукаріот).
5. Стимулятори та інгібітори біосинтезу нуклеїнових кислот.
6. Загальні поняття про генну інженерію, її біомедичне значення.
7. Генетичний код та його властивості.
8. Рибосомальна білоксинтезуюча система клітини.
9. Структура та біологічна роль РНК (тРНК, мРНК, рРНК) у біосинтезі білка (трансляції).
10. Механізм трансляції та його етапи. Енергетичне забезпечення білкового синтезу. Посттрансляційний процесинг поліпептидних ланцюгів.
11. Сучасні уявлення про внутрішньоклітинну регуляцію експресії генів прокаріот: схема регуляції по Ф. Жакобу й Ж. Моно (гіпотеза оперону). Поняття про механізми індукції та репресії генів.
12. Антибіотики – інгібітори біосинтезу білку.

4.2 САМОСТІЙНА РОБОТА НА ЗАНЯТТІ

(виконується за індивідуальними завданнями для кожного студента).

5. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть фермент, що каталізує синтез короткого олігорибонуклеотиду, з якого починається синтез ДНК:

- А. Елонгаза
- В. ДНК-полімераза
- С. Праймаза
- Д. Лігаза
- Е. Топоізомераза

2. Укажіть основний фермент, що каталізує стадію елонгації реплікації ДНК:

- А. ДНК-полімераза I

- В. ДНК-полімераза III
- С. Праймаза
- Д. Хеліказа
- Е. ДНК-лігаза

3. Укажіть напрямок утворення фосфодієфірного зв'язку в молекулі ДНК під час її синтезу :

- А. 3'-5'
- В. 3'-4'
- С. 5'-3'
- Д. 2'-3'
- Е. 5'-4'

4. Укажіть метаболіт, який виступає в ролі матриці для біосинтезу затравки при реплікації ДНК:

- А. мРНК
- В. ДНК
- С. тРНК
- Д. іРНК
- Е. рРНК

5. Укажіть субстрат ферменту праймази:

- А. Рибонуклеозидтрифосфат
- В. ДНК
- С. Фрагмент Оказаки
- Д. Нуклеотид
- Е. Білок

6. Укажіть фермент, що каталізує сполучення фрагментів Оказаки:

- А. Праймаза
- В. Хеліказа
- С. Топоізомераза
- Д. ДНК-лігаза
- Е. ДНК-полімераза

7. Укажіть синонім терміну «РНК-залежна ДНК-полімераза»:

- А. Ревертаза
- В. Хеліказа
- С. Топоізомераза
- Д. ДНК-лігаза
- Е. ДНК-залежна РНК-полімераза

8. Як називаються послідовності нуклеотидів в молекулі пре-мРНК, які не несуть інформації:

- А. Інtron
- В. Екзон
- С. Праймер
- Д. Кодон
- Е. Кеп

9. Укажіть процес, що не відноситься до посттранскрипційних модифікацій:

- A. Сплайсинг
- B. Кепування
- C. Метилювання
- D. Синтез праймеру
- E. Поліаденілювання

10. Укажіть структуру в складі молекули РНК, яка захищає її від деградації нуклеазами:

- A. Праймер
- B. Інtron
- C. Екзон
- D. Оперон
- E. Кеп

5.1.ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

1. Укажіть похідну амінокислоти, що ініціює процес трансляції у прокариот:

- A. Метилгістидін
- B. Форміл-метіонін
- C. Оксилізін
- D. Оксипролін
- E. Гомоцистеїн

2. "Упізнавання" аміноацил-тРНК триплетом мРНК в ході синтезу білку здійснюється за участю:

- A. Рибосоми
- B. Акцепторного триплету тРНК
- C. Триплету ДНК
- D. Амінокислоти
- E. Антикодону тРНК

3. Укажіть фермент, що приймає участь в активації амінокислот у процесі біосинтезу білку:

- A. РНК-полімераза
- B. Аміноацил-тРНК-синтетаза
- C. ДНК-полімераза
- D. Трансформілаза
- E. Пептидилтрансфераза

4. Виберіть фермент, що бере участь у реакції трансамінування й утворенні пептидного зв'язку під час трансляції:

- A. Амінотрансфераза
- B. Пептидилтрансфераза
- C. Аміноацил-тРНК-синтетаза
- D. Транслоказа
- E. Полімераза

5. Виберіть кодони, що є сигналами термінації трансляції:

- A. АЦЦ, ГЦА, ААГ
- B. ЦАА, АЦА, ГАА
- C. УАЦ, ЦЯЦЬ, ГАЦ
- D. ГАУ, ЦЦА, ЦГА
- E. УАГ, УАА, УГА

6. Укажіть триплет, що входить до складу акцепторної ділянки т-РНК:

- A. ЦЦА
- B. ЦАЦ
- C. УАЦ
- D. ЦУА
- E. УУА

7. Функція гена-оператора, згідно гіпотези оперону, полягає в контролі синтезу:

- A. тРНК
- B. Коферментів
- C. Амінокислот
- D. мРНК
- E. рРНК

8. Укажіть послідовність ДНК, що є точкою ініціації синтезу мРНК:

- A. Корепресор
- B. Кодон
- C. Антикодон
- D. Промотор
- E. Оператор

9. Укажіть антибіотик, який гальмує біосинтез білка й одночасно має протипухлинний ефект:

- A. Циклогексимід
- B. Пеніцилін
- C. Левоміцетин
- D. Рифаміцин
- E. Актиноміцин D

10. Виберіть антибіотик, який є інгібітором транслокази – ферменту елонгації трансляції:

- A. Циклогексимід
- B. Пуроміцин
- C. Актиноміцин D
- D. Рифаміцин
- E. Тетрациклін

6. ЛІТЕРАТУРА (див.80 с.)

ЗАНЯТТЯ № 12

1. ТЕМА: ПІДСУМКОВИЙ КОНТРОЛЬ З МОДУЛЮ 1 «Загальні питання клінічної і біологічної хімії та основи ензимології. Метаболізм вуглеводів. Обмін речовин та енергії. Основи молекулярної біології»

2.МЕТА ЗАНЯТТЯ: Визначити рівень засвоєння студентами основних положень вивчених тем курсу біохімії на підставі результатів тестування.

3. ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ ДЛЯ ПІДСУМКОВОГО МОДУЛЬНОГО КОНТРОЛЮ

Введення в біохімію. Біохімічні компоненти клітин

1. Біологічна хімія як наука. Місце біохімії серед інших медико-біологічних дисциплін.
2. Об'єкти вивчення і завдання біохімії. Провідна роль біохімії у визначенні молекулярних механізмів патогенезу захворювань людини.
3. Зв'язок біохімії з іншими біомедичними науками. Медична біохімія. Клінічна біохімія. Біохімічна лабораторна діагностика.
4. Історія біохімії; розвиток біохімічних досліджень в Україні.
5. Біохімічні компоненти клітин, їх функції. Класи біомолекул. Ієрархія біомолекул, їх походження.

Ферменти і коферменти. Регуляція метаболізму.

1. Ферменти: визначення; властивості ферментів як біологічних каталізаторів.
2. Класифікація і номенклатура ферментів, характеристика окремих класів ферментів.
3. Будова і механізм дії ферментів. Активний і алостеричний (регуляторний) центри.
4. Кофактори і коферменти. Будова і властивості коферментів, вітаміни як попередники в біосинтезі коферментів.
5. Ізоферменти, особливості будови і функціонування, значення в діагностиці захворювань.
6. Механізми дії ферментів і кінетика ферментативних реакцій: залежність швидкості реакції від концентрації субстрату, рН і температури.
7. Регуляція ферментативних процесів. Активатори і інгібітори ферментів: приклади і механізми дії.
8. Типи інгібування ферментів: зворотне (конкурентне, неконкурентне) і незворотне інгібування.

9. Механізми регуляції алостеричних ферментів; ковалентна модифікація ферментів.
10. Загальне уявлення про ензимопатії і причини їх виникнення.
11. Ензимодіагностика патологічних процесів і захворювань.
12. Ензимотерапія – використання ферментів, їх активаторів і інгібіторів в медицині.
13. Принципи і методи визначення ферментів в біооб'єктах. Одиниці вимірювання активності ферментів.

Перетравлення поживних речовин в шлунково – кишковом тракті (ШКТ).

1. Хімічний склад поживних речовин і їх значення для організму. Біологічна цінність поживних речовин (вуглеводів, ліпідів, білків, мікро- і макроелементів) для людини.
2. Будова і класифікація вуглеводів. Добова потреба та перетравлення вуглеводів. Ферменти перетравлення вуглеводів: локалізація, оптимум рН і специфічність дії. Спадкова недостатність лактази.
3. Кінцеві продукти перетравлення вуглеводів і механізм їхнього всмоктування в тонкому кишечнику.
4. Будова, класифікація та біологічні функції ліпідів. Добова потреба та перетравлення ліпідів. Ферменти перетравлення ліпідів: локалізація синтезу, активація проферментів, оптимум рН і специфічність дії активних форм ферментів.
5. Роль жовчних кислот у перетравленні та всмоктуванні ліпідів. Стеаторея: види (панкреатична, гепатогенна, ентерогенна), причини виникнення, діагностика.
6. Біологічна цінність білків для людини.
7. Азотистий баланс і добова потреба білків. Ферменти перетравлення білків: локалізація синтезу та активації проферментів, оптимум рН і специфічність дії активних форм ферментів.
8. Механізми всмоктування амінокислот.

Метаболізм вуглеводів і його регуляція

1. Аеробне й анаеробне окислення глюкози, загальна характеристика процесів.
2. Анаеробне окислення глюкози. Послідовність реакцій і ферменти гліколізу.
3. Аеробне окиснення глюкози. Етапи перетворення глюкози до CO_2 і H_2O .
4. Окислювальне декарбоксілювання пірувата. Ферменти, коферменти та послідовність реакцій у мультиферментному комплексі.
5. Гліколітична оксидоредукція: субстратне фосфорилування й човникові механізми окислення гліколітичного НАДН.
6. Порівняльна характеристика біоенергетики аеробного та анаеробного окислення глюкози, ефект Пастера.

7. Фосфоролітичний шлях розщеплення глікогену в печінці та м'язах. Регуляція активності глікогенфосфорилази.
8. Біосинтез глікогену: ферментативні реакції, фізіологічне значення. Регуляція активності глікогенсинтази.
9. Механізми реципрокної регуляції глікогенолізу та глікогенезу за рахунок каскадного цАМФ-залежного фосфорилування ферментних білків.
10. Роль адреналіну, глюкагону та інсуліну в гормональній регуляції обміну глікогену в м'язах і печінці.
11. Генетичні порушення метаболізму глікогену (глікогенози, аглікогенози).
12. Глюконеогенез: субстрати, ферменти й фізіологічне значення процесу.
13. Глюкозо-лактатний (цикл Корі) та глюкозо-аланіновий цикли.
14. Вміст глюкози крові в нормі; причини розвитку гіпо-і гіперглікемії, глюкозурії. Порушення вуглеводного обміну при цукровому діабеті. Діагностика прихованої (латентної) форми цукрового діабету з визначення концентрації глікозильованого гемоглобіну та з використанням глюкозотолерантного тесту (проба Штауб-Трауготт, метод подвійного цукрового навантаження).
15. Гормональна регуляція концентрації та обміну глюкози крові.
16. Пентозофосфатний шлях окислення глюкози: схема процесу та біологічне значення.
17. Метаболічні шляхи перетворення фруктози та галактози; спадкові ензимопатії їхнього обміну.

Основні закономірності обміну речовин. Цикл трикарбонових кислот. Молекулярні основи біоенергетики.

1. Обмін речовин (метаболізм) - загальні закономірності протікання катаболічних і анаболічних процесів.
2. Загальні стадії внутрішньоклітинного катаболізму біомолекул: білків, вуглеводів, ліпідів.
3. Цикл трикарбонових кислот. Локалізація, послідовність ферментативних реакцій, значення в обміні речовин.
4. Енергетичний баланс циклу трикарбонових кислот.
5. Амфіболічна роль циклу трикарбонових кислот.
6. Реакції біологічного окислення; типи реакцій (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні) і їх біологічне значення.
7. Тканинне дихання: стадії, локалізація в клітині .
8. Ферменти біологічного окислення в мітохондріях: піридин- та флавін-залежні дегідрогенази, цитохроми.
9. Послідовність компонентів дихального ланцюга мітохондрій. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій.
10. Окисне фосфорилування: пункти сполучення транспорту електронів і фосфорилування, коефіцієнт окисного фосфорилування
11. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування, АТФ-синтетаза мітохондрій.

12.Інгібітори транспорту електронів в дихальному ланцюзі. Роз'єднувачі процесів окисного фосфорилування та біологічного окислення.

Матричні синтези.

1. Молекулярні механізми реплікації ДНК. Типи реплікації. Послідовність етапів і ферменти синтезу ДНК у прокаріот і еукаріот.
2. Мутації та механізми дії мутагенів. Поняття про молекулярні хвороби.
3. Біологічна роль і механізми репарації ДНК.
4. Сучасні уявлення про механізм транскрипції. РНК-полімерази прокаріот і еукаріот, сигнали транскрипції. Посттранскрипційний процесинг первинного транскрипту (дозрівання мРНК в еукаріот).
5. Стимулятори та інгібітори біосинтезу нуклеїнових кислот.
6. Загальні поняття про генну інженерію, її біомедичне значення.
7. Генетичний код та його властивості.
8. Рибосомальна білоксинтезуюча система клітини.
9. Структура та біологічна роль РНК (тРНК, мРНК, рРНК) у біосинтезі білка (трансляції).
10. Механізм трансляції та його етапи. Енергетичне забезпечення білкового синтезу. Посттрансляційний процесинг поліпептидних ланцюгів.
11. Сучасні уявлення про внутрішньоклітинну регуляцію експресії генів прокаріот: схема регуляції по Ф. Жакобу й Ж. Моно (гіпотеза оперону). Поняття про механізми індукції та репресії генів.
12. Антибіотики – інгібітори біосинтезу білку.

ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ РОБІТ І ЗАВДАНЬ ДЛЯ ПІДСУМКОВОГО КОНТРОЛЮ З МОДУЛЮ 1

1. Якісні реакції на білки і амінокислоти: біуретова реакція, реакція Фоля, сульфосаліцилова проба. Принципи реакцій.
2. Кількісне визначення білка в сироватці крові біуретовим методом. Принцип методу, норма, клініко-діагностичне значення.
3. Поясніть основні принципи вивчення дії ферментів на прикладі амілази слини (використання йодної проби на крохмаль і реакції Троммера).
4. Доведіть білкову природу ферментів біуретовою реакцією, реакцією Фоля, сульфосаліциловою пробою. Поясніть принципи методів.
5. Поясніть термолабільність ферментів на прикладі вивчення цієї властивості у амілази слини. Накресліть графік залежності активності ферменту від температури середовища.
6. Накресліть графік залежності активності ферменту від рН середовища за наслідками визначення активності амілази слини. Поясніть його.
7. Доведіть відносну специфічність амілази слини. Які ще види специфічності характерні для ферментів?
8. Поясніть вплив модуляторів на активність ферментів на прикладі зміни активності амілази слини в присутності натрію хлориду і купрум (II) сульфату.

9. Вивчення впливу концентрації ферменту (амілази слини) на швидкість ферментативної реакції. Принцип методу
10. Визначення активності діастази (амілази) сечі. Принцип методу, норма і клініко-діагностичне значення.
11. Визначення активності холінестерази сироватки крові. Принцип методу, норма і клініко-діагностичне значення.
12. Принцип методу вивчення активності сукцинатдегідрогенази м'язів. Вкажіть локалізацію цього ферменту циклу Кребса в мітохондріях.
13. Інгібування ферментів ЦТК малоноювою кислотою (на прикладі сукцинатдегідрогенази м'язів). Назвіть тип інгібування. Яким чином можна позбавитися від негативної дії малоноювої кислоти?
14. Визначення глюкози крові глюкозооксидазним методом. Принцип методу, нормальний вміст глюкози в крові людини, клініко-діагностичне значення.
15. Визначення фруктози реакцією Селіванова. Принцип методу.
16. Визначення кінцевого продукту анаеробного гліколізу - молочної кислоти - методом Уффельмана. Принцип методу.
17. Якісна реакція на фенілпіровиноградну кислоту (проба Фелінга). При якому захворюванні фенілпіровиноградна кислота з'являється в сечі?
18. Кількісне визначення пепсину шлункового соку. Принцип методу, клініко-діагностичне значення цього ферменту.
19. Кількісне визначення показників кислотності шлункового соку в нормі і при патології.
20. Якісні реакції на молочну кислоту і кров'яні пігменти в шлунковому соці.

ЛІТЕРАТУРА

Базова:

1. Клінічна біохімія : навч. посіб. / за ред. О. П.Тимошенко [та ін.]. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 239 с.
2. Біологічна хімія : підручник / за ред. Л. М. Вороніної . – Х. : Основа, 2000. – 608 с.
3. Губський Ю. І. Біологічна хімія : підручник / Ю. І. Губський. – Т. : Укрмедкнига, 2000. - 508 с.

Допоміжна:

1. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
2. Колб В. Г. Справочник по клинической химии : справ. изд. / В. Г. Колб, В. С. Камышников. - 2-е изд., перераб. и доп. – Мн. : Беларусь, 1982. – 366 с.
3. Лифшиц В. М. Биохимические анализы в клинике : справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова. – М. : МИА, 1998. – 303 с.
4. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков [и др.] ; под ред. В. В. Меньшикова. - М. : Медицина, 1987. - 368 с.
5. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия : монография / В. Дж. Маршалл. – М. : БИНОМ ; СПб. : Невский Диалект, 2000. – 368 с.
6. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований : монография / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – 2-е изд., стер. - М. : Медицина, 2006. – 544 с.
7. Комаров Ф. И. Биохимические исследования в клинике : монография / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. – Джанкой : Элиста, 1998. – 250 с.
8. Бышевский А. Ш. Биохимия для врача : учеб. пособие. / А. Ш. Бышевский, О. А. Терсенов. – Екатеринбург : Урал. рабочий, 1994. – 384 с.
9. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 3: Клиническая биохимия / под ред. М. А. Базарновой, В. Т. Морозовой. – К.: Вища школа, 1986. – 279 с.
10. Клиническая биохимия / под ред. В. А. Ткачука. – 2-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 512 с.
11. Клиническая оценка лабораторных тестов / под ред. Н. У. Тица. – М. : Медицина, 1986. – 480 с.
12. Березов Т. Т. Биологическая химия : учебник / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – 3-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1998. – 703 с.

Для нотаток

Для нотаток

Підписано до друку _____ 2017 р.

Папір офсетний. Друк – ризограф.

Наклад _____ примірників

Замовлення № _____

Оригінал-макет виконаний на кафедрі клінічної лабораторної діагностики
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26