

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО**

КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

НАВЧАЛЬНО - МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК

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

(другий магістерський рівень)

(Частина 2)

ЛЬВІВ 2022

Біологічна хімія. Навчально-методичний посібник для студентів фармацевтичного факультету (другий магістерський рівень):
ас. Білецька Л.П., доц. Бондарчук Т.І., проф. Кобилінська Л. І., ас. Мазур О.Є., доц. Макаренко Т.М., доц. Федевич Ю.М., проф. Фоменко І.С., 2022. – 145 с.

За редакцією проф. Кобилінської Л.І.

Рецензенти:

професор кафедри біоорганічної, біонеорганічної та фармацевтичної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького д.фарм. н., проф. Музиченко В.О.;

завідувач кафедри фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького д.мед.н, проф. Піняжко О.Р.

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

Посібник розроблений згідно робочої програми дисципліни “Біологічна хімія” (2018) для спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація» галузі знань 22 “Охорона здоров’я” у відповідності з освітньо – кваліфікаційними характеристиками та освітньо – професійними програмами підготовки фахівців відповідно до Стандарту вищої освіти України (другий магістерський рівень). Посібник розрахований для студентів фармацевтів та клінічних фармацевтів вищих медичних закладів.

Автори вдячні рецензентам професору кафедри біоорганічної, біонеорганічної та фармацевтичної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького д.фарм.н. професору В.О. Музиченку та завідувачу кафедри фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького д.мед.н., професору О.Р. Піняжку за надані пропозиції та зауваження.

Дидактичні компоненти при вивченні «Біологічної хімії»

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

Загальні компетентності:

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

Фахові компетентності наведені до кожної теми та представлені у програмі та силабусі.

Самостійна робота студентів:

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

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу:

А. Письмова підготовка відповідей до

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

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

- Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі: навч. посібник/Т.І.Бондарчук, Н.М.Гринчишин, Л.І.Кобилінська та ін.: за ред. О.Я.Склярова. - К.: ВСВ «Медицина», 2010. - 360 с.

- Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі: навч. посібник / Т.І.Бондарчук. Н.М.Гринчишин, Д.О.Климишин та ін.: за ред. О.Я.Склярова. - Львів: друк. ЛНМУ імені Данила Галицького, 2015. - 454 с.

- ЛНМУ – <http://www.meduniv.lviv.ua/index.php>

- Центру тестування - <http://www.testcentr.org.ua>

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

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

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

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

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

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

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

**Тематичний план лекцій з дисципліни «Біологічна хімія»
для студентів III курсу фармацевтичного факультету на II семестр**

№ з/п	Тема	Кількість годин
1	Загальні шляхи метаболізму амінокислот в організмі (трансамінування, декарбоксілювання, дезамінування). Дослідження процесів детоксикації аміаку та біосинтезу сечовини. Специфічні шляхи метаболізму циклічних та сірковмісних амінокислот та їх порушення. Обмін аргініну.	2
2	Особливості метаболізму нуклеотидів в нормі та при патології. Загальна характеристика матричних синтезів та їх регуляція. Молекулярні механізми мутацій.	2
3	Сучасна класифікація та молекулярні механізми дії гормонів. Регуляція метаболізму гормонами білково-пептидної, тиреоїдної та стероїдної природи. Гормоноподібні речовини. Гормони як фармацевтичні препарати.	2
4	Біохімія крові. Регуляція та підтримання гомеостазу організму людини. Біологічна роль та метаболізм гемоглобіну (синтез гему). Регуляція кислотно-основного стану. Білки плазми крові. Загальна характеристика згортальної, фібринолітичної та імунної систем крові.	2
5	Біохімічні функції печінки (розпад гему та їх порушення). Біохімія жовтяниць. Біотрансформація ендогенних речовин і ксенобіотиків у печінці. Метаболізм ліків у печінці.	2

Всього	10
---------------	-----------

**Тематичний план практичних занять
з дисципліни «Біологічна хімія»
для студентів III курсу фармацевтичного факультету на II семестр**

№ з/п	Тема заняття	Кількість годин
Розділ 5: Обмін простих та складних білків.		
1	Загальні шляхи перетворень амінокислот в організмі (трансамінування, дезамінування, декарбоксілування). Біосинтез глутатіону і креатину.	2
2	Дослідження процесів детоксикації аміаку та біосинтезу сечовини. Специфічні шляхи обміну амінокислот.	2
3	Дослідження спеціалізованих шляхів обміну циклічних амінокислот. Порушення та патологія цих обмінів.	2
Розділ 6: Біохімічні аспекти молекулярної біології та генетики		
4	Дослідження біохімічного складу пуринових та піримідинових нуклеотидів. Біохімічні функції нуклеотидів та нуклеїнових кислот	2
5	Біосинтез та катаболізм пуринових і піримідинових нуклеотидів. Визначення кінцевих продуктів їх обміну. Спадкові порушення обміну нуклеотидів.	2
6	Реплікація ДНК та транскрипція РНК. Аналіз механізмів мутацій, репарацій ДНК. Принципи отримання рекомбінантних ДНК і трансгенних білків. Мутації.	2
7	Біосинтез білка у рибосомах. Процеси ініціації, елонгації та термінації в синтезі поліпептидного ланцюга. Інгібіторна дія антибіотиків. Принципи генної інженерії та клонування генів, їх застосування в сучасній медицині.	2
Розділ 7: Молекулярні механізми дії гормонів		
8	Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії гормонів білково-пептидної природи, похідних амінокислот та біогенних амінів на клітини-мішені. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію.	2
9	Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів на клітини-мішені.	2
Розділ 8: Основи фармацевтичної біохімії та біохімії тканин		
10	Хромопротеїни (гемоглобін та його похідні). Будова гемоглобіну його біологічна роль. Біосинтез порфіринів, механізми виникнення порфірій.	2
11	Дослідження біохімічних функцій крові. Білки плазми крові, небілкові азотовмісні і безазотисті компоненти крові. Кислотно-основний стан крові та його регуляція.	2
12	Дослідження згортальної, антизгортальної та фібринолітичної системи крові. Біохімічні закономірності реалізації імунних	2

	процесів.	
13	Роль печінки в обміні вуглеводів, ліпідів, білків. Обмін кінцевих продуктів катаболізму гему. Патобіохімія жовтяниць.	2
14	Дослідження детоксикаційної функція печінки. Процеси біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів. Мікросомальне окиснення, цитохром Р-450. Основи фармацевтичної біохімії.	2
15	Дослідження обміну води і мінеральних солей.	2
16	Дослідження сечоутворювальної функції нирок. Біохімічний склад сечі людини в нормі та при патології. Препарати, що застосовуються для корекції порушень функції нирок.	2
17	Біохімія м'язової. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у м'язовій тканині.	2
18	Біохімія нервової тканин. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у нервовій тканині.	2
19	Біохімія сполучної тканини. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у сполучній тканині.	2
	Всього	38

Тематичний план самостійної роботи студентів на II семестр

№ з/п	Завдання	Кількість годин
1	Обмін глутатіону і його роль у метаболізмі клітини.	2
2	Порушення функціонування циклу сечовини.	2
3	Аміноацидурії: причини розвитку та їх фармакологічна корекція	2
4	Біохімічні функції вільних нуклеотидів.	1
5	Спадкові та набуті порушення обміну нуклеотидів.	2
6	Загальні поняття й значення технологій рекомбінантних ДНК (генна інженерія).	2
7	Вплив антибіотиків та інших фармацевтичних засобів на матричні синтези у клітині. Застосування лікарських засобів у симптоматичному лікуванні коронавірусної хвороби.	2
8	Комплексні вітамінні препарати в лікуванні гіповітамінозів та інших патологічних станів.	2
9	Антиоксидантна функція вітамінів в організмі.	2
10	Білково-пептидні фактори росту та проліферації тканин.	2
11	Використання радіоімунного методу в кількісному визначенні гормонів.	1
12	Фракційний склад білків плазми крові в нормі та патології.	2

13	Сучасні антизгортальні лікарські засоби та їх застосування.	2
14	Спадкові порушення обміну гемоглобіну.	2
15	Толерантність до лікарських засобів.	2
16	Гормональні механізми регуляції водно-мінерального обміну й функцій нирок.	2
17	Вплив фармацевтичних засобів на функції нирок та фізико-хімічні властивості сечі.	2
18	Вплив фармацевтичних засобів на функції нервової системи.	2
19	Ксенобіотики їх вплив на організм людини.	2
	Всього	36

Критерії оцінювання успішності студентів у II семестрі

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

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

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

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

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

Студент допускається до заліку при виконанні всіх вимог навчальної програми та за умов, якщо за поточне оцінювання та за контроль засвоєння розділів (19 занять) середнє арифметичне його поточних оцінок складає не менше 3,0 балів.

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ СТУДЕНТІВ У НАВЧАЛЬНІЙ ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

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

Не кидати папір, сірники, побитий посуд у водостічну раковину, для цього користуватися смітником.

Розділ 5.
Обмін простих і складних білків.
Біохімічні аспекти молекулярної біології та генетики

**Тема № 1. Загальні шляхи перетворень амінокислот в організмі
(трансамінування, дезамінування, декарбоксілування). Біосинтез
глутатіону та креатину**

Мета заняття: Вивчити етапи перетравлення білків у різних відділах травного тракту та подальші загальні шляхи перетворення амінокислот; оволодіти методами ідентифікації їх метаболітів. Знати механізм утворення глутатіону та креатину, їх біологічне значення.

Мотивація теми: Обмін білків є центральною ланкою всіх біохімічних процесів. Знання і розуміння загальних шляхів перетворень амінокислот, їх метаболітів та визначення активності ферментів, що беруть участь у цих перетвореннях, є критеріями для оцінки обміну білків. У процесі обміну амінокислот утворюються метаболіти, визначення яких у крові та сечі може бути використано з метою застосування фармацевтичних препаратів.

Конкретні завдання:

- Пояснювати механізм перетравлення білків у травному тракті.
- Знати причини та механізм гниття білків у товстій кишці, роль катепсинів у оновленні тканинних білків.
- Аналізувати шляхи використання вільних амінокислот в організмі людини.
- Трактувати процеси трансамінування, дезамінування, декарбоксілування амінокислот.

Теоретичні питання

1. Травлення білків і пептидів у шлунку: механізм дії протеолітичних ферментів (пепсин, гастринсин, ренін); біохімічні механізми їх дії.
2. Травлення білків у тонкій кишці: протеолітичні ферменти підшлункової залози та тонкої кишки, механізм їх дії. Всмоктування продуктів гідролізу білків у тонкій кишці.
3. Гниття білків у товстій кишці.
4. Фонд вільних амінокислот, джерела його утворення і використання в клітинах. Шляхи утилізації безазотистих залишків амінокислот.
5. Типи реакцій дезамінування амінокислот і їх кінцеві продукти. Механізм окиснювального дезамінування амінокислот. Оксидази L- і D-амінокислот, їх ферментативна активність, специфічність дії.
6. Трансамінування амінокислот, субстрати для реакцій трансамінування. Механізм реакції трансамінування. Трансамінази. Локалізація трансаміназ в органах і тканинах, діагностичне значення їх визначення.
7. Декарбоксілування амінокислот. Декарбоксілази. Утворення біогенних амінів (γ-аміномасляна кислота, гістамін, серотонін, дофамін).

Декарбоксилювання амінокислот у процесі гниття білків у кишці.
Окиснення біогенних амінів.

8. Глутатіон: будова, біосинтез, біологічні функції, роль в обміні органічних пероксидів.
9. Біосинтез і біологічна роль креатину та креатинфосфату, утворення креатиніну.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1.Травлення білків і пептидів у шлунку: механізм дії протеолітичних ферментів(пепсин, гастрин, ренін); біохімічні механізми їх дії.

- Представити механізм травлення білків у шлунку за схемою:
 - вказати місце синтезу протеолітичних ферментів
 - представити механізм активації
 - охарактеризувати біохімічний механізм дії пепсину, гастрину, реніну в організмі людини.

2. Травлення білків у тонкій кишці: протеолітичні ферменти підшлункової залози та тонкої кишки, механізми їх дії. Всмоктання продуктів гідролізу білків у тонкій кишці.

- Представити механізм травлення білків у тонкій кишці за схемою:
 - місце синтезу
 - місце і механізм активації
 - рН оптимум
 - біохімічний механізм дії трипсину, хімотрипсину, амінопептидаз, карбоксипептидаз.

3. Гниття білків у товстій кишці

- Представити механізм гниття білків у товстій кишці
- Написати реакції перетворення орнітину та лізину в процесі гниття білків.

4. Фонд вільних амінокислот, джерела його утворення і використання в клітинах. Шляхи утилізації безазотистих залишків амінокислот.

- Описати схему шляхів утворення та підтримання пулу вільних амінокислот в організмі людини
- Вказати які амінокислоти в процесі катаболізму вступають у ЦТК у вигляді ацетилКоА, сукцинілКоА, оксалоацетату, фумарату і α -кетоглутарату
- Дати визначення глюкогенним і кетогенним амінокислотам і вказати їх подальші метаболічні перетворення.

5. Типи реакцій дезамінування амінокислот, їх кінцеві продукти. Механізм окиснювального дезамінування амінокислот. Оксидази L- і D-амінокислот. Їх ферментативна активність, специфічність дії.

- В конспекті представити наступні реакції із зазначенням назв метаболітів і ферментів:
 - 1) 4 типи дезамінування (відновне, гідролітичне, внутрішньо молекулярне, окисне);
 - 2) Механізм окисного дезамінування;
 - 3) Механізм дії оксидаз L- і D-амінокислот, хімізм реакцій, рН оптимуми, коферменти.

6. Трансамінування амінокислот, субстрати для реакцій трансамінування. Механізм реакції трансамінування. Трансамінази. Локалізація трансаміназ в органах і тканинах, діагностичне значення їх визначення.

- В конспекті написати схему реакції трансамінування (через утворення основи Шиффа), вказати кофермент.
- Описати клініко-діагностичне значення визначення АЛАТ та АсАТ крові, коефіцієнта де Рітиса із зазначенням відповідних норм.

7. Декарбоксілування амінокислот. Декарбоксілази. Утворення біогенних амінів (γ-аміномасляна кислота, гістамін, серотонін, дофамін). Декарбоксілування амінокислот у процесі гниття білків у кишці. Окиснення біогенних амінів.

- В конспекті написати реакції декарбоксілування амінокислот, значення біогенних амінів в нормі і при патології, шляхи їх використання як фармпрепаратів. Вказати доцільність використання фармпрепаратів – блокаторів MAO.
- В конспекті написати реакції окиснення біогенних амінів, вказати ферменти, коферменти.

8. Глутатіон: будова, біосинтез, біологічні функції, роль в обміні органічних пероксидів.

- В конспекті написати формулу глутатіону.
- Представити схему синтезу глутатіону.
- В конспекті подати у вигляді схеми процес участі глутатіону в знешкодженні гідропероксидів.
- Пояснити роль ферментів глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази в процесах знешкодження гідропероксидів.

9. Біосинтез і біологічна роль креатину та креатинфосфату, утворення креатиніну.

- Охарактеризувати два етапи процесу синтезу креатину.
- Подати у вигляді схеми перетворення глікоціаміну до креатину та креатиніну.
- Описати роль креатину і креатинфосфату у метаболізмі м'язової тканини. Дати характеристику формам патології м'язової тканини, що виникають внаслідок порушення метаболізму креатину

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У хворого знижений транспорт амінокислот у ентероцити кишки. Яка речовина бере участь у цьому процесі:

- A. Глутатіон
- B. Аланін
- C. Ансерин
- D. Орнітин
- E. Глюкоза

2. Протеолітичні ферменти ШКТ каталізують гідроліз білків. Вкажіть, який хімічний зв'язок вони розщеплюють:

- A. Пептидний
- B. Глікозидний
- C. Водневий
- D. Ефірний
- E. Фосфодіефірний

3. Молодим батькам добре відомо, що моторика шлунково-кишкового тракту немовлят на декілька порядків вища, ніж у дорослих. Який фермент сприяє швидкому перетравленню білків - казеїногенів молока у шлунку дітей?

- A. Ренін (хімозин)
- B. Ліпаза
- C. Трипсин
- D. Хімотрипсин
- E. Проеластаза

4. У хворих з важкими станами депресії знижується рівень серотоніну у мозку та спинномозковій рідині. Яка амінокислота є попередником серотоніну?

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

5. У хворого виявлено діарею, метеоризм після вживання білкової їжі, порушення травлення білків та посилення їх гниття. Вкажіть, яка речовина є продуктом гниття білків у кишечнику:

- A. Індол
- B. Сечова кислота
- C. Молочна кислота
- D. Сечовина
- E. Кетонові тіла

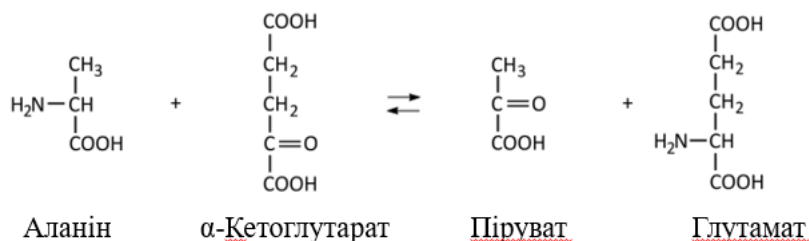
Ситуаційні задачі

1. Хворий скаржиться на слабкість, головний біль, відсутність апетиту, болі в області попереку, шкіра пацієнта має ледь помітний жовтий відтінок. Біохімічний аналіз сироватки крові показав, що рівень АлАТ -9,45 мкмоль/(год.мл), АсАТ- 0,80 мкмоль/(год.мл). Розрахуйте коефіцієнт де Рітиса і зробіть висновок.
2. Хворий відчуває в області грудей стискаючий біль, який може віддаватися в руку, шию, плече. Болі можуть тривати від тридцяти секунд до тридцяти хвилин, біохімічний аналіз виявив, що рівень АлАТ -1,45 мкмоль/(год.мл), АсАТ- 2,56 мкмоль/(год.мл). Розрахуйте коефіцієнт де Рітиса на основі якого зробіть висновок, щодо розвитку інфаркту міокарда.
3. Загальний вміст білка у крові людини становить 50 г/л. Оцініть отриманий результат. Які причини виникнення такого стану?

Практична робота

Дослід 1. Визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ) уніфікованим динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля.

Принцип методу. У результаті реакції трансамінування під дією АлАТ утворюються піруват і глутамат. При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється гідрозон піровиноградної кислоти червоно-бурого забарвлення, інтенсивність якого прямопропорційна кількості утвореної піровиноградної кислоти і є показником активності АлАТ.



Матеріальне забезпечення: 0,1 М розчин Na₂HPO₄; 0,1 М розчин KH₂PO₄; 0,1 М фосфатний буфер рН 7,4; 0,4 М розчин NaOH; 0,04 % розчин бромтимолового синього; субстратний розчин (29,2 мг α-кетоглутарової кислоти і 1,78 мг D,L-аланіну розчиняють в 1 М NaOH до отримання рН 7,4, розчин переливають у мірну колбу на 100 мл і доводять 0,1 М фосфатним буфером до мітки); 1 М розчин хлоридної кислоти; 1 мМ розчин 2,4-динітрофенілгідразину; натрію піруват. Визначення проводять за допомогою спектрофотометра або фотоелектроколориметра. Необхідні термостат або водяна лазня, холодильник.

Приготування калібрувального розчину: 11 мг натрію пірувату розчиняють у невеликій кількості води, переносять у мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки: 1 мл калібрувального розчину містить 110 мкг натрію пірувату, що відповідає 88 мкг або 1 мкмоль піровиноградної кислоти.

Хід роботи. 1) Дослідна проба: у пробірку вносять 0,5 мл субстратного розчину і 0,1 мл досліджуваної сироватки. Пробірку ставлять у термостат при 37°C на 30 хв. Додають 0,5 мл розчину 2,4-динітрофенілгідразину і витримують

20 хв. при кімнатній температурі. Потім додають 5 мл 0,4 М NaOH, перемішують і залишають на 10 хв при кімнатній температурі для розвитку забарвлення. Інтенсивність забарвлення визначають на фотоелектроколориметрі при зеленому світлофільтрі ($\lambda = 546$ нм) у кюветі з товщиною шару 10 мм проти контрольної проби.

2) Контрольна проба: у пробірку вносять 0,5 мл субстратного розчину, 0,1 мл сироватки і 0,5 мл розчину 2,4-динітрофенілгідразину і витримують 20 хв. при кімнатній температурі. Потім додають 5 мл 0,4 М NaOH і далі все виконують аналогічно дослідній пробі.

Побудова калібрувального графіка: з калібрувального розчину готують низку розведень. Калібрувальні проби проводять так само як і дослідні, але замість сироватки додають розведені калібрувальні розчини. Вимірюють проти холостої проби, в яку замість калібрувальних розчинів додають воду. Визначивши оптичну густину розчинів будують калібрувальний графік, відкладаючи на осі абсцис активність ферменту, а на осі ординат – значення оптичної густини. Калібрувальна крива лінійна до величини оптичної густини 0,3.

Отримання калібрувальних розчинів:

№ проб и	Калібрувальний розчин натрію пірувату, мл	Дистильова на вода, мл	Піровиноградна кислота		Активність АлАТ, нмоль/(с.л)
			мкг	мкмоль	
1	0,05	0,55	4,4	0,05	278
2	0,10	0,50	8,8	0,10	556
3	0,15	0,45	13,2	0,15	834
4	0,20	0,40	17,6	0,20	1112
5	0,25	0,35	22,0	0,25	1390

Кількість утвореної піровиноградної кислоти (у мкг) знаходять за калібрувальним графіком, або за формулою I:

$$X = \frac{D}{0,09} \quad (I),$$

Активність АлАТ вираховують за формулою II:

$$\text{АлАТ} = \frac{X \cdot 2 \cdot 10}{88} \quad (II),$$

де: X – кількість піровиноградної кислоти, знайденої за калібрувальним графіком або за формулою I, мкг;

2 – коефіцієнт перерахунку на 1 год інкубації;

10 – коефіцієнт перерахунку на 1 мл сироватки;

88 – маса 1 мкмоль піровиноградної кислоти.

Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. В організмі людини процес трансамінування активний у печінці, серці, скелетних м'язах, нирках та інших органах. У сироватці крові активність амінотрансфераз дуже низька. При порушенні цілісності клітинних мембран (цитолізі) амінотрансферази проникають із клітин у кров. Тому визначення активності амінотрансфераз у

сироватці крові є важливим тестом для діагностики тих захворювань, для яких характерний цитолітичний синдром (інфаркт міокарда, захворювання печінки тощо).

Нормативні величини для трансаміназ сироватки крові: АлАТ (КФ 2.6.1.2) – 0,1 – 0,68 мкмоль/(год.мл) при 37 °С, або 4 – 36 МО/л, або 28 – 190 нмоль/(с·л); АсАТ (КФ 2.6.1.1) – 0,1 – 0,45 мкмоль/(год.мл) або 8 – 33 МО/л, або 28 – 125 нмоль/(с·л).

Найвища активність АлАТ характерна для захворювань запального типу, наприклад, захворювань печінки – особливо в інкубаційному періоді інфекційного гепатиту. Активність АсАТ у сироватці крові найвища при захворюваннях некротичного типу – у крові зростає через 4-6 год після інфаркту міокарда і звичайно повертається до норми на 3-7 день. При стенокардії АсАТ залишається в нормі. Зниження нормальних показників амінотрансфераз у плазмі може бути при недостатності вітаміну В₆, а також при нирковій недостатності.

Діагностично важливим є одночасне визначення активності АлАТ і АсАТ та розрахунок коефіцієнта де Рітиса – АсАТ/АлАТ, який в нормі дорівнює приблизно 1,3. При інфекційному гепатиті він нижчий за норму (за рахунок значного зростання АлАТ), а при інфаркті міокарда – вищий (за рахунок значного зростання АсАТ).

Дослід 2. Уніфікований метод визначення креатиніну за кольоровою реакцією Яффе (метод Поппера і співавторів).

Принцип методу. У результаті взаємодії креатиніну та пікринової кислоти в лужному середовищі утворюється червоний таутомер пікринат-креатинін, інтенсивність забарвлення якого прямопропорційна концентрації креатиніну.

Матеріальне забезпечення: насичений розчин пікринової кислоти; розчин їдкою натрію – 10 г/100 мл; 0,1 н розчин хлоридної кислоти; центрифуга, водяна баня, фотоелектроколориметр або спектрофотометр.

Хід роботи. 2 мл сироватки змішують у пробірці з 6 мл прозорого насиченого розчину пікринової кислоти. Через 5 хв пробірку поміщають на 15 – 20 с у кип'ячу водяну баню, потім вміст пробірки центрифугують (або фільтрують). До 4 мл супернатанту додають 0,2 мл розчину NaOH, перемішують і доводять дистильованою водою до 10 мл. Через 10 хв проби колориметрують при зеленому світлофільтрі (довжина хвилі 530 нм) у кюветі з товщиною шару 20 мм проти контрольної проби. Контрольну пробу готують наступним чином: до 3 мл насиченого розчину пікринової кислоти додають 0,2 мл розчину NaOH і доводять водою до 10 мл. Стандартну пробу готують аналогічно до дослідної, але з тою різницею, що замість сироватки беруть 2 мл робочого стандартного розчину і вміст пробірки не центрифугують.

Розраховують концентрацію креатиніну (X) за формулою:

$$X = (A_{\text{досл}} : A_{\text{станд}}) \times 0,088 \text{ (ммоль/л)} \text{ або } (A_{\text{досл}} : A_{\text{станд}}) \times 88 \text{ (мкмоль/л)},$$

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

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

0,088 ммоль/л (88 мкмоль/л) – концентрація креатиніну в стандартній пробі.

Зробити висновки.

Значення для фармації та клініки. Креатинін – кінцевий продукт обміну креатину. Концентрація креатиніну в крові є досить постійною величиною, що відображає кількість м'язової маси і не залежить від харчування та інших чинників. Креатинін не реабсорбується в ниркових каналцях, тому з діагностичною метою використовують його визначення в крові та сечі для оцінки швидкості клубочкової фільтрації нирок.

Вміст креатиніну в сироватці крові у здорових жінок – 0,044 – 0,097 ммоль/л (або 44 – 97 мкмоль/л); у чоловіків – 0,053 – 0,115 ммоль/л (або 53 – 115 мкмоль/л).

Підвищена концентрація креатиніну в крові спостерігається при гострих і хронічних захворюваннях нирок, активній акромегалії, гігантизмі, гіпертиреозі, на тлі приймання нефротоксичних препаратів, при лейкемії, гемолізі, кетоацидозі.

Зниження даного показника може спостерігатись протягом I і II триместрів вагітності, при жовтяниці, а також при зменшенні м'язової маси (обумовленому віком або м'язовою дистрофією).

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Яку субстратну суміш використовують при визначенні активності АЛАТ уніфікованим динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля?
2. Гідразон пірвіноградної кислоти в лужному середовищі утворює червоно-буре забарвлення. До кількості якої сполуки є прямопропорційною інтенсивність цього забарвлення?
3. У результаті реакції креатиніну та пікринової кислоти в лужному середовищі утворюється кольорова сполука. До кількості якої сполуки є прямопропорційною інтенсивність цього забарвлення?
4. Назвіть нормативні величини креатиніну в сироватці крові для жінок і чоловіків.

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Клініко-діагностичне значення визначення трансаміназ.
2. Синтез та розпад біогенних амінів.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для фармацевтичних спеціальностей. / Загайко А., Александрова К., Склярів О., Вороніна Л., Борзенко Б., Макоїд О., Бондарчук Т., Скоробогатова З. – Х.: Вид-во “Форт”, 2014. – 728 с.
2. Біологічна хімія / Л.В. Вороніна, В.Ф. Десенко, Н.Н. Мадієвська та ін. – Харків: Вид – во НФАУ „Основа”, 2000. – С. 321 – 342.
3. Біологічна хімія і біоорганічна: у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда та ін.; за ред. Ю. І. Губський, І. В. Ніженковської. – К. ВСВ “Медицина”, 2016. – С.191-198.
4. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 397 – 419, 425 – 426

5. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі / Бондарчук Т., Гринчишин Н., Климишин Д., Кобилінська Л., Макаренко Т., Мазур О., Склярів О., Федевич Ю., Фоменко І., Хаврона О. – Л.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 203 - 266.

Додаткова:

1. Біологічна хімія. / Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмендкнига. – 2015. – С. 191 - 198.
2. Клінічна біохімія. Національний підручник / за заг. редакцією Г.Г. Луньової. – К.: Атіка, 2013. – С. 339 – 441.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека.– М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 299 – 342.
4. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярів О.Я. – Львів, 2006. – С. 29 – 37.
5. Механізми біохімічних реакцій : навч. посіб. / Н. О. Сибірна, Я. П. Чайка, Н. І. Климишин, Л. С. Старикович, Г. Я. Клевета, К. П. Дудок; Львів. нац. ун-т ім. І.Франка. - Л., 2009. – С. 225 - 233.

Наукова фахова:

1. Харів М. І. Динаміка активності амінотрансфераз сироватки крові щурів за оксидативного стресу та дії ліпосомального препарату/ М. І. Харів // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина - 2016.- т. 7, № 1- С. 3-7.
2. Раєцька Я. Б. Активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів при злякисному рості карциноми Герена за умов введення антиоксидантного препарату / Я. Б. Раєцька, Т. В. Іщук, О. О. Моргаєнко, Л. І. Остапченко // Медична хімія. - 2013. - № 4. - С. 41 – 44.

Тема № 2. Дослідження процесів детоксикації аміаку та біосинтезу сечовини. Специфічні шляхи обміну амінокислот

Мета заняття: Знати спеціалізовані шляхи перетворення амінокислот, механізм утворення, транспортування та знешкодження аміаку в організмі людини. Засвоїти методи визначення сечовини в біологічних рідинах, вміти інтерпретувати отримані дані.

Мотивація теми: Крім загальних шляхів, які притаманні всім амінокислотам, існують специфічні, властиві тільки окремим із них. Їх продукти можуть відігравати важливу, іноді вирішальну роль у певних метаболічних перетвореннях. У процесі обміну амінокислот та інших азотовмісних сполук утворюється амоніак, знешкодження якого є однією з головних детоксикаційних функцій організму. Проміжні метаболіти, які при цьому утворюються, можуть бути використані для діагностики та контролю за лікуванням.

Конкретні завдання:

- Пояснювати особливості функціонування загальних шляхів метаболізму безазотистих скелетів амінокислот.
- Трактувати метаболічні закономірності утворення та знешкодження аміаку, циркуляторного транспорту аміаку, біосинтезу сечовини.

- *Аналізувати зміни в системах транспорту та знешкодження аміаку при генетичних аномаліях ферментів його метаболізму.*
- *Знати специфічні шляхи перетворення сірковмісних та ациклічних амінокислот (гліцину, серину), особливості обміну амінокислот з розгалуженими ланцюгами.*
- *Кількісно визначати сечовину у біологічних рідинах та інтерпретувати отримані результати.*
- *Давати оцінку проведеним дослідженням.*

Теоретичні питання

1. Шляхи утворення та детоксикації аміаку в організмі.
2. Хімізм, біологічна роль і регуляція орнітинового циклу біосинтезу сечовини. Спадкові порушення синтезу сечовини.
3. Особливості обміну амінокислот з розгалуженими ланцюгами; участь коферментних форм вітаміну B₁₂ у метаболізмі амінокислот.
4. Спеціалізовані шляхи обміну ациклічних амінокислот. Обмін гліцину та серину; роль тетрагідрофолату (H₄-фолату) в перенесенні одновуглецевих фрагментів
5. Застосування інгібіторів дигідрофолатредуктази в якості фармацевтичних засобів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Шляхи утворення та детоксикації аміаку в організмі.**
 - Охарактеризувати шляхи утворення аміаку в організмі людини (окисне дезамінування амінокислот, утворення аміаку в головному мозку (гідролітичне дезамінування АМФ).
 - Дати характеристику шляхам детоксикації аміаку в організмі людини:
 - синтез сечовини
 - утворення глутаміну
 - утворення йону амонію
- 2. Хімізм, біологічна роль і регуляція орнітинового циклу біосинтезу сечовини. Спадкові порушення синтезу сечовини.**
 - Дати визначення
Орнітиновий цикл- це...
 - Написати реакції орнітинового циклу із зазначення їх клітинної локалізації.
 - Описати можливі ензимопатії орнітинового циклу (аміноацидурия I типу, аміноацидурия II типу із зазначенням клініко-біохімічних критеріїв цих патологій.
- 3. Особливості обміну амінокислот з розгалуженими ланцюгами; участь коферментних форм вітаміну B₁₂ у метаболізмі амінокислот.**
 - У конспекті написати схему перетворення амінокислот із розгалуженими ланцюгами.

- Охарактеризувати участь коферментних форм вітаміну Н і В₁₂ у метаболізмі амінокислот із розгалуженими ланцюгами.
 - Охарактеризувати хворобу кленового сиропу (лейциноз) за схемою:
 - причини виникнення
 - клінічні прояви
 - діагностичні критерії виявлення.
- 4. Спеціалізовані шляхи обміну ациклічних амінокислот. Обмін гліцину та серину; роль тетрагідрофолату (Н₄-фолату) в перенесенні одновуглецевих фрагментів.**
- Написати реакції взаємоперетворень гліцину та серину. Вказати їх біологічну роль.
 - Представити схему утворення тетрагідрофолату. Описати та показати схематично механізм участі Н₄-фолату в процесі синтезу ациклічних амінокислот.
- 5. Застосування інгібіторів дигідрофолатредуктази в якості фармацевтичних засобів.**
- Пояснити принцип протипухлинної дії інгібіторів дигідрофолатредуктази.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Похідне вітаміну фолієвої кислоти – тетрагідрофолат – бере участь у перенесенні одновуглецевих фрагментів за умов синтезу
 - A. Гліцину з серину
 - B. Тирозину з фенілаланіну
 - C. Таурину з цистеїну
 - D. Цитруліну з аргініну
 - E. Серотоніну з триптофану

2. При лабораторному дослідженні дитини виявлено підвищений вміст у крові та сечі лейцину, валіну, ізолейцину та їх кетопохідних. Сеча має характерний запах кленового сиропу. Недостатність якого ферменту характерно для цього захворювання?
 - A. Дегідрогеназа розгалужених амінокислот
 - B. Амінотрансфераза
 - C. Глюкозо-6-фосфатаза
 - D. Фосфофруктокіназа
 - E. Фосфофруктомутаза

3. В сечі новонародженого визначається цитрулін та високий рівень аміаку. Вкажіть, утворення якої речовини, найімовірніше, порушене у цього малюка:
 - A. Сечовина
 - B. Аміак
 - C. Креатинін
 - D. Креатин
 - E. Сечова кислота

4. У новонародженої дитини з перших днів тижня спостерігається блювота, наслідком якої є загальна дегідратація. Концентрація аміаку, аланіну та глутамінової кислоти в крові підвищена. Вміст азоту в сечовині дорівнює 2% від вмісту залишкового азоту в крові. Зниження активності якого ензиму печінки може призводити до таких змін метаболізму?

- A. Карбамоїлфосфатсинтетази
- B. Глутаматдегідрогенази
- C. Глутамінсинтетази
- D. Аланінамінотрансферази
- E. γ -Глутамілтрансферази

5. У дитини спостерігаються порушення функцій центральної нервової системи. Клініко-біохімічними дослідженнями виявлено гіперамоніємію та уремію. Попередній діагноз – спадкова гіперамоніємія, зумовлена порушенням синтезу сечовини. Порушення синтезу якого ензиму може спричинити це захворювання?

- A. Орнітинкарбомойлтрансферази
- B. Сульфотрансферази
- C. Гліцинтрансферази
- D. Глюкуронілтрансферази
- E. Глутатіонтрансферази

Ситуаційні задачі

1. У сироватці крові людини виявлено 0,678 мг% креатиніну (М.м.=113) і 90мг% сечовини (М.м.=60). Обчисліть ці показники в мілімолях на літр і поясніть можливість виникнення патології.

2. 2-тижневого малюка принесли до педіатра на плановий профілактичний огляд. Його мати стурбована тим, що в дитини поганий апетит і малюк втрачає вагу, крім того, мати вказує на появу специфічного солодкого запаху від використаних пелюшок. Виявлено, що в його крові міститься надлишкова кількість лейцину, ізолейцину і валіну. Розвиток якого захворювання в дитини можна припустити спираючись на отримані клінічні та лабораторні дані?

Практична робота

Дослід 1. Визначення вмісту сечовини в сечі.

Принцип методу. Метод базується на здатності сечовини, яка містить аміногрупи, утворювати з парадиметиламінобензальдегідом у кислому середовищі комплексну сполуку жовтого кольору. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації сечовини в досліджуваній сечі і визначається фотоколориметрично.

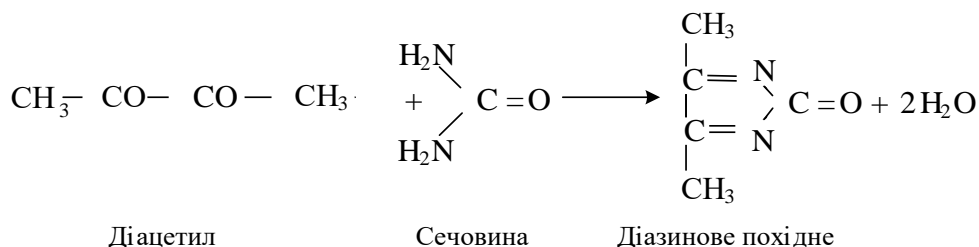
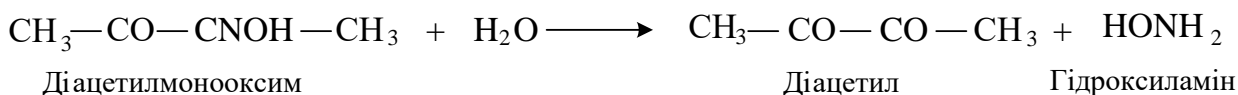
Матеріальне забезпечення: сеча; 2 % розчин парадиметил-амінобензальдегіду (ПДМАБА); стандартний розчин сечовини (2,5 %); ФЕК, піпетки, мікропіпетки, сухі пробірки.

Хід роботи. У пробірку наливають 0,2 мл сечі, додають 1,2 мл розчину ПДМАБА і ретельно перемішують. Через 15 хв пробу фотометрують у сухих кюветах шириною 3 мм (синій світлофільтр, $\lambda = 450 - 480$ нм) проти води. Показник А для контролю – 0,08. Для визначення вмісту сечовини в сечі користуються готовим калібрувальним графіком (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 г сечовини в 100 мл) і розраховують кількість сечовини в г/добу. Коефіцієнт перерахунку в одиниці СІ (ммоль/добу) дорівнює 16,65.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Дослід 2. Визначення вмісту сечовини в сироватці крові та сечі за реакцією з діацетилмонооксимом.

Принцип методу. Сечовина в кислому середовищі за наявності тіосемикарбазиду і солей феруму утворює з діацетилмонооксимом комплексну сполуку червоного кольору, оптична густина якої при зеленому світлофільтрі (500 – 560 нм) пропорційна концентрації сечовини.



Матеріальне забезпечення: розчин трихлорацетатної кислоти (ТХАК) (100 г/л), розчин сечовини (7 ммоль/л – 42г/100 мл), кольоровий реактив – до 30 мл робочого розчину феруму хлориду (основний розчин – 5 г феруму хлориду доводять до 100 мл водою і підкислюють додаванням 1 мл сульфатної кислоти конц.; з основного розчину готують робочий: 1 мл основного розчину феруму хлориду доводять до 100 мл водою, додають 8 мл конц. сульфатної кислоти і 1 мл 85 % ортофосфатної кислоти; зберігають 2 тижні у темному посуді) додають 20 мл води; 1 мл розчину діацетилмонооксиму (25 г/л, водний стабільний розчин) і 0,25 мл розчину тіосемикарбазиду (2,5 г/л водний розчин стабільний при зберіганні у темному посуді за кімнатної температури); спектрофотометр; водяна баня, нагріта до температури 100° С; сироватка крові, добова сеча профільтрована, розведена ізотонічним розчином натрію хлориду або дистильованою водою 1 : 50 або 1 : 100. Кольоровий розчин готують кожен раз перед використанням. Зразки: сироватка (плазма) крові ліпемічна або гемолізована; цільна кров (плазма).

Хід роботи. Хід визначення проводять за таблицею:

Реактиви	Контрольна проба,мл	Стандартна проба,мл	Дослідна проба,мл
H ₂ O	1,0	0,8	0,8
Розчин ТХАК	1,0	1,0	1,0
Досліджуваний зразок	-	-	0,2
Стандартний розчин сечовини	-	0,2	-

Перемішати і центрифугувати 10 хвилин при 3000 об/хв.			
Надосадова рідина	0,5	0,5	0,5
Кольоровий розчин	5,0	5,0	5,0

Вміст пробірок ретельно перемішують, отвір закривають алюмінієвою фольгою і пробірки ставлять у киплячу водяну баню на 20 хв. Потім пробірки швидко охолоджують водою і вимірюють оптичну гуштину стандартної ($A_{\text{станд.}}$) та дослідної ($A_{\text{досл.}}$) проб при зеленому світлофільтрі (500 – 560 нм) проти контрольної проби в кюветі завтовшки 1,0 см. Забарвлення залишається стійким впродовж 15 хв. Звернути увагу на наступне: якщо вміст сечовини в пробі перевищує 17 ммоль/л, пробу необхідно розвести дистильованою водою і аналіз провести повторно. Результат необхідно перемножити на розведення.

Розрахунок вмісту сечовини проводять за формулою:

$$C = (A_{\text{досл.}} : A_{\text{станд.}}) \times 7,$$

де: C – вміст сечовини в дослідній пробі, ммоль/л;

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

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

7 – вміст сечовини у стандартному розчині, ммоль/л.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Синтез сечовини відбувається в печінці (цитозоль і мітохондрії), головним чином, з аміаку, який утворюється при дезамінуванні амінокислот, розпаді пуринових і піримідинових нуклеотидів. За добу з сечею здорової людини виділяється 20 – 35 г (або 333 – 583 ммоль) сечовини. У нормі вміст сечовини в сироватці крові становить 3,3 – 8,3 ммоль/л.

Збільшення вмісту сечовини в сироватці крові є однією з головних ознак порушення видільної функції нирок. Крім того, зростання рівня сечовини у сироватці крові може мати позаниркове походження: втрата організмом рідини (блювання, пронос, зневоднення), посилений розпад білків (гостра жирова дистрофія печінки). Зменшення вмісту сечовини може спостерігатися при захворюваннях печінки (паренхіматозна жовтяниця, цироз печінки) внаслідок порушення її синтезу в цьому органі.

Підвищений вміст сечовини у сечі спостерігають при дефіциті білка в їжі, злякисній анемії, гарячці, інтенсивному розпаді білків в організмі, після прийому саліцилатів, при отруєнні фосфором. Знижений вміст сечовини спостерігається при цирозі печінки, паренхіматозній жовтяниці, нефриті, ацидозі, уремії.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. За допомогою якої реакції можна визначити вміст сечовини в сироватці крові?
2. Скільки сечовини в складі сечі виділяється за добу в здорової людини?
3. Назвіть нормативну величину вмісту сечовини в сироватці крові здорової людини.

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Характеристика побічних, негативних ефектів впливу інгібіторів дигідрофолатредуктази за умов використання їх в якості фармацевтичних препаратів протипухлинної дії.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для фармацевтичних спеціальностей. / Загайко А., Александрова К., Склярів О., Вороніна Л., Борзенко Б., Макоїд О., Бондарчук Т., Скоробогатова З. – Х.: Вид-во “Форт”, 2014. – 728 с.
2. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Харків: Основа. – С. 342 – 346, 443 - 492.
3. Біологічна хімія і біоорганічна: у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда та ін. ; за ред. Ю. І. Губський, І. В. Ніженковської. – К. ВСВ “Медицина”, 2016. – С.198 – 203, 218 - 221.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 295 – 314.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 419 - 435.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів: ЛНМУ, 2015. – С. 167 – 182.

Додаткова:

1. Біологічна хімія. / Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига. – 2015. – С. 191 - 198.
2. Клінічна біохімія. Національний підручник / за заг. редакцією Г.Г. Луцької. – К.: Атіка, 2013. – С. 341 – 345, 354-359.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека.– М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 299 – 342.
4. Механізми біохімічних реакцій : навч. посіб. / Н. О. Сибірна, Я. П. Чайка, Н. І. Климишин, Л. С. Старикович, Г. Я. Клевета, К. П. Дудок; Львів. нац. ун-т ім. І.Франка. - Л., 2009. – С. 234 - 2383.
5. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярів О.Я. – Львів, 2006. – С.82-116.
6. Склярів О.Я., Сольські Я., Великий М.М. та ін.. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія. – Львів: Кварт, 2008. – 218 с.

Наукова фахова:

1. Іваночко Р.Б., Л.П. Білецька., О.Я.Склярів. Зміни показників системи 1-аргінін/нітрогену оксид/аргіназа та оксидативних процесів у плазмі крові хворих з хронічною нирковою недостатністю до та після гемодіалізу // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2014. – № 1. – С. 66-71.

2. Фоменко І.С., Ємельяненко В.Ю., Панасюк Н.Б., Білецька Л.П., Склярів О.Я. Вплив нестероїдних протизапальних препаратів на стан системи NO-синтаза/аргіназа у товстій кишці за умов стресу // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2013. – №2. – С. 207-210.

Тема № 3. Дослідження спеціалізованих шляхів обміну циклічних амінокислот. Порушення та патологія цих обмінів

Мета заняття: Знати спеціалізовані шляхи перетворення циклічних амінокислот в організмі людини. Засвоїти методи визначення фенілпіровиноградної кислоти у біологічних рідинах і креатиніну в сироватці крові. Вміти інтерпретувати отримані дані.

Мотивація теми: Специфічний обмін амінокислот відіграє суттєву роль у загальному обміні речовин організму. У результаті обміну амінокислот утворюються біологічно активні сполуки, які у свою чергу регулюють низку біохімічних і фізіологічних процесів в організмі людини.

Конкретні завдання:

- *Знати специфічні шляхи перетворення циклічних амінокислот (тирозину, фенілаланіну, триптофану),*
- *Трактувати метаболічні шляхи перетворення аргініну.*
- *Знати біохімічні закономірності перетворення сірковмісних амінокислот; реакції метилювання.*
- *Аналізувати зміни обміну тирозину та фенілаланіну при генетичних аномаліях ферментів його метаболізму.*

Теоретичні питання

1. Спеціалізовані шляхи метаболізму циклічних амінокислот фенілаланіну та тирозину, послідовність ферментативних реакцій.
2. Спадкові ензимопатії обміну циклічних ациклічних амінокислот фенілаланіну та тирозину – фенілкетонурія, алкаптонурія, альбінізм.
3. Обмін сірковмісних амінокислот; реакції метилювання.
4. Обмін триптофану: кінуреніновий і серотоніновий шляхи. Спадкові ензимопатії обміну триптофану. Спадкові ензимопатії.
5. Обмін аргініну; біологічна роль оксиду азоту, NO-синтаз.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. **Спеціалізовані шляхи метаболізму циклічних амінокислот фенілаланіну та тирозину, послідовність ферментативних реакцій.**
 - В конспекті подати у вигляді схеми послідовність хімічних перетворень фенілаланіну та тирозину.
 - Описати основні шляхи метаболізму фенілаланіну.
 - Описати основні шляхи метаболізму тирозину.

2. Спадкові ензимопатії обміну циклічних амінокислот фенілаланіну та тирозину – фенілкетонурія, алкаптонурія, альбінізм.

- В конспекті вказати спадкові ензимопатії зумовлені порушенням обміну фенілаланіну та тирозину(фенілкетонурія, альбінізм, алкаптонурія) із зазначенням дефектних ферментів та назвами метаболітів, що накопичуються при даній патології.

3. Обмін сірковмісних амінокислот; реакції метилування.

- В конспекті представити схему обміну цистеїну та цистину.
- Представити схему обміну метіоніну та гомоцистеїну.
- Охарактеризувати роль S - аденозилметіоніну у реакціях трансметилування.
- В конспекті охарактеризувати цикл активного метилу.

4. Обмін триптофану: кінуреніновий та серотоніновий шляхи. Спадкові ензимопатії.

- В конспекті подати схему обміну триптофану. Охарактеризувати два основні біохімічні шляхи перетворення триптофану (*серотоніновий, кінуреніновий*).
- Охарактеризувати спадкові ензимопатії зумовлені порушенням обміну триптофану.

5. Обмін аргініну; біологічна роль оксиду азоту, NO-синтаз.

- Представити реакцію синтезу оксиду азоту.
- В конспекті подати у вигляді схеми процеси перетворення аргініну.
- Назвати та охарактеризувати типи NO-синтаз.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У хворого на алкаптонурію хлопчика віком 2 роки сеча набуває чорного забарвлення після відстоювання. Інші ознаки захворювання не спостерігаються. Ця хвороба є спадковим порушенням...

- A. Обміну тирозину
- B. Синтезу сечовини
- C. Синтезу сечової кислоти
- D. Обміну аланіну
- E. Обміну цистеїну

2. Хлопчик скаржиться на неможливість перебування під сонячними променями. Спостерігаються опіки шкіри, порушення зору. Поставлений діагноз – альбінізм. Про дефіцит якого ензиму свідчать ці зміни?

- A. Тирозинази
- B. Фенілаланінгідроксилази
- C. ДОФА-оксидази
- D. Орнітинкарбамоїл-трансферази
- E. Аргінази

3. Похідне вітаміну фолієвої кислоти – тетрагідрофолат – бере участь у перенесенні одновуглецевих фрагментів за умов синтезу...
- A. Гліцину з серину
 - B. Тирозину з фенілаланіну
 - C. Таурину з цистеїну
 - D. Цитруліну з аргініну
 - E. Серотоніну з триптофану
4. Для лікування хвороби Паркінсона використовують L-ДОФА та його похідні. З якої амінокислоти утворюється ця речовина?
- A. Тирозину
 - B. Аспарагіну
 - C. Глутамату
 - D. Триптофану
 - E. Аргініну
5. У пацієнта, що страждає на спадкове захворювання Хартнупа, спостерігаються пелагроподібні ураження шкіри, порушення розумового розвитку в результаті нестачі коферменту НАД. Причиною цього захворювання є порушення:
- A. Всмоктування та реабсорбції в нирках триптофану
 - B. Трансамінування фенілаланіну
 - C. Декарбоксилування триптофану
 - D. Всмоктування і реабсорбції в нирках метіоніну
 - E. Всмоктування і реабсорбції в нирках цистеїну

Ситуаційні задачі

1. У лікарню привезли дворічну дитину. Після споживання їжі в неї часто виникає блювота. Дитина відстає у масі тіла, фізичному та розумовому розвитку. Волосся темне, але є сиве пасмо. Проба сечі після додавання FeCl_3 набула зеленого забарвлення. Результати кількісного аналізу сечі такі: вміст фенілаланіну – 7 ммоль/л за норми 0,01; вміст фенілпірувату – 4,8 ммоль/л за норми 0; вміст феніллактату – 10,3 ммоль/л за норми 0. Про яке порушення метаболізму свідчать отримані дані? Що можна порекомендувати для нормалізації метаболізму стосовно лікувального харчування у цьому випадку?

Практична робота

Дослід 1. Проба Фелінга. Якісна реакція на фенілпіровиноградну кислоту.

Принцип методу. Фенілпіровиноградна кислота утворює з іонами тривалентного феруму комплексну сполуку, забарвлену у синьо-зелений колір.

Матеріальне забезпечення: сеча хворого на фенілкетонурію, 10 % розчин феруму хлориду, крапельниці, фільтри, піпетки.

Хід роботи. До 2 мл свіжовідфільтрованої сечі додають 8 – 10 крапель 10 % розчину FeCl_3 . За наявності у сечі фенілпіровиноградної кислоти через 30 – 60 с. з'являється синьо-зелене забарвлення, яке зникає поступово впродовж 5 – 30 хв. у залежності від концентрації фенілпіровиноградної кислоти в сечі.

Значення для фармації та клініки. Природжена відсутність у печінці дітей ферменту фенілаланін-4-монооксигенази призводить до блокування окиснення фенілаланіну в тирозин і, відповідно, всіх подальших метаболічних перетворень тирозину. Нагромадження у крові та тканинах фенілаланіну та продуктів його розпаду, в тому числі фенілпіровиноградної кислоти, викликає інтоксикацію організму. Наслідком цього є порушення нормального розвитку мозку і тяжкі неврологічні розлади. Діагностичним критерієм цього спадкового захворювання є підвищений вміст фенілаланіну в крові та виділення фенілпіровиноградної кислоти з сечею.

У нормі концентрація фенілаланіну в крові дітей становить: до 1 місяця – 0,133 ммоль/л, 1 місяць – 1 рік – 0,095 ммоль/л, 1 рік – 14 років – 0,115 ммоль/л.

Пробу на фенілпіровиноградну кислоту можна проводити на фільтрувальному папері. Смужку фільтрувального паперу змочують сечею, висушують на повітрі і наносять краплю 10 % розчину FeCl_3 . Позитивна проба дає синьо-зелене забарвлення. Аналогічну пробу можна проводити на сухій або мокрій дитячій пелюшці.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. За допомогою якої реакції можна визначити кількість фенілпіровиноградної кислоти в сечі?
2. Яка в нормі концентрація фенілаланіну в крові дітей?
3. Назвіть діагностичні критерії фенілкетонурії?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Шляхи метаболізму фенілаланіну; спадкові ензимопатії обміну фенілаланіну.
2. Особливості застосування аргініну в якості фармацевтичного препарату.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для фармацевтичних спеціальностей. / Загайко А., Александрова К., Склярів О., Вороніна Л., Борзенко Б., Макоїд О., Бондарчук Т., Скоробогатова З. – Х.: Вид-во “Форт”, 2014. – 728 с.
2. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Харків: Основа. – С. 57 – 60, 348 - 351.
3. Біологічна хімія і біоорганічна: у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда та ін. ; за ред. Ю. І. Губський, І. В. Ніженковської. – К. ВСВ “Медицина”, 2016. – С.225 -230, 436 – 451.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2009. – С. 560 - 584.

5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 66-70, 74-83, 93-98.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів: ЛНМУ, 2015. – С. 182 – 188, 348 – 356.

Додаткова:

1. Біологічна хімія. / Скляров О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига. – 2015. – С. 572 - 582.
2. Клінічна біохімія. Національний підручник / за заг. редакцією Г.Г. Луньової. – К.: Атіка, 2013. – С. 399-425.
3. Механізми біохімічних реакцій : навч. посіб. / Н. О. Сибірна, Я. П. Чайка, Н. І. Климишин, Л. С. Старикович, Г. Я. Клевета, К. П. Дудок; Львів. нац. ун-т ім. І.Франка. - Л., 2009. – С. 155-158.
4. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
5. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярова О.Я. – Львів, 2006. – С.97-98.
6. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека.– М.: Мир; Бинум. Лаборатория знаний, 2009. – т. 1., – С. 366-371.

Наукова фахова:

1. Милославський Д. К. Сучасні погляди на роль і місце лікувально профілактичної дієтетики при захворюваннях внутрішніх органів / Д. К. Милославський // Український терапевтичний журнал. - 2016. - № 3. - С. 83-92.
2. Крючко Т.А. Метаболический синдром и неалкогольная жировая болезнь печени в педиатрической практике – что первично/ Крючко Т.А., Пода О.А. // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. – 2015. -№ 7(1). – С.25-33.

Розділ 6.

Біохімічні аспекти молекулярної біології та генетики

Тема № 4. Дослідження біохімічного складу пуринових та піримідинових нуклеотидів. Біохімічні функції нуклеотидів та нуклеїнових кислот

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

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

Конкретні завдання:

- Знати хімічну будову складових частин нуклеопротейнів, будову і функціонування нуклеїнових кислот, їх роль в процесах біосинтезу білка.

- *Вміти виділити нуклеопротеїни з тканин і провести якісні реакції на їх складові компоненти: а) біуретова проба на поліпептиди; б) реакція Тромера на пентози; в) срібна проба на пуринові основи; г) молібденова проба на фосфатну кислоту.*
- *Знати приклади застосування похідних азотистих основ у фармації та медицині.*

Теоретичні питання

1. Компоненти нуклеозидів і нуклеотидів. Мінорні азотисті основи та нуклеотиди.
2. Вільні біологічно активні нуклеотиди та їх біохімічні функції: участь у метаболічних реакціях (АТФ, НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, ЦТФ, УТФ) та їх регуляції (циклічні нуклеотиди – 3',5'-АМФ, 3',5'-ГМФ).
3. Нуклеїнові кислоти: структура, властивості, історичні етапи вивчення. Первинна структура нуклеїнових кислот, полярність полінуклеотидів, особливості первинної структури ДНК та РНК.
4. Будова, властивості та біологічні функції ДНК. Експериментальне доведення генетичної ролі ДНК (феномен трансформації). Молекулярна маса, розміри та нуклеотидний склад молекул ДНК вірусів, прокариотів та еукаріотів.
5. Вторинна структура ДНК, роль водневих зв'язків у її утворенні (правила Чаргафа, модель Уотсона-Кріка), антипаралельність ланцюгів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Компоненти нуклеозидів і нуклеотидів. Мінорні азотисті основи та нуклеотиди.

- Дати визначення ключовим словам:

Азотисті основи – це ...

Пуринові азотисті основи: ...

Піримідинові азотисті основи: ...

Нуклеозиди — це...

Нуклеотиди — це ...

- Написати формули пуринових та піримідинових нуклеозидів та нуклеотидів.

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

Азотиста основа	Нуклеозид (азотиста основа+ пентоза)	Нуклеотид (азотиста основа+ пентоза+ фосфатна кислота)	Абревіатура нуклеотидів	Однобуквений код нуклеотидів (англ./укр.)
в ДНК				

Аденін			5'- дАМФ	
Гуанін		д-Гуанозин-5'- монофосфат		
Цитозин	Дезоксицитидин			
Тимін				T/T
в РНК				
Аденін	Аденозин			
Гуанін				G/ Г
Цитозин			5'- ЦМФ	
Урацил		Уридин-5'- монофосфат		

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

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

▪ Написати формули наступних вільних біологічно-активних нуклеотидів та їх біологічну роль у метаболічних реакціях:

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

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

▪ Описати структуру, властивості, історичні етапи вивчення нуклеїнових кислот.

▪ Представити у вигляді таблиці відмінності у первинній структурі ДНК та РНК

Властивості	РНК	ДНК
Кількість ланцюгів		
Склад азотистих основ		
Вид присутніх пентоз		

▪ Пояснити, чим зумовлена полярність полінуклеотидів.

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

- Описати будову, властивості та біологічні функції ДНК: збереження, передавання та реалізація спадкової інформації.
- Пояснити феномен трансформації (експериментальне доведення генетичної ролі ДНК), дослідження Ф.Гріффіта та О.Евері.
- Написати структурну формулу фрагменту ДНК:
 - А---Т-
 - | |
 - Г---Ц-
- Подати у вигляді таблиці порівняльну характеристику ДНК вірусів, прокариотів та еукаріотів за молекулярною масою та розмірами.

ДНК	Молекулярна маса	Розміри
ДНК вірусів		
ДНК прокариот		
ДНК еукаріот		

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

- Написати правила Чаргафа.
- Зобразити схематично та описати модель ДНК Уотсона-Кріка (дати кількісну характеристику кроку спіралі та діаметру спіралі В-форми ДНК).
- Пояснити, як відбувається стабілізація ланцюгів ДНК (водневі, стекінг-взаємодії), дати визначення поняттю антипаралельність ланцюгів.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. РНК вірусу СНІДу проникла всередину лейкоцита і за допомогою ензима ревертази спричинила синтез у клітині вірусної ДНК. В основі цього процесу лежить...

- А.Зворотня транскрипція
- В. Дерепресія оперону
- С. Репресія оперону
- Д. Конваріантна реплікація
- Е. Зворотня трансляція

2. Із нітратів, нітритів і нітрозамінів в організмі утворюється азотиста кислота, яка зумовлює окисне дезамінування азотистих основ нуклеотидів. Це може призвести до точкової мутації – заміни цитозину на..

- А.Тимін
- В. Урацил
- С. Аденін
- Д. Гуанін
- Е. Інозин

3. Нітрозаміни належать до дезамінуючих мутагенів. З якої азотистої основи в результаті їх дії утворюється урацил?

- А. Цитозину

- В. Аденіну
- С. Гуаніну
- Д. Тиміну
- Е. Метилурацилу

4. Відповідно до моделі подвійної спіралі ДНК, запропонованої Уотсоном і Криком, було становлено, що один з ланцюгів зберігається при реплікації, а інший синтезується комплементарно першому. Як називається цей спосіб реплікації?

- А. Напівконсервативний
- В. Аналогічний
- С. Ідентичний
- Д. Дисперсний
- Е. Консервативний

5. В ході регенерації епітелію слизової оболонки порожнини рота (розмноження клітин) відбулася реплікація (авторепродукція) ДНК за напівконсервативним механізмом. При цьому нуклеотиди нової нитки ДНК є комплементарними до:

- А. Материнської нитки
- В. Змістовних кодонів
- С. Ферменту ДНК-полімерази
- Д. Інтронних ділянок гену
- Е. Ферменту РНК-полімерази

Ситуаційні задачі

1. Новонароджені у період вигодовування не отримують нуклеїнових кислот з молоком, але вони інтенсивно ростуть, збільшується кількість клітин, безперервно відбувається гемопоєз, синтез білків, тобто відбуваються процеси, що потребують іРНК, рРНК, тРНК. ДНК. За рахунок яких речовин утворюються нуклеїнові кислоти в організмі?
2. У двох препаратах ДНК вміст аденіну становить відповідно 25 і 12% від загального вмісту азотистих основ. Обчисліть відносний вміст тиміну, цитозину і гуаніну в цих препаратах ДНК.

Практична робота

Якісні реакції на складові частини нуклеопротейнів

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

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

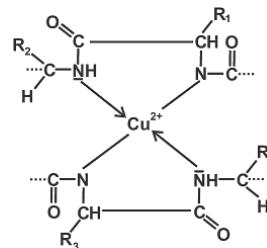
Хід роботи: У велику широку пробірку (15 x 1,5 см) кладуть 500 мг пекарських дріжджів або 100 мг сухих дріжджів, заливають 4 мл 10 % розчину

H₂SO₄. Пробірку закривають корком, у який вставлена трубка довжиною 25-30 см, яка служить холодильником, збовтують і ставлять у киплячу водяну баню.

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

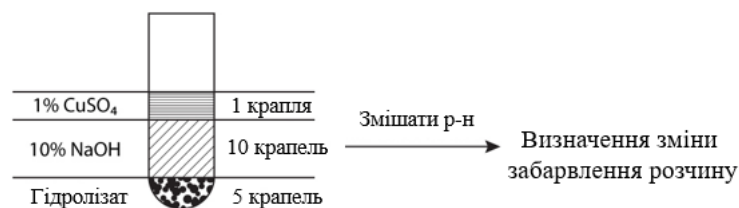
Дослід 1. Біуретова проба на поліпептиди.

Принцип методу. Біуретова реакція – характерна на сполуки, що містять у своєму складі не менше двох пептидних зв'язків. Такі речовини у лужному середовищі утворюють з CuSO₄ комплекс рожево-фіолетового забарвлення. В утворенні цього комплексу беруть участь пептидні зв'язки поліпептидів і білків.



Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, 10 % розчин NaOH, 30 % розчин NaOH, 1% розчин CuSO₄, пробірки, піпетки.

Хід роботи: До 5 крапель гідролізату додають 10 крапель 10 % розчину NaOH і 1 краплю 1 % розчину CuSO₄. Рідина забарвлюється в рожево-фіолетовий колір.



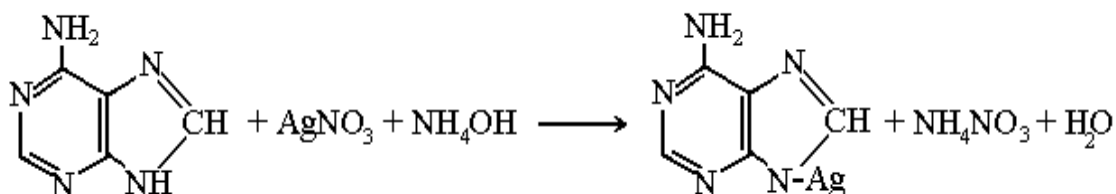
У висновку пояснити, що в даній реакції виявляються пептидні зв'язки, якими амінокислоти сполучаються між собою.

Дослід 2. Срібна проба на пуринові основи.

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

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, конц. розчин NH₄OH, 1% розчин AgNO₃, пробірки, піпетки.

Хід роботи: 10 крапель гідролізату нейтралізують концентрованим аміаком і додають 5 крапель 1 % розчину AgNO₃. При стоянні через 3-5 хв випадає невеликий пухкий осад світло-коричневого кольору срібних солей пуринових основ (аденіну, гуаніну). Реакція відбувається за рівнянням:



Зробити висновок.

Дослід 3. Проба Тромера на рибозу і дезоксирибозу.

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

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, 30 % розчин NaOH, 1% розчин CuSO₄, 7 % розчин CuSO₄, пробірки, піпетки.

Хід роботи: До 5 крапель гідролізату додають 10 крапель 30 % розчину NaOH і 5 – 10 крапель 7 % розчину CuSO₄ до появи муті Cu(OH)₂, яка не зникає. Рідину змішують і верхній її шар нагрівають до кипіння. Випадає червоний осад закису міді (внаслідок окиснення рибози і відновлення гідрату окису міді до закису).



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

Дослід 4. Реакція на дезоксирибозу та рибозу з дифеніламіном.

Принцип методу. Дифеніламін реагує з пентозами з утворенням сполук синьо-зеленого кольору.

Матеріальне забезпечення: гідролізат дріжджів, 1 % розчин дифеніламіну, пробірки, піпетки, водяна баня.

Хід роботи: До 5 крапель гідролізату додають 20 крапель 1 % розчину дифеніламіну і кип'ятять на водяній бані 15 хв; при цьому утворюється сполука синьо-зеленого забарвлення, що вказує на присутність пентоз.

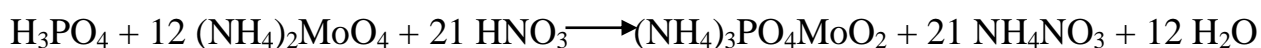
Зробити висновок.

Дослід 5. Молібденова проба на фосфатну кислоту.

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

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

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



У висновку акцентується увага на утворенні комплексної сполуки амонію фосфатномолібденового.

Результати досліджень оформити у вигляді таблиці:

Назва реакції	Продукти гідролізу нуклеопроїєнів	Компоненти нуклеопроїєнів

Значення для фармації і клініки. Аналіз ДНК є стандартним дослідженням для діагностики спадкових захворювань. Він може бути використаний для генотипування фетальної тканини в пренатальній діагностиці, яку застосовують для виявлення потенційних батьків.

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

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Що таке повний і неповний гідроліз нуклеопроїєнів?
2. Назвати продукти гідролізу нуклеопроїєнів.
3. Які продукти гідролізу виявляють пробою Тромера?
4. Які продукти гідролізу дають біуретову реакцію?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Структура, властивості та біологічне значення нуклеопроїєнів, фосфопроїєнів, ліпопроїєнів та глікопроїєнів.
2. Особливості синтезу та розпаду нуклеопроїєнів, глікопроїєнів і протеогліканів.

Література

Основна:

1. Біохімія : підручник для студентів фармацевтичних спеціальностей / [Загайко А.Л., Александрова К.В., Складов О.Я. та ін.]. - Х. : Форт, 2014. – С. 143 - 162.
2. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
4. Біологічна хімія : тести та ситуаційні задачі : навчальний посібник [для студ. вищ. медич. навч. закл.] / за ред. О.Я. Складова. – Львів : Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 188 - 196.

5. Практикум з біологічної хімії / за ред. О.Я. Склярова. – К. : Здоров'я, 2002. – С. 289.
6. Бойків Д.П. Клінічна біохімія: підручник / [Д.П.Бойків, Т.І.Бондарчук, О.Л.Іванків та ін.]. - К.: Медицина, 2006. – С. 48 – 52, 92 - 96.

Додаткова:

1. Іншина Н. М. Основи молекулярної біології : навчальний посібник / Н. М. Іншина. - Суми : Сумський державний університет, 2019. - 121 с.
2. Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2022. Т. 3. – 296 с.
3. Скляров О.Я. Біологічна хімія / Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 270 - 274.

Наукова фахова:

1. Крячко Е.С. Гіпотеза Уотсона-Кріка про рідкісну таутомерну мутацію і реальність. Біофізичний вісник. 2020, Вип. 43. – С.121 – 132.
2. Гребнєв Я.В., Садовський М.Г. Порухення другого правила Чаргаффа в геномах вірусу гепатиту В і С. Інформаційні технології в науці. 2018. – С.78 - 85
3. Гордієнко Ю.А., Шевцова А.І. Вільна ДНК у плазмі крові за норми та при патологічних станах. Лабораторна діагностика. 2019, №1. С. 3-14.

Тема № 5. Біосинтез та катаболізм пуринових і піримідинових нуклеотидів. Визначення кінцевих продуктів їх обміну. Спадкові порушення обміну нуклеотидів

Мета заняття: Засвоїти особливості реакцій синтезу та розпаду пуринових і піримідинових нуклеотидів у нормі та за умов природжених ензимопатій цих процесів. Знати механізм дії фармацевтичних препаратів, які використовуються для корекції порушень обміну нуклеотидів. Оволодіти методами визначення кількості сечової кислоти у біологічних рідинах та вміти інтерпретувати отримані дані.

Мотивація теми: Порушення процесів біосинтезу та катаболізму пуринових і піримідинових азотистих основ і нуклеотидів можуть призводити до розвитку синдрому Леша-Ніхана, подагри, оротацидурії. Знання основних метаболітів та ензимів цих процесів є необхідним для діагностики та контролю за лікуванням.

Конкретні завдання:

- *Аналізувати послідовність реакцій біосинтезу та катаболізму пуринових нуклеотидів, порушення синтезу сечової кислоти і біохімічні основи розвитку подагри.*
- *Аналізувати послідовність реакцій біосинтезу та катаболізму піримідинових нуклеотидів.*
- *Вміти кількісно визначати сечову кислоту в біологічних рідинах та інтерпретувати отримані результати.*

Теоретичні питання

1. Біосинтез пуринових нуклеотидів: схема реакцій синтезу ІМФ; утворення АМФ і ГМФ. Регуляція біосинтезу пуринових нуклеотидів за принципом негативного зворотного зв'язку (ретроінгібування).
2. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: схема реакцій, регуляція синтезу. Оротацидурия.
3. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Утворення тимідилових нуклеотидів; інгібітори біосинтезу дТМФ як протипухлинні засоби.
4. Катаболізм пуринових нуклеотидів.
5. Спадкові порушення обміну сечової кислоти. Клініко-біохімічна характеристика гіперурикемії, подагри, синдрому Леша-Ніхана. Використання фармацевтичних препаратів для корекції порушень обміну нуклеотидів.
6. Схема катаболізму піримідинових нуклеотидів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Біосинтез пуринових нуклеотидів: схема реакцій синтезу ІМФ; утворення АМФ і ГМФ. Регуляція біосинтезу пуринових нуклеотидів за принципом негативного зворотного зв'язку (ретроінгібування).**
 - Представити послідовність реакцій синтезу ІМФ; утворення АМФ, ГМФ, АТФ, ГТФ; вказати метаболіти, ферменти
 - Дати пояснення механізму синтезу нуклеотидів – de novo; вказати локалізацію цього процесу.
 - Представити у вигляді схеми контроль синтезу пуринових нуклеотидів.
- 2. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: схема реакцій, регуляція синтезу. Оротацидурия.**
 - Написати послідовність ферментативних реакцій біосинтезу піримідинових нуклеотидів; зазначити регуляторні ферменти
 - Представити біохімічний механізм виникнення первинних і вторинних оротацидурий, описати їх клінічні прояви та лікування
- 3. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Утворення тимідилових нуклеотидів; інгібітори біосинтезу дТМФ як протипухлинні засоби.**
 - Представити схему біосинтезу дезоксирибонуклеотидів та пояснити механізм перетворення рибонуклеотидів на дезоксирибонуклеотиди
 - Написати схему утворення тимідилових нуклеотидів
 - Пояснити механізм дії протипухлинних засобів - структурних аналогів дТМФ, похідних птерину
- 4. Катаболізм пуринових нуклеотидів.**
 - Представити схему перетворення пуринових нуклеотидів з утворенням сечової кислоти
 - Вказати на відмінності вказаного обміну у різних видів тварин

5. Спадкові порушення обміну сечової кислоти. Клініко-біохімічна характеристика гіперурикемії, подагри, синдрому Леша-Ніхана. Використання фармацевтичних препаратів для корекції порушень обміну нуклеотидів.

- Дати клініко-біохімічну характеристику гіперурикемії, подагри, синдрому Леша-Ніхана; вказати причини надмірного нагромадження сечової кислоти в крові та навести фактори, які сприяють гіперурикемії
- Навести приклади фармпрепаратів, які використовують для лікування вказаних станів та описати механізм їх дії.

6. Схема катаболізму піримідинових нуклеотидів.

- Представити схему катаболізму піримідинових нуклеотидів; зазначити метаболізм продуктів їх розпаду.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Пацієнту з ішемічною хворобою серця призначено рибоксин (інозин), який є проміжним метаболітом синтезу:

- A. Пуринових нуклеотидів
- B. Металопротеїнів
- C. Ліпопротеїнів
- D. Глікопротеїнів
- E. Кетонових тіл

2. Чоловік 55 років, що страждає на болі в нирках, надійшов в лікарню. При ультразвуковому обстеженні пацієнта виявлено ниркові камені. Наявність якої речовини в сечі є найвірогіднішою причиною утворення каменів в даного пацієнта?

- A. Сечової кислоти
- B. Білірубину
- C. Білівердину
- D. Уробіліну
- E. Креатиніну

3. Хворий 48 років звернувся до лікаря зі скаргами на сильні болі, припухлість, почервоніння суглобів, підвищення температури до 38°C. В крові виявлено високий вміст уратів. Ймовірною причиною такого стану може бути порушення обміну:

- A. Пуринів
- B. Колагену
- C. Холестерину
- D. Піримідинів
- E. Вуглеводів

4. Біосинтез пуринового кільця відбувається на рибозо-5-фосфаті шляхом поступового нарощування атомів Нітрогену і Карбону та замикання кілець. Джерелом рибозофосфату є:
- A. Пентозофосфатний цикл
 - B. Гліколіз
 - C. Глікогенез
 - D. Глюконеогенез
 - E. Глікогеноліз
5. Онкохворому призначили фторурацил, який є конкурентним інгібітором тимідинсинтетази. З пригніченням якого процесу пов'язана його дія?
- A. Синтезу піримідинових нуклеотидів
 - B. Розпаду вуглеводів
 - C. Синтезу пуринових нуклеотидів
 - D. Розпаду пуринових нуклеотидів
 - E. Синтезу ліпідів

Ситуаційні задачі

1. Хворий, 58 років, звернувся до лікаря зі скаргами на біль у суглобах рук (переважно у нічний час) та обмеження рухових функцій. Об'єктивно: болюча припухлість уражених суглобів. У результаті біохімічних досліджень виявлено високий вміст сечової кислоти у сироватці крові та сечі, під час ультразвукового дослідження – ниркові камені. Яке захворювання розвинулось в хворого? Наслідком порушення якого процесу є даний патологічний стан? Який лікарський препарат можна рекомендувати для зниження вмісту сечової кислоти, вкажіть механізм його дії.
2. Хлопчик, 7 років, поступив у клініку зі спадковим захворюванням, яке характеризується поєднанням симптомів подагри (підвищений вміст сечової кислоти в крові та сечі) та нервово-психічними розладами з проявами само агресії. Який синдром розвинувся у дитини? Наслідком якого метаболічного порушення є дане захворювання?
3. У шкірі пацієнта В. виявлено щільну, рухому, чітко відмежовану від прилеглих тканин пухлину. Після проведення гістологічних досліджень виявлено: на розрізі вона білого кольору, представлена волокнистою тканиною, клітин мало. Встановлено діагноз: фіброма. Призначено протипухлинний препарат метотрексат – структурний аналог фолієвої кислоти. Однак через деякий час клітини пухлини втратили до нього чутливість. Поясніть механізм дії цього препарату. Які стадії синтезу нуклеотидів будуть інгібуватися? Поясніть причини втрати чутливості до вказаного препарату. Внаслідок ампліфікації якого гена це відбулося?

Практична робота

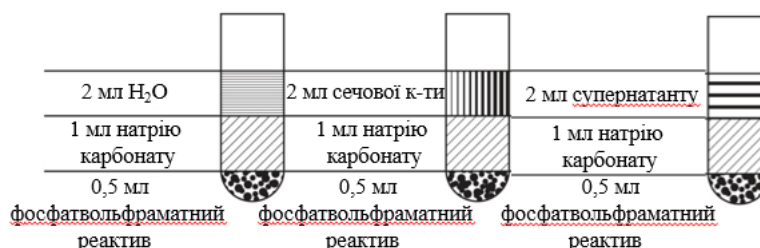
Дослід 1. Кількісне визначення сечової кислоти в сироватці крові.

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

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

Хід роботи: У центрифужну пробірку вміщують 0,5 мл сироватки крові та 4 мл дистильованої води. Вміст пробірки перемішують і додають 0,25 мл 0,35 М розчину сульфатної кислоти та 0,25 мл 10 % розчину натрію дигідрогенвольфрамат дигідрату. Вміст пробірки перемішують і через 5 хв центрифугують впродовж 10 хв зі швидкістю 3 000 об/хв. Відбирають надосадову рідину. Беруть три пробірки і вносять у них реактиви згідно таблиці:

Реактиви	Контрольна проба, мл	Стандартна проба, мл	Дослідна проба, мл
Надосадова рідина	-	-	2
Стандартний р-н сечової кислоти	-	2	-
Вода дистильована	2	-	-
Розчин натрію карбонату	1	1	1
Фосфатвольфраматний реактив	0,5	0,5	0,5



Вміст пробірок перемішують. Через 30 хв визначають оптичну густина стандартної та дослідних проб за довжини хвилі 640 нм (590 – 700 нм, червоний світлофільтр) проти контрольної проби у кюветі завтовшки 10 мм. Блакитне забарвлення залишається стабільним впродовж 30 хв.

Розрахунок вмісту сечової кислоти проводять за формулою:

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

де: С – вміст сечової кислоти в дослідній пробі, мкмоль/л;

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

$A_{\text{конт}}$ – оптична густина контрольної проби;

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

10 – величина розведення сироватки.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Дослід 2. Кількісне визначення сечової кислоти в сечі.

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

Матеріальне забезпечення: сеча, фосфатвольфраматний реактив Фоліна, 20 % розчин натрію карбонату Na_2CO_3 , 0,01н розчин калію фериціаніду $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (червона кров'яна сіль), стандартний розчин сечової кислоти (0,5 мг в 1 мл), мікробюретки, колбочки для титрування, піпетки, пробірки.

Хід роботи. Паралельно до 1,5 мл сечі та 1,5 мл стандартного розчину сечової кислоти додають по 1 мл 20 % розчину натрію карбонату і по 1 мл фосфатвольфраматного реактиву Фоліна, змішують і титрують 0,01 н розчином калію фериціаніду до зникнення синього забарвлення.

Вміст сечової кислоти в добовій сечі (у міліграмах) вираховують за формулою:

$$X = \frac{0,75 \times B \times D}{1,5 \times C} ,$$

де: 0,75 – кількість сечової кислоти у стандартній пробі, мг;

B – кількість калію фериціаніду, що пішла на титрування дослідної проби сечі, мл;

C – кількість калію фериціаніду, що пішла на титрування стандартної проби сечової кислоти, мл;

D – добовий діурез (1 500 мл).

Коефіцієнт перерахунку в одиниці СІ (ммоль/добу) дорівнює 0,0059.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Утворена в результаті розпаду пуринових основ сечова кислота виділяється нирками. У нормі в людини з сечею виділяється 1,60 - 3,54 ммоль/добу (270 - 600 мг/добу) сечової кислоти. Нормальний вміст сечової кислоти в сироватці крові становить для чоловіків – 240 - 530 мкмоль/л (0,05 - 0,06 г/л), для жінок приблизно на 25 % менше – 185 - 440 мкмоль/л (0,04 - 0,05 г/л).

Гіперурикемія – зростання концентрації сечової кислоти в крові, гіперурикурія (гіперуратурія) – збільшення вмісту сечової кислоти в сечі. Гіперурикемія супроводжує подагру – захворювання, що виникає за умов преципітації уратів у тканинах, першою чергою, у суглобах. Сечова кислота та її солі надзвичайно погано розчиняються у воді, їх концентрація в рідинах організму за умов норми наближена до межі розчинності. Для лікування подагри використовують препарати, що гальмують утворення сечової кислоти (алопуринол) або стимулюють виведення її нирками (антуран, цинхофен). У хворих на подагру концентрація сечової кислоти у крові майже завжди перевищує 0,075 – 0,080 г/л, а під час утворення подагричних ущільнень вміст її рідко буває нижчим за 0,08 – 0,09 г/л.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Яким методом можна визначити рівень сечової кислоти в сечі (пояснити принцип методу)?
2. Який вміст сечової кислоти у крові і сечі здорової дорослої людини ?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Роль аденілових нуклеотидів у регуляції активності ензимів.
2. Фази клітинного циклу еукаріотів.

Література

Основна:

1. Біохімія : підручник для студентів фармацевтичних спеціальностей / [Загайко А.Л., Александрова К.В., Склярів О.Я. та ін.]. - Х. : Форт, 2014. – С. 433 – 437.
2. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.]. – К. : ВСВ «Медицина», 2016. – С. 231 – 247.
3. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
4. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
5. Біологічна хімія : тести та ситуаційні задачі : навчальний посібник [для студ. вищ. медич. навч. закл.] / за ред. О.Я. Склярова. – Львів : Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 188 – 196.
6. Практикум з біологічної хімії / за ред. О.Я. Склярова. – К. : Здоров'я, 2002. – С. 180 - 189.
7. Бойків Д.П. Клінічна біохімія : підручник / [Д.П.Бойків, Т.І.Бондарчук, О.Л.Іванків та ін.]. - К.: Медицина, 2006. – С. 48 – 52, 92 - 96.

Додаткова:

1. Склярів О.Я. Біологічна хімія / Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 274 – 291.
2. Іншина Н. М. Основи молекулярної біології : навчальний посібник / Н. М. Іншина. Суми: Сумський державний університет, 2019. - 121 с.
3. Клінічна біохімія: підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2022. Т. 3. – 296 с.
4. Механізми біохімічних реакцій / За ред. Сибірної Н.О. ЛНУ, 2021. – 320 с.

Наукова фахова:

1. А. О. Полстяной. Подагра: короткий історичний огляд // Український журнал медицини, біології та спорту, 2019. – Том 4, № 2 (18). – С. 33 – 36.
2. А Полстяной, Л Побеленцева. Генетичні передумови гіперурикемії: Літературний огляд // Молодий вчений, 2019. - № 10 (74). С. 421 – 424. <https://doi.org/10.32839/2304-5809/2019-10-74-90>.

3. Chen C.J., Tseng C.C., Yen J.H. et al. ABCG2 contributes to the development of gout and hyperuricemia in a genomewide association study. Scientific Reports. 2018. Vol. 8 (1). Pp. 31 - 37.

Тема 6. Реплікація ДНК та транскрипція РНК. Аналіз механізмів мутацій, репарацій ДНК. Принципи отримання рекомбінантних ДНК і трансгенних білків. Мутації

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

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

Конкретні завдання:

- *Оволодіти методом кількісного визначення ДНК в біологічному матеріалі з метою оцінки інтенсивності реплікаційних та біосинтетичних процесів.*
- *Трактувати молекулярно-біологічні закономірності збереження та передачі генетичної інформації, роль ферментних систем, які забезпечують напівконсервативний механізм реплікації ДНК у прокаріот та еукаріот.*
- *Пояснювати механізми функціонування ферментної системи транскрипції РНК.*
- *Трактувати біохімічні механізми генетичних рекомбінацій, ампліфікації генів, особливості регуляції експресії генів у еукаріотів.*

Теоретичні питання

1. Біологічне значення реплікації ДНК. Сутність відкриття Дж. Уотсона та Фр. Кріка (1953). Напівконсервативний механізм реплікації; схема експерименту М.Мезелсона та Ф.Сталя.
2. Загальна схема біосинтезу ДНК. Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів. Молекулярні механізми реплікації ДНК: топологічні проблеми (топоізомерази, хелікази); значення антипаралельності ланцюгів ДНК; фрагменти Оказакі. Етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК.
3. Загальна схема транскрипції; кодуючі та некодуючі ланцюги ДНК. РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів. Етапи та ферменти синтезу РНК. Сигнали транскрипції: промоторні, ініціаторні, термінаторні ділянки генома.

4. Процесинг – посттранскрипційна модифікація РНК. Антибіотики – інгібітори транскрипції.
5. Регуляція експресії генів прокаріотів: схема регуляції за Ф. Жакобом та Ж. Моно. Будова Lac–оперону E.coli: структурні та контрольні гени; промотор, оператор; регуляторний ген та утворення білкових репресорів. Принципи функціонування Lac–оперону: репресія, індукція.
6. Особливості будови та експресії геному еукаріотів. Молекулярна організація ДНК еукаріотів (екзони, інтрони; послідовності, що повторюються). Ядерний хроматин та хромосоми еукаріотів; каріотип людини.
7. Рекомбінації геному прокаріотів (трансформація, трансдукція, кон'югація). Процеси рекомбінації у еукаріотів на прикладі утворення генів H– та L–ланцюгів молекул імуноглобулінів.
8. Ампліфікація генів (гени металотіонеїну, дигідрофолатредуктази).
9. Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції; система транскрипційних сигналів – промоторні послідовності, енхансери, атенуатори, сайленсери.
10. Мутації: геномні, хромосомні, генні (точкові); роль у виникненні ензимопатії та спадкових хвороб людини.
11. Біохімічні механізми дії хімічних мутагенів – аналогів азотистих основ, дезамінуючих, алкілюючих агентів, ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання.
12. Фармпрепарати – інгібітори матричних синтезів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Реплікація ДНК: біологічне значення; напівконсервативний механізм реплікації (схема експерименту М.Мезелсона та Ф.Сталя).

- Дати визначення ключовим словам:
Реплікація ДНК – це ...
Консервативний механізм реплікації ...
Напівконсервативний механізм реплікації ...
- Представити схему експерименту М.Мезелсона та Ф.Сталя

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

- Представити загальну схему біосинтезу ДНК у системі Корнберга, пояснити необхідність вихідної ДНК.
- Ензими біосинтезу ДНК у прокаріотів:
 - 1) ДНК-полімераза I...
 - 2) ДНК-полімераза II...
 - 3) ДНК-полімераза III...

та еукаріотів.

- Описати топологічні проблеми реплікації ДНК та ензими, які забезпечують їх подолання:
топоізомерази, зокрема ДНК-гіраза
хеліази
білки, що зв'язують однострункові ДНК(SSB)
- Пояснити значення антипаралельності ланцюгів ДНК. Дати визначення поняттям:
лідуючий ланцюг – це ...
відстаючий ланцюг – це ...
фрагменти Оказаки – це ...
- Етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК:
 - 1) ініціація – ...
 - 2) елонгація – ...
 - а) на лідуючому ланцюгу;
 - б) на відстаючому ланцюгу.

3. Загальна схема транскрипції; кодуючі та некодуючі ланцюги ДНК. РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів. Етапи та ферменти синтезу РНК. Сигнали транскрипції: промоторні, ініціаторні, термінаторні ділянки генома

- Дати визначення поняттям:
транскрипція – це ...
кодуючий ланцюг ДНК – це ...
некодуючий ланцюг ДНК – це ...
РНК-полімерази – це ...
- описати структуру **оперону** та дати визначення:
 - 1) *структурні гени – це ...*
 - 2) *контрольні сайти:*
 - а) *промотор (p) – це ...*
 - б) *оператор (o) – це ...*
- Описати етапи синтезу РНК у прокаріотів.
- Сигнали транскрипції:
 - 1) промотори транскрипції:
 - «-35-послідовність» – ...
 - «-10-послідовність» або «блок Прибнова» – ...
 - 2) ініціація транскрипції – включення Пур-5'-ФФФ, сильні та слабкі промотори;
 - 3) термінація транскрипції:
 - *досягнення термінуючи ділянок, що містять паліндроми*
 - *дія р-фактора.*
- Ферменти та механізми транскрипції в еукаріотів.

4. Процесинг – посттранскрипційна модифікація РНК; етапи процесингу.

- Описати етапи процесингу.
- Дати визначення поняттям:
 - *первинний транскрипт – це ...*
 - «кеп» – це ...

- поліаденілатний «хвіст» – це...
- екзон – це ...
- інтрон – це...
- сплайсинг – це ...

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

- Написати схему регуляції експресії генів за Ф. Жакобом та Ж. Моно на прикладі біосинтезу β -галактозидази в E.coli – теорія оперона.
- Зобразити схему будови Lac-оперону E.coli і дати пояснення кожного компонента.
- Пояснити принцип діяльності Lac-оперону:
 - 1) репресія Lac-оперону
 - 2) індукція Lac-оперону

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

- Особливості регуляції експресії геному в еукаріотів:
 - 1) на рівні структурної організації геному
 - 2) на рівні транскрипції
 - 3) на рівні трансляції
- Особливості молекулярної організації ДНК еукаріотів: екзони, інтрони, послідовності ДНК, що повторюються
- Ядерний хроматин еукаріотів; ковалентна модифікація гістонів та НГБ: ацетилювання, фосфорилування-дефосфорилування.

7. Рекомбінації геному прокариотів (трансформація, трансдукція, кон'югація). Процеси рекомбінації у еукаріотів на прикладі утворення генів H- та L-ланцюгів молекул імуноглобулінів.

- Дати визначення поняттю генетичні рекомбінації; намалювати схему вбудови транспозону в реципієнтну ДНК.
- Описати можливі рекомбінації геному прокариотів:
 - трансформація – це ...*
 - трансдукція – це ...*
 - кон'югація – це ...*
- Пояснити процеси рекомбінації у еукаріотів на прикладі утворення генів H- та L-ланцюгів молекул імуноглобулінів.

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

- Дати визначення поняттям
 - Ампліфікація генів – це ...*
 - Біологічне значення ампліфікації генів ...*
- Приклади ампліфікації генів вищих організмів:

- 1) ампліфікація генів металотіонеїну
- 2) ампліфікація генів дигідрофолатредуктази

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

- Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції:
 - 1) промотори
 - 2) специфічні послідовності мРНК:
 - «енхансери» – підсилювачі
 - «атенюатори» – послаблювачі
 - «сайленсери» – заглушувачі
 - 3) численні регуляторні білки

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

- Описати можливі мутації:
 - спонтанні – це
 - індуковані – це ...
- Класифікація мутацій:
 - 1) геномні мутації – це ...
 - 2) хромосомні мутації – це ...
 - транспозиції – це ...
 - транслокації – це ...
 - інверсії – це ...
 - делеції – це ...
 - дуплікації – це ...
 - 3) генні (точкові) мутації – це ...
 - заміни нуклеотидів – це ...
 - трансцизії – це ...
 - трансверзії – це ...
 - випадіння (делеції) – це ...
 - вставки (вбудовування) – це ...

11. Біохімічні механізми дії хімічних мутагенів – аналогів азотистих основ, дезамінуючих, алкілюючих агентів, ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання.

- Мутагени – це ...
 - 1) аналоги азотистих основ –
 - 2) хімічні мутагени –
 - а) дезамінуючі агенти
 - б) алкілюючі агенти опромінення –
 - 3) УФ- та іонізуюче випромінювання

12. Фармпрепарати – інгібітори матричних синтезів.

- Представити антибіотики – інгібітори трансляції та вказати механізм їх дії.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Спадкова інформація визначається нуклеотидною послідовністю нуклеїнових кислот. Вкажіть, який процес забезпечує реалізацію спадкової інформації на рівні синтезу поліпептидного ланцюга:
 - A. Трансляція
 - B. Транскрипція
 - C. Транслокація
 - D. Реплікація
 - E. Репарація
2. Хворому на туберкульоз легень призначено рифампіцин, який пригнічує фермент РНК-полімераза в процесі:
 - A. Ампліфікації
 - B. Трансляції
 - C. Реплікації
 - D. Репарації
 - E. Транскрипції
3. На відстаючому полінуклеотидному ланцюзі “реплікативної вилки” ДНК-полімераза формує фрагменти Оказакі. Назвіть фермент, який зшиває ці фрагменти в єдиний ланцюг.
 - A. Праймаза
 - B. ДНК-полімераза
 - C. РНК-полімераза
 - D. ДНК-лігаза
 - E. Екзонуклеаза
4. За умов тривалої інтоксикації визначене суттєве зниження активності аміноацил-тРНК-синтетаз. Який метаболічний процес порушується в цьому випадку?
 - A. Біосинтез білків
 - B. Реплікація ДНК
 - C. Репарація ДНК
 - D. Генетична рекомбінація
 - E. Процесинг РНК

Ситуаційні задачі

1. Хворі на пігментну ксеродерму характеризуються аномально високою чутливістю до пошкоджувальної дії ультрафіолетового випромінювання, результатом чого є поступовий розвиток раку шкіри. Поясніть, чому це відбувається? З порушенням якого процесу пов'язана ця патологія?
2. До приймального відділення лікарні доставлена хвора 45 років. З анамнезу відомо, що вона працює на хімічному підприємстві з виробництва

нітратної кислоти і внаслідок порушення правил безпечної роботи зазнала токсичної дії азотистої кислоти та нітритів. Які зміни в молекулі ДНК відбулися внаслідок пошкоджувальної дії нітритів? Який фермент ініціює ланцюг репараційних процесів?

Практична робота

Дослід 1. Визначення ДНК за фосфором.

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

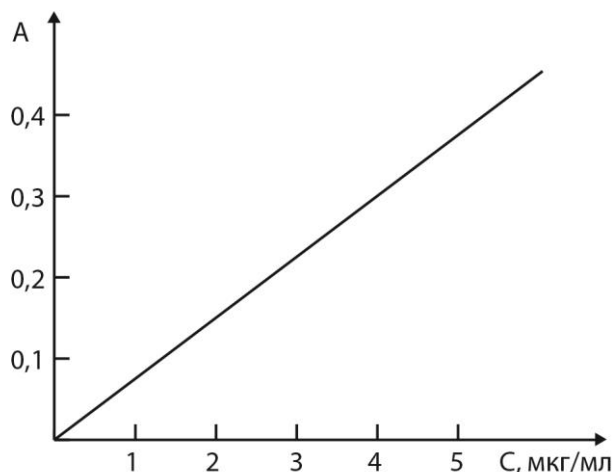
Матеріальне забезпечення: Тканина печінки щурів, 1 н розчин натрію гідроксиду (NaOH), 30 % розчин натрію гідроксиду (NaOH), насичений розчин натрію хлориду (NaCl), 20 % розчин ацетатної кислоти (CH₃COOH), етиловий спирт, 5 % розчин ТХАК, концентрована сульфатна кислота (H₂SO₄), 30 % розчин гідрогену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

Хід роботи.

1. Наважку тканини печінки масою 100 мг нагрівають з 1 мл 1 н NaOH у центрифужній пробірці протягом 15 хв на киплячій водяній бані. Періодично вміст пробірки перемішують скляною паличкою.
2. Пробу охолоджують при кімнатній температурі, а потім при 0°C (лід). До охолодженого гідролізату додають 0,5 мл насиченого розчину NaCl у 20 % розчині CH₃COOH для осадження білків. Осаджений білок видаляють через 5 хв шляхом центрифугування протягом 5 хв за швидкості 5000 об/хв. Центрифугат зливають у центрифужну пробірку, додають до нього 6 мл етилового спирту і витримують протягом 1 год на холоді для повного осадження ДНК. Ще раз центрифугують протягом 5 хв за швидкості 5000 об./хв. Осад ДНК відмивають 5 мл 5% розчину ТХАК.
3. Визначення ДНК за фосфором. Осад ДНК кількісно переносять у колбу К'ельдаля, додають 1,5 мл сульфатної концентрованої кислоти, декілька крапель 30 % розчину гідрогену пероксиду нагрівають (мінералізують) на пісчаній бані до повного освітлення розчину. Після закінчення мінералізації рідину переносять у колбу Ерленмеєра. Розчин нейтралізують 30 % розчином натрію гідроксиду за допомогою універсального індикатора. Отриманий мінералізуват переносять кількісно у мірну колбу на 50 мл і доводять до позначки дистильованою водою. З колби у пробірку відбирають 5 мл розчину, додають 0,5 мл 2,5 % розчину амонію молібдату, 0,5 мл 1 % розчину аскорбінової кислоти і 4 мл дистильованої води. Через 10 хв вимірюють оптичну густину

розчину проти води (довжина хвилі 670 нм). Вміст фосфору визначають у мікрограмах за калібрувальною кривою.

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



Графік залежності оптичної густини від концентрації фосфору

Вміст ДНК визначають у мг% за формулою:

$$C = a \times 10, \text{ де}$$

C – вміст ДНК (мг%),

a – концентрація фосфору (мкг/мл),

10 – коефіцієнт перерахунку.

Нормальний вміст ДНК у печінці щурів становить 25–35 мг на 100 г.

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок.

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

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

Контроль виконання лабораторної роботи

1. На чому ґрунтується метод отримання ДНК ?
2. Який принцип визначення ДНК за фосфором ?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Сучасні методи дослідження ДНК і РНК, їх клінічне значення.
2. Вроджені і набуті порушення механізмів репарації ДНК.

Література

Основна:

1. Біохімія : підручник для студентів фармацевтичних спеціальностей / [Загайко А.Л., Александрова К.В., Склярів О.Я. та ін.]. - Х. : Форт, 2014. – С. 447 - 476.
2. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
4. Біологічна хімія : тести та ситуаційні задачі: навчальний посібник [для студ. вищ. медичн. навч. закл.] / за ред. О.Я. Склярова. – Львів : Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 205 - 219.
5. Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. Біологічна хімія. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига. – 2015. – 702 с.

Додаткова:

1. Вибрані аспекти медичної генетики : навчальний посібник / С. М. Касян, В. О. Петрашенко, М. П. Загородній ; за ред. д-ра мед. наук, проф. О. І. Сміяна. – Сумський державний університет, 2019. – 164 с.
2. Кучменко О. Б., Марченкова А. І. К96 Молекулярна біологія клітини: навч. посіб. Ніжин: НДУ ім. М. Гоголя, 2021. – 135 с.
3. Механізми біохімічних реакцій / За ред. Сибірної Н.О. ЛНУ, 2021. – 320 с.

Наукова фахова:

1. Cell Cycle Regulation by Heat Shock Transcription Factors. Review/ Yasuko Tokunaga, Ken-Ichiro Otsuyama, Naoki Hayashida// Cells. 2022. Jan 8;11(2):203. doi: 10.3390/cells11020203.
2. Alterations of DNA damage response pathway: Biomarker and therapeutic strategy for cancer immunotherapy/ Minlin Jiang , Keyi Jia, Lei Wang, Wei Li, Bin Chen. Review.// Acta Pharm Sin B 2021 Oct;11(10):2983-2994. doi: 10.1016/j.apsb.2021.01.003. Epub 2021 Jan 6.
3. Regular, Intense Exercise Training as a Healthy Aging Lifestyle Strategy: Preventing DNA Damage, Telomere Shortening and Adverse DNA Methylation Changes Over a Lifetime/ Maha Sellami, Nicola Bragazzi, Mohammad Shoaib Prince, Joshua Denham, Mohamed Elrayess// Front Genet. 2021 Aug 6;12:652497. doi: 10.3389/fgene.2021.652497. eCollection 2021.

Тема 7. Біосинтез білка у рибосомах. Процеси ініціації, елонгації та термінації в синтезі поліпептидного ланцюга. Інгібіторна дія антибіотиків. Принципи генної інженерії, їх застосування в сучасній медицині

Мета заняття: Знати загальні закономірності синтезу білків, етапи цього процесу, можливі механізми виникнення та розвитку спадкових захворювань. Засвоїти механізм дії антибіотиків та інших інгібіторів синтезу білків. Знати принципи генної інженерії та біотехнології їх значення для розвитку сучасної фармацевтичної науки. Засвоїти принцип методу полімеразної ланцюгової реакції в експрес-діагностиці.

Мотивація теми: Білки – це генетично детермінована система, яка генетично запрограмована специфічним набором для кожного індивідуума притаманних тільки йому білкових молекул і з якими пов'язана сутність життя. При вивченні даної теми акцентувати увагу на сучасних досягненнях генної інженерії, в тому числі клонуванні генів, що важливо для вивчення як нуклеотидної послідовності досліджуваного гена, так і послідовності мРНК і білка, які кодуються цим геном. Завдяки генній інженерії здійснено синтез інтерферону людини, людських інсуліну, соматотропіну, соматостатину, білкових препаратів для діагностики СНІДу тощо. Зокрема, в останні роки в діагностиці багатьох захворювань та виявленні бацилоносіїв використовують експрес-метод – **полімеразну ланцюгову реакцію**.

Конкретні завдання:

- Пояснювати механізми функціонування білок-синтезуючої системи за участю ферментів активації амінокислот, ініціації, елонгації та термінації біосинтезу поліпептидних ланцюгів.
- Пояснювати біохімічні процеси посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів.
- Пояснювати вплив фізіологічно активних сполук й антибіотиків на процеси трансляції.
- Пояснювати біохімічні та молекулярно-біологічні принципи методів генної інженерії, технології рекомбінантних ДНК, трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК.
- Пояснювати принципи клонування генів з метою отримання біотехнологічних лікарських засобів.

Теоретичні питання

1. Генетичний (біологічний) код; триплетна структура коду, його властивості. Таблиця генетичного коду.
2. Рибосомальна білоксинтезуюча система. Компоненти білоксинтезуючої системи рибосом.
3. Транспортні РНК та активація амінокислот. Аміноацил-тРНК-синтетази.
4. Етапи та механізми трансляції: ініціація, елонгація, термінація. Ініціюючі та термінуючі кодони мРНК.

5. Посттрансляційна модифікація пептидних ланцюгів. Вплив фізіологічно активних сполук на процеси трансляції. Фармпрепарати – інгібітори транскрипції та трансляції у прокаріотів та еукаріотів, їх біомедичне застосування.
6. Генна інженерія, або технологія рекомбінантних ДНК: загальні поняття, біомедичне значення.
7. Клонування генів з метою отримання біотехнологічних лікарських засобів (гормонів, ферментів, антибіотиків, інтерферонів та ін.).
8. Ланцюгова полімеразна реакція; її біомедичне застосування в діагностиці інфекційних та спадкових хвороб людини, ідентифікації особи ("ДНК–діагностика").

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Генетичний (біологічний) код; його властивості. Характеристика таблиці генетичного коду.

- Структура генетичного коду. Дати визначення:

Генетичний код – це...

- Властивості генетичного коду:

Універсальний – це...

Однонаправлений – це..

Безперервний – це...

Такий, що не перекривається –

Вироджений –

2.Рибосомальна білоксинтезуюча система. Компоненти білоксинтезуючої системи рибосом.

- Описати компоненти білоксинтезуючої системи рибосом:

рибосоми, мРНК (іРНК), α -L-амінокислоти, тРНК, аміноацил-тРНК-синтетази, регуляторні білки, коферменти.

3. Транспортні РНК та активація амінокислот. Аміноацил–тРНК–синтетази.

- Зазначити особливості будови транспортних РНК та механізм активації амінокислот. Аміноацил–тРНК–синтетази.
- Намалювати схему взаємодії тРНК з амінокислотами.

4. Етапи та механізми трансляції: ініціація, елонгація, термінація. Ініціюючі та термінуючі кодони мРНК

- Описати етапи трансляції: ініціація, елонгація (пептидилтрансферазна реакція, реакція транслокації), термінація.
- Описати ініціюючі та термінуючі кодони мРНК

5. Посттрансляційна модифікація пептидних ланцюгів. Вплив фізіологічно активних сполук на процеси трансляції. Фармпрепарати – інгібітори транскрипції та трансляції у прокаріотів та еукаріотів, їх біомедичне застосування.

- Дати визначення
Посттрансляційна модифікація – це...
- Навести приклади реакцій посттрансляційної модифікації пептидних ланцюгів.
 - а) модифікація N- та С-кінців
 - б) модифікація гідроксильних, амінних та карбоксильних груп у бічних радикалах пептидів
 - в) приєднання простетичних груп – вуглеводів, гему, коферментів
 - г) хімічна модифікація ковалентної основи амінокислотних залишків
- Заповнити таблицю механізму дії та властивостей антибіотиків – інгібіторів трансляції:

№	Етап трансляції	Антибіотики	Механізм дії
1	Ініціація		
2	Елонгація		
3	Термінація		

6. Генна інженерія, або технологія рекомбінантних ДНК: загальні поняття, біомедичне значення. Технологія трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК; застосування рестрикційних ендонуклеаз.

- Дати визначення:
Генна інженерія – це ...
- Біомедичне значення методів генної інженерії:
 - 1) отримання нових генотипів організмів
 - 2) генна терапія
- Описати етапи трансплантації генів та отримання гібридних молекул ДНК.

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

- Клонування генів інтерферону.
- застосування клонованих генів.

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

- Описати суть ПЛР та навести приклади її застосування.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. При захворюванні на дифтерію спостерігається інгібування процесу трансляції у клітинах людини за рахунок втрати фактором елонгації eEF-2 властивості здійснювати транслокацію пептидного залишку з А- на П-сайт рибосом. Який фермент є причиною блокування eEF-2?

- A. АДФ-рибозилтрансфераза
- B. eIF-2-протеїнкіназа
- C. Пептидилтрансфераза

D. Пептидилтрансфераза

E. Гіпоксантингуанінфосфорибозилтрансфераза

2. Для лікування інфекційних бактеріальних захворювань використовують антибіотики (стрептоміцин, неоміцин, канаміцин). Який етап синтезу білків мікробної клітини вони інгібують?

A. Реплікацію

B. Транскрипцію

C. Трансляцію

D. Процесинг

E. Сплайсинг

3. За допомогою якого ферменту здійснюється шлях синтезу різних генів з матричних РНК та ДНК в генній інженерії (цей фермент каталізує процес, відкритий у деяких РНК-вмісних вірусів)?

A. Ревертази

B. Екзонуклеази

C. Ендонуклеази

D. ДНК-лігази

E. Хелікази

4. Пацієнтові, що проживає на специфічній геохімічній території, встановлено діагноз – ендемічний зоб. Який вид посттрансляційної модифікації тиреоглобуліну порушений в організмі хворого?

A. Фосфорилування

B. Метилування

C. Ацетилювання

D. Йодування

E. Глікозилювання

5. Спадкова інформація зберігається в ДНК, хоч безпосередньо у синтезі білка в клітині вона не бере участі. Який процес забезпечує реалізацію спадкової інформації у поліпептидний ланцюг?

A. Транскрипція

B. Трансляція

C. Транслокація

D. Реплікація

E. Трансформація

Ситуаційні задачі

1. Тетрацикліни – це антибіотики широкого спектру дії, які є інгібіторами синтезу білків прокариот за рахунок впливу на 70 S рибосоми, не впливаючи при цьому на 80 S рибосоми еукаріот. Рибосоми мітохондрій еукаріот за структурою подібні до рибосом прокариот (70 S). Використовуючи ці дані, поясніть токсичний ефект дії тетрациклінів.

2. Пацієнт віком 55 років знаходиться лікарні після тривалої виснажливої хвороби й операційного втручання. У пацієнта спостерігаються різка втрата маси тіла і затримка процесу одужання. Лікар призначив йому анаболічний препарат «Кардонат». Який біохімічний процес стимулюють такі препарати?
3. У пацієнта діагностовано СНІД. У його лейкоцити потрапила РНК вірусу СНІДу, де за участю ферменту ревертази синтезувалась вірусна ДНК. Який механізм лежить в основі цього явища? Який метод експрес-діагностики необхідно використати?

Практична робота

Дослід № 1. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

ПЛР – це високоспецифічний метод експрес-діагностики, що дозволяє множити певні нуклеотидні послідовності до утворення необмеженого числа копій генів в таких кількостях, які можна виявити методом молекулярної гібридизації за допомогою електрофорезу.

Принцип методу. ПЛР базується на багатократному повторюванні циклів синтезу (ампліфікації) специфічної ділянки ДНК–мішені з дезоксинуклеозидтрифосфатів у присутності термостабільної ДНК–полімерази, відповідного сольового буфера та олігонуклеотидних затравок–праймерів, що визначають кордони ампліфікованої ділянки ДНК–мішені. Для діагностики інфекційного захворювання підбираються системи праймерів, комплементарних специфічним для збудника ділянкам генів, які дозволяють ампліфікувати фрагмент, що має для кожної системи праймерів свою довжину.

Матеріальне забезпечення:

1) Обладнання: Ампліфікатор; автоматичні мікропіпетки на 10 і 20 мкл; пластикові пробірки на 0,2; 0,5 та 1,5 мл; одноразові наконечники до мікропіпеток; мікроцентрифуга; вортекс; апарат для електрофорезу ДНК в агарозному гелі; джерело постійного електричного струму (V – 50-250В, I – до 50мА); транслюмінатор з фільтром на 310 нм; ламінарний бокс або бокс для ПЛР; фотоапарат з приставкою для реєстрації результатів ПЛР.

2) Реактиви: Набір для виділення ДНК із біопроб на 100 зразків (зберігають при +4°C) : розчин I (лізуючий) 30мл, розчин II (промивний) 10 мл, розчин III (промивний) 200 мл, сорбент 1000 мкл, TE-буфер 5мл.

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

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

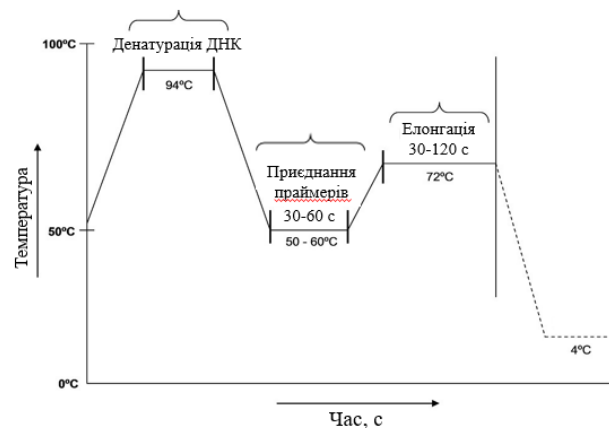
4. Набір для приготування реакційної суміші, до складу якої входять: розчин ДНТФ (дезоксинуклеозидтрифосфати), розчин специфічних праймерів, ПЛР-буфер, барвник. Основним реактивом тут є праймери– специфічні для кожного

виду ділянки ДНК; їх отримують хімічним синтезом з відповідною послідовністю для даного виду, що складає 20-30 нуклеотидів. Праймери патентуються і строго зберігаються.

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

Хід роботи.

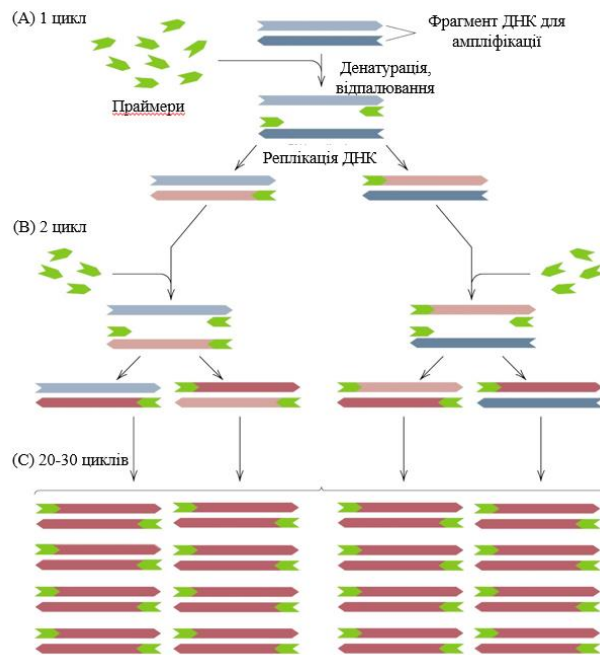
1. Підготовка клінічних зразків (біоптати тканин, крапля крові, сперма, слиз жіночих статевих органів, осад сечі, волосся людини, зішкреби епітеліальних клітин тощо);
2. виділення ДНК зі зразків (ДНК–матриці генів клітин, вірусів і бактерій більш стійкі, ніж РНК, і тому вони придатні для ПЛР після тривалого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



На першій стадії при 94°C проходить розділення ланцюгів ДНК (денатурація ДНК);

На другій при 50–65°C – приєднання (відпалювання) праймерів до гомологічних послідовностей на ДНК–мішені;

На третій при температурі 72°C – синтез нових ланцюгів ДНК, тобто комплементарна добудова ДНК шляхом подовження праймера у напрямку 5'–3' з участю ДНК–полімерази в присутності іонів магнію.



Таким чином, у першому циклі ампліфікації синтезуються продукти, які стають матрицями для другого циклу ампліфікації, в результаті якого утворюється досліджуваний фрагмент ДНК – амплікон. Починаючи з третього циклу, амплікони стають матрицями для синтезу нових ланцюгів, тобто у кожному циклі здійснюється подвоєння кількості копій, що дозволяє за 25–40 циклів напрацювати фрагмент ДНК, обмежений парою відібраних праймерів, у кількості, якої достатньо для її детекції за допомогою електрофорезу;

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

Значення для фармації та клініки. Мета прикладної генетичної інженерії полягає в конструюванні таких рекомбінантних молекул ДНК, які при впровадженні в генетичний апарат надавали б організму властивості, корисні для людини. Наприклад, отримання «біологічних реакторів» - мікроорганізмів, рослин і тварин, які продукують фармакологічно значущі для людини речовини.

У медицині метод ПЛР застосовується для діагностики інфекцій шляхом ідентифікації патогенних бактерій і вірусів у біологічних матеріалі. З метою діагностики кожної інфекції підбираються специфічні системи праймерів для ПЛР. За допомогою ПЛР одну молекулу ідентифікованої ДНК можна виявити

в присутності мільйонів інших молекул ДНК. Чутливість реакції 97–99 %. ПЛР широко використовують у ранній діагностиці ВІЛ–інфекції, бацилоносійства, вірусних гепатитів тощо, а також для моніторинга і оцінки специфічної терапії певної інфекції, резистентності та чутливості до антибіотиків.

Крім того метод ПЛР використовують для виявлення спадкових захворювань (фенілкетонурія, гемофілія та ін.), проведення „молекулярної дактилоскопії” у судовій практиці, встановлення батьківства, встановлення статі дитини на 10-му тижні вагітності, в онкології тощо.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Що розуміють під поняттям ”клінічний зразок” для ПЛР?
2. Які методи використовують для виділення ДНК?
3. На чому ґрунтується полімеразна ланцюгова реакція?
4. З якою метою при проведенні ПЛР використовують затравку– праймер?
5. На чому ґрунтується аналіз результатів ПЛР?
6. Яке клініко-діагностичне та практичне значення ПЛР як методу експрес-діагностики?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Генна інженерія та біотехнологія та їх значення для фармації.

Література

Основна:

1. Біохімія : підручник для студентів фармацевтичних спеціальностей / [Загайко А.Л., Александрова К.В., Скляр О.Я. та ін.]. - Х. : Форт, 2014. – С. 476 - 547.
2. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
4. Біологічна хімія : тести та ситуаційні задачі: навчальний посібник [для студ. вищ. медичн. навч. закл.] / за ред. О.Я. Склярова. – Львів : Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 205 - 219.
5. Скляр О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. Біологічна хімія. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига. – 2015. – 702 с.
- 6.

Додаткова:

1. Вибрані аспекти медичної генетики : навчальний посібник / С. М. Касян, В. О. Петрашенко, М. П. Загородній ; за ред. д-ра мед. наук, проф. О. І. Сміяна. – Сумський державний університет, 2019. – 164 с.
2. Кучменко О. Б., Марченкова А. І. К96 Молекулярна біологія клітини: навч. посіб. Ніжин: НДУ ім. М. Гоголя, 2021. – 135 с.
3. Механізми біохімічних реакцій / За ред. Сибірної Н.О. ЛНУ, 2021. – 320 с.

Наукова фахова:

1. Комісаренко С.В. Перспективи редагування геному за допомогою crispr/cas, або як опанувати «генетичні ножиці».- Вісн. НАН України, 2020. - № 12. – С.31 – 49.
2. Розшифрування генетичного коду – новий революційний етап розвитку молекулярної біології: лауреати нобелівської премії М. В. Ніренберг, Г. Г. Корана, Р. В. Голлі, 1968 р. / Матишевська О. П., Данилова В. М., Комісаренко С. В. // Ukr. Biochem. J., 2021, - Vol. 93, N 6. – P. 139 – 152.
3. Полювання вчених на коронавірус SARS-COV-2, що викликає COVID-19: наукові стратегії подолання пандемії / С.В. Комісаренко // Вісник Національної академії наук України. — 2020. — № 8. — С. 29-71.

Розділ 7.

Молекулярні механізми дії гормонів.

Тема 8. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії гормонів білково-пептидної природи, похідних амінокислот та біогенних амінів на клітини-мішені. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію

Мета заняття: Вивчити біохімічні та фізіологічні функції гормонів і біорегуляторів у системі міжклітинної інтеграції життєдіяльності організму людини. Знати структуру гормонів білково-пептидної природи та похідних амінокислот, їх функції, механізми дії на клітини-мішені. Засвоїти молекулярні механізми дії гормонів білково-пептидної природи, похідних амінокислот та біогенних амінів на клітини-мішені за участі сигнальних молекул-посередників. Оволодіти методами якісного визначення інсуліну, адреналіну та тироксину в біологічних рідинах.

Мотивація теми: Вивчення молекулярно-клітинних механізмів дії гормонів необхідне студентам для розуміння ролі ендокринної системи у регуляції реалізації впливу гормонів на активність внутрішньоклітинних систем дозволяє пояснити причини, які лежать в основі патологічних станів, викликаних розладами у функціонуванні ендокринних залоз та клітин-мішеней, а також формує у студентів підходи до корекції фармпрепаратами гіпо- або гіперфункцій залоз внутрішньої секреції.

Конкретні завдання:

- Пояснювати значення ендокринної системи для організму людини, а також класифікацію, хімічну природу і властивості гормонів;
- Аналізувати характер регулюючого впливу гормонів гіпоталамусу, гіпофізу та епіфізу, а також гормонів периферичних ендокринних залоз на органи та тканини-мішені;
- Пояснювати механізм дії гормонів на клітини-мішені у залежності від їх структури.
- Трактувати дію гормонів білково-пептидної природи та похідних амінокислот (катехоламіни) на клітини-мішені за участі сигнальних внутрішньоклітинних посередників.

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика гормонів, їх класифікація.
2. Принцип прямого та зворотного зв'язку в контролі секреції гормонів.
3. Механізми дії гормонів. Типи гормональних рецепторів. Мембранно-внутрішньоклітинний механізм дії гормонів. Мембранний механізм дії гормонів. Цитозольний механізм дії гормонів.
4. Гормони гіпоталамусу (ліберини та статини), особливості структури та секреції, зв'язок гіпоталамуса з гіпофізом.
5. Гормони аденогіпофіза: I група – пептиди – гормон росту, пролактин; II група – глікопротеїни – тиреотропін, ЛГ, ФСГ, ХГ; III група – похідні пропіомеланокортину – адренкортикотропін, ліпотропіни (β , γ), β -ендорфіни, меланоцитстимулюючий гормон (МСГ).
6. Окситоцин та вазопресин, їх секреція, хімічна природа, механізм дії, ефекти. Нецукровий діабет.
7. Гормони підшлункової залози: інсулін – будова, біосинтез та секреція; вплив на обмін вуглеводів, ліпідів, амінокислот та білків; глюкагон. Хімічна природа та біологічна дія гормону.
8. Гормони мозкової речовини надниркових залоз.
9. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію (кальцитонін, паратгормон, гормоноподібна дія кальцитриолів).

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Загальна характеристика гормонів, їх класифікація.**
 - Дати визначення:
гормони - це...
 - Вказати властивості гормонів
 - Представити схему класифікації гормонів 1) за хімічною будовою, 2) за місцем синтезу.
- 2. Принцип прямого та зворотного зв'язку в контролі секреції гормонів.**
 - Перелічити фактори, що впливають на секрецію та характер дії гормонів(навести приклади)
 - Представити схему циклічної регуляції гормональної секреції (навести приклади).
- 3. Механізми дії гормонів. Типи гормональних рецепторів. Мембранно-внутрішньоклітинний механізм дії гормонів. Мембранний механізм дії гормонів. Цитозольний механізм дії гормонів.**
 - Дати визначення:
мембранні рецептори - це...
 - Іонотропні рецептори. Дати характеристику (навести приклади)
 - Метаботропні рецептори. Дати характеристику (навести приклади)
 - Цитозольні рецептори – це..

- Білки – трансдуктори (дати характеристику, перелічити класи, вказати механізм дії).
- Представити механізм дії циклічних нуклеотидів (значення G-білків, цАМФ, цГМФ, серинових, треонінових протеїнкіназ).
- Представити схему дії фосфоінозитидної системи (значення Gq, ІФ₃ДАГ, системи Ca²⁺/кальмодулін, серинових, треонінових протеїнкіназ).
- Проаналізувати принцип дії тирозинових протеїнкіназ на прикладі інсулінового рецептора.

4. Гормони гіпоталамусу (ліберини та статини), особливості структури та секреції, зв'язок гіпоталамуса з гіпофізом.

- Дати визначення:
ліберини - це...
статини – це...
- В конспекті дати визначення нейрофізинів та вказати їх значення та механізм дії
- Охарактеризувати значення мелатоніну в процесах реалізації фізіологічних потреб організму.

5. Гормони аденогіпофіза: I група – пептиди – гормон росту, пролактин; II група – глікопротеїни – тиреотропін, ЛГ, ФСГ, ХГ; III група – похідні пропіомеланокортину – адренкортикотропін, ліпотропіни (β, γ), β-ендорфіни, меланоцитстимулюючий гормон (МСГ).

- Дати характеристику хімічної природи, біологічної дії групи «гормон росту (соматотропін) - пролактин - хоріонічний соматомамотропін»
- Описати властивості тропних гормонів гіпофіза - глікопротеїни (тиреотропін, гонадотропіни - ФСГ, ЛГ, хоріонічний гонадотропін)
- Представити схему утворення фізіологічно активних пептидів із пропіомеланокортину (ПОМК). Пояснити регуляцію їх утворення та фізіологічні ефекти.

6. Окситоцин та вазопресин, їх секреція, хімічна природа, механізм дії, ефекти. Нецукровий діабет.

- Вазопресин (антидіуретичний гормон: будова, механізм дії).
- Окситоцин (будова, механізм фізіологічної дії)
- Описати патологію пов'язану з порушенням продукції АДГ.

7. Гормони підшлункової залози: інсулін – будова, біосинтез та секреція; вплив на обмін вуглеводів, ліпідів, амінокислот та білків; глюкагон. Хімічна природа та біологічна дія гормону.

- Назвати гормони підшлункової залози.
- Вказати на особливості будови, біосинтезу та секреції інсуліну
- Дати характеристику інсулінових рецепторів.
- Описати молекулярні механізми дії
- Описати фактори росту, онкокобілки

- Описати хімічну природу та біологічну дію глюкагону.

8. Гормони мозкової речовини надниркових залоз.

- Пояснити хімічну будову норадреналіну, адреналіну, дофаміну. Написати реакції їх синтезу.
- Вказати біологічну дію катехоламінів.
- Перелічити рецептори катехоламінів та описати механізм їх дії.
- Вказати роль катехоламінів у реалізації стресу.

9. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію (кальцитонін, паратгормон, гормоноподібна дія кальцитриолів).

- Описати будову паратгормону та механізм дії.
- Описати будову та синтез кальцитриолу. Пояснити механізм його гіперкальціємічної дії.
- Описати етапи синтезу гормону та вказати його фізіологічну дію.
- Описати в конспекті будову кальцитоніну та його вплив на обмін кальцію.
- Описати фізіологічний вплив кальцитоніну на обмін фосфатів.
- Роль кісткової тканини, тонкої кишки та нирок у гомеостазі кальцію.
- Описати розподіл кальцію в організмі. Вказати норму кальцію у крові.
- Дати визначення

Рахіт –це... Його прояви...

Остеопороз –це Його прояви...

Гіперпаратиреоїдизм –це... Його прояви...

Гіпопаратиреоїдизм - ... Його прояви...

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Які з наведених гормонів володіють морфіноподібною (знеболюючою, снодійною) дією та впливають на нейрофізіологічні процеси в мозку?

- A. Ендорфіни
- B. Простагландини
- C. Мелатонін
- D. Серотонін
- E. Вазопресин

2. В гіпоталамусі синтезуються речовини, які стимулюють або інгібують синтез гормонів в клітині. Вкажіть, який гормон стимулює синтез кортикостероїдів?

- A. Кортиколиберин
- B. Тиреотропін
- C. Паратгормон
- D. Кальцитонін
- E. Адреналін

3. Хворий 20 років скаржиться на виснажливу спрагу і підвищене сечовиділення (до 10 літрів на добу). Концентрація глюкози крові в межах

норми, в сечі глюкоза відсутня. Нестача якого гормону може викликати таку клінічну картину?

- A. Вазопресину
- B. Кортизолу
- C. Інсуліну
- D. Окситоцину
- E. Трийодтироніну

4. Приймання оральних контрацептивів, які містять статеві гормони, пригнічує секрецію гормонів гіпофіза. Секреція якого з наведених гормонів пригнічується при прийманні оральних контрацептивів, які містять статеві гормони?

- A. Фолікулостимулюючого
- B. Соматотропного
- C. Вазопресину
- D. Окситоцину
- E. Катехоламінів

5. Продукуючи низку гормонів, плацента відіграє роль тимчасової ендокринної залози. Який гормон може бути визначений у крові жінки вже на третю – четверту добу після початку імплантації, що використовується в медичній практиці для раннього діагностування вагітності?

- A. Хоріонічний гонадотропін
- B. Прогестерон
- C. Окситоцин
- D. Вазопресин
- E. Соматостатин

Ситуаційні задачі

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

Практична робота

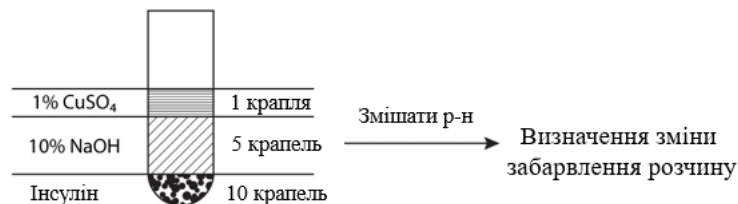
I. Якісні реакції на інсулін.

Дослід 1. Біуретова реакція.

Принцип методу. За хімічною природою інсулін – простий білок, який у лужному середовищі реагує з купрум(II) сульфатом, при цьому утворюються сполуки, забарвлені у фіолетовий колір.

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

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



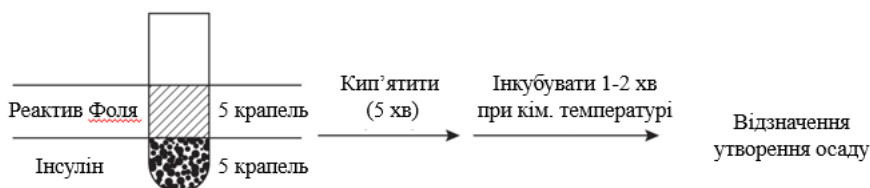
Зробити висновок.

Дослід 2. Реакція Фоля.

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

Матеріальне забезпечення: реактив Фоля, інсулін.

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



Зробити висновок.

II. Якісна реакція на адреналін.

Дослід 3. Реакція з хлорним залізом.

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

Матеріальне забезпечення: хлорне залізо, аміак, адреналін.

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

Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Вивчення метаболізму гормонів і медіаторів має велике значення для діагностики ендокринних розладів, а також оцінки функціонального стану організму при багатьох інших формах патології,

які пов'язані з порушенням центральної, вегетативної нервової систем, серця, печінки, нирок і інших паренхіматозних органів.

Будь-які порушення в системі гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз безпосередньо приводять до зміни продукції гормонів надниркових залоз. За умов норми концентрація адреналіну в плазмі крові становить 112 – 658 пг/мл; норадреналіну — менше 10 пг/мл. Підвищується екскреція адреналіну при артеріальній гіпертензії, феохромоцитомі, в гострий період інфаркту міокарда, нападах стенокардії, інфекційних захворюваннях. Знижений вміст адреналіну спостерігають при колагенозах, гострих лейкозах, ураженні гіпоталамуса, міастенії, синдромі Іценка-Кушінга тощо. Паління, фізичне навантаження, емоційний стрес викликають екскрецію катехоламінів із сечею. Збільшення екскреції катехоламінів спостерігають при гепатитних цирозах печінки, загостренні виразкової хвороби шлунка і 12-палої кишки. Порушення екскреції спостерігають в патогенезі уремії.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Що лежить в основі зміни забарвлення реакційної суміші у біуретовій реакції, реакції Фоля?
2. Які якісні реакції на адреналін ви знаєте? Чим відрізняються ці реакції?
3. Обґрунтуйте клініко-діагностичне значення кількісного визначення адреналіну.
4. Час життя більшості гормонів у крові порівняно невеликий. Так, якщо ввести тварині радіоактивно мічений інсулін, то половина введеного гормону інактивується у крові впродовж 30 хв. Чому важлива відносно швидка інактивація циркулюючих гормонів? У який спосіб підтримується постійний рівень гормону в крові за нормальних умов, якщо врахувати його швидку інактивацію? Якими шляхами організм здійснює швидкі зміни концентрації циркулюючих гормонів в організмі?
5. Людина знаходиться в стресовій ситуації. Як такий стан вплине на функцію ендокринних залоз?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Роль рецепторів, білків-трансдукторів і вторинних посередників у реалізації гормонального сигналу.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 609-637, 642-646, 676-678.
2. Біологічна і біоорганічна хімія у 2 кн.: підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю. І. Губський, І. В. Ніжанковська, М. М. Корда та ін.]. – Київ: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 113-127, 156, 303-320, 329-334.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 338-344, 354-365, 370-375.

4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін.. Біологічна хімія: підруч.– Харків: Основа, 2000.- С. 463-511.
5. Гонський Я. І. Біохімія людини / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук, М. І. Калинський. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 154 – 168, 175 – 191, 203 – 209.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Юрій Іванович Губський. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – С. 330 – 385
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 220-243.
8. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 35-44, 48-53.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 295.
2. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярова – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
3. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 289.

Наукова фахова:

1. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы, нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками // Биохимия. – 2005. – Т. 70, вып. 1. – С. 33 – 50.
2. Ляшук П.М., Сходницький І.В., Ляшук Р.П., Станкова Н.І. Гіпоглікемічний синдром (огляд літератури) // Буковинський медичний вісник. – 2014. - Т18 №1 (69).- С. 159 – 163.
3. Transitionc car for patientes with type 1 diabetes mellitus from pediatric to adult healt care systems / Buchyur E.O, Glik B Transl Pediatr.2017 Oct;(4):373 – 382.

Тема 9. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів на клітини-мішені

Мета заняття: Знати біохімічні механізми виникнення та розвитку патологічних процесів і типових проявів порушень ендокринної системи організму. Знати механізм дії фармацевтичних засобів, які застосовують при корекції функцій ендокринних залоз.

Мотивація теми: Гормонам належить важлива роль у механізмі підтримки гомеостазу організму. Розуміння біохімічних механізмів впливу на обмін речовин стероїдних гормонів необхідне для обґрунтування їх застосування у якості лікарських засобів з метою лікування порушень функцій ендокринних залоз.

Конкретні завдання:

- *Трактувати молекулярні механізми прямої регуляторної дії на геном клітин – мішеней гормонів стероїдної природи.*

- *Аналізувати зміни обміну речовин та біохімічних показників, які характеризують обмін вуглеводів, білків і ліпідів при порушеннях функціонування ендокринних залоз та узагальнювати прогностичну оцінку цих порушень.*
- *Трактувати механізми модифікуючої дії гормонів на метаболічні процеси в клітинах-мішенях.*
- *Трактувати використання природних гормонів та їх синтетичних аналогів як фармпрепаратів з метою лікування порушень функцій ендокринних залоз.*

Теоретичні питання

1. Гормони щитоподібної залози. Синтез, механізм дії (цитозольний) тироїдних гормонів щитоподібної залози та стероїдних гормонів (цитозольні та ядерні рецептори).
2. Стероїдні гормони кори надниркових залоз. Біохімічні ефекти глюкокортикоїдів. Мінералокортикоїди; роль альдостерону в регуляції водно-сольового обміну.
3. Стероїдні гормони статевих залоз. Чоловічі статеві гормони (андрогени) – тестостерон, дигідротестостерон (C₁₉-стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти, регуляція синтезу та секреції. Жіночі статеві гормони: естрогени – естрадіол, естрон (C₁₈-стероїди), прогестерон (C₂₁-стероїди); біохімічні ефекти; зв'язок з фазами менструального циклу; регуляція синтезу та секреції.
4. Загальна характеристика гормоноподібних речовин. Біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гастро - ентеро - панкреатичної) – системи тракту. Гастрин. Холецистокінін. Секретин.
5. Ейкозаноїди: структура, класифікація (простаноїди - простагландини, простацикліни; тромбоксани; лейкотрієни), шляхи та локалізація синтезу, біохімічні ефекти. Аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби як інгібітори синтезу простагландинів.
6. Фармацевтичні засоби при корекції функцій ендокринних залоз.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Гормони щитоподібної залози. Синтез, механізм дії (цитозольний) тироїдних гормонів щитоподібної залози та стероїдних гормонів (цитозольні та ядерні рецептори).**
 - Представити схеми механізму дії тироїдних та стероїдних гормонів
 - В конспекті написати структуру та реакції біосинтезу тироїдних гормонів.
 - Охарактеризувати біологічні ефекти T₄ та T₃; особливості порушень метаболічних процесів за умов гіпер- та гіпотиреозу.
 - Проаналізувати механізми виникнення ендемічного зобу і його попередження, особливості порушень метаболічних процесів за умов гіпер- та гіпотиреозу.

- Подати схему генезу стероїдних гормонів з холестеролу

2. Стероїдні гормони кори надниркових залоз. Біохімічні ефекти глюкокортикоїдів. Мінералокортикоїди; роль альдостерону в регуляції водно-сольового обміну.

- Пояснити біохімічні ефекти глюкокортикостероїдів (кортизол, кортикостерон).
- Описати біохімічні ефекти мінералокортикостероїдів (альдостерон); роль альдостерону в регуляції водно-сольового обміну.
- Дати характеристику основ протизапальних властивостей глюкокортикоїдів.
- Характеристика гіпер- та гіпокортицизму. Хвороба Іценко-Кушинга, Адісонова хвороба (бронзова), альдостеронізм, хвороба Кона.

3. Стероїдні гормони статевих залоз. Чоловічі статеві гормони (андрогени) – тестостерон, дигідротестостерон (C₁₉-стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти, регуляція синтезу та секреції Жіночі статеві гормони: естрогени – естрадіол, естрон (C₁₈-стероїди), прогестерон (C₂₁-стероїди); біохімічні ефекти; зв'язок з фазами менструального циклу; регуляція синтезу та секреції.

- Описати будову, фізіологічні та біохімічні ефекти чоловічих статевих гормонів: тестостерон, дигідротестостерон (C₁₉-стероїди).
- Регуляція синтезу та секреції чоловічих статевих гормонів.
- Описати будову, фізіологічні та біохімічні ефекти жіночих статевих гормонів, зв'язок з фазами менструального циклу: естрогени – естрадіол, естрон (C₁₈-стероїди), прогестерон (C₂₁-стероїди).
- Регуляція синтезу та секреції жіночих статевих гормонів.
- Клінічне застосування аналогів та антагоністів статевих залоз як фармацевтичних засобів.

4. Загальна характеристика гормоноподібних речовин. Біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гастро - ентеро - панкреатичної) – системи тракту. Гастрин. Холецистокінін. Секретин.

- Вказати у конспекті хімічну природу та місце синтезу гастрину, холецистокініну, секретину.
- Охарактеризувати біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гастро – ентеро - панкреатичної) –зони.

5. Ейкозаноїди: структура, класифікація (простаноїди - простагландини, простацикліни; тромбосани; лейкотрієни), шляхи та локалізація синтезу, біохімічні ефекти. Аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби як інгібітори синтезу простагландинів.

- Подати схеми процесів біосинтезу простаноїдів, лейкотрієнів.
- Вказати біологічні та фармакологічні властивості простаноїдів, лейкотрієнів.
- Навести приклади клінічного застосування ейкозаноїдів як фармацевтичних засобів.

- Аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби як інгібітори синтезу простагландинів.

6. Фармацевтичні засоби при корекції функцій ендокринних залоз.

- Навести приклади та механізм дії сучасних фармацевтичних засобів, які застосовуються для корекції функцій ендокринних залоз.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. При утилізації арахідонової кислоти за циклооксигеназним шляхом утворюються біологічно активні речовини. Вкажіть їх:

- A. Простагландини
- B. Біогенні аміни
- C. Тироксин
- D. Інсуліноподібні фактори росту
- E. Соматомедини

2. Хворому на ревматизм призначено преднізолон. Протизапальна дія цього препарату обумовлена гальмуванням вивільнення арахідонової кислоти. Попередником яких біологічно-активних речовин є ця кислота?

- A. Простагландинів
- B. Сечової кислоти
- C. Сечовини
- D. Гему
- E. Холестерину

3. Хворий знаходиться на обліку в ендокринологічному диспансері з приводу гіпертиреозу. До схуднення, тахікардії, тремтіння пальців рук, приєднались симптоми гіпоксії – головний біль, втомлюваність, мерехтіння “мушок” перед очима. Який механізм дії тироїдних гормонів лежить в розвитку гіпоксії?

- A. Роз’єднання окиснення та фосфорилювання
- B. Специфічне зв’язування активних центрів дихальних ферментів
- C. Посилення синтезу дихальних ферментів
- D. Гальмування синтезу дихальних ферментів
- E. Конкурентне гальмування дихальних ферментів

4. Аспірин має протизапальну дію, оскільки пригнічує активність циклооксигенази. Рівень яких біологічно активних речовин буде при цьому знижуватися?

- A. Простагландинів
- B. Біогенних амінів
- C. Йодтиронінів
- D. Лейкотрієнів
- E. Катехоламінів

5. Як тироксин впливає на процеси тканинного дихання і окислювального фосфорилювання у хворой на тиреотоксикоз?
- A. Роз'єднує процес тканинного дихання і окислювального фосфорилювання.
 - B. Блокує транспорт електронів по ланцюгу цитохромів.
 - C. Викликає гідроліз АТФ.
 - D. Знижує активність ФАД-дегідрогенази.
 - E. Знижує активність НАД-дегідрогеназ

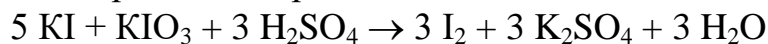
Ситуаційні задачі

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

Практична робота

Дослід 1. Якісна реакція на тироксин.

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



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

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

Хід роботи. До 24 крапель охолодженого гідролізату тироксину додають 10 % розчин H_2SO_4 до кислої реакції на лакмус. Після підкиснення додають 3 краплі 10 % розчину йодноватого калію (не потрібно додавати надлишок). Йод, який виділився, дає синє забарвлення з крохмалем.

Зробити висновок.

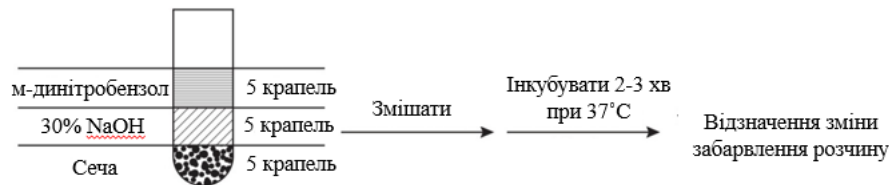
Дослід 2. Якісне визначення 17-кетостероїдів у сечі.

17-Кетостероїдами називають всі стероїди, які мають кетонну групу біля 17-го вуглецевого атома, такі як андростерон. Вони утворюються зі стероїдів, які мають ОН-групу в 17-му положенні (кортизол, кортизон тощо).

Принцип методу. Метод базується на реакції 17-кетостероїдів з м-динітробензолом у лужному середовищі з утворенням продуктів конденсації фіолетово-рожевого кольору (максимум поглинання в межах 530 нм). Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості 17-кетостероїдів у сечі.

Матеріальне забезпечення: 30 % розчин їдкого натру, розчин м-динітробензолу, сеча.

Хід роботи. У пробірку наливають 5 крапель сечі, 5 крапель 30 % розчину їдкого натру, 5 крапель розчину м-динітробензолу і перемішують. Через 2 – 3 хв з'являється вишнево-червоне забарвлення, характерне для 17-кетостероїдів.



Зробити висновок.

Значення для фармації та клініки. Максимальну екскрецію 17-кетостероїдів у чоловіків і жінок спостерігають у 25-річному віці, після чого починається поступове її зниження. При стресових станах кількість 17-кортикостероїдів у крові та сечі збільшується. При патології вміст в крові 17-кетостероїдів змінюється в залежності від гіпо- чи гіперфункції надниркових залоз. При хворобі Аддісона (гіпофункції) екскреція 17-кетостероїдів низька (1/3 – 1/5 від норми), їх вміст зменшується при гіпертиреозі, тяжких формах хвороб печінки (цироз), зростає – при пухлинах надниркових залоз (синдром Іценка-Кушінга). Паралельне визначення вільних 17-кетостероїдів у сечі дає можливість повніше оцінити функціональний стан кори надниркових залоз.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. У чоловіка 42 років, який довгий час знаходився в стані стресу, в сечі значно збільшився вміст 17-кетостероїдів. Про що це свідчить?
2. При руйнуванні йодвмісних гормонів виділяється йодноватий калій, який дає синє забарвлення з крохмалем. Які гормони містять йод у своєму складі?
3. Про що може свідчити підвищення концентрації 17-кортикостероїдів у крові та сечі?
4. Чим пояснити виникнення синього забарвлення розчину у якісній реакції на тироксин?

Індивідуальна самостійна робота студентів

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

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для студ. фарм. спеціальн. / За ред. А.А.Загайка, К.В.Александрової. – Харків, Форт, 2014. – С. 653-678.
2. Біологічна і біоорганічна хімія у 2 кн.: підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю. І. Губський, І. В. Ніжанковська, М. М. Корда та ін.]. – Київ-: ВСВ «Медицина», 2016.– С. 123-126, 323-350.
3. Біологічна хімія: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Т.І. Бондарчук. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – с. 344-350, 366-369, 374-390.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін.. Біологічна хімія: підруч.– Харків: Основа, 2000.- С. 463-511.
5. Гонський Я. І. Біохімія людини / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук, М. І. Калинський. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 154 –212
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2011. – С. 408-412, 429-432, 437-447, 452-463.
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. (Навчальний посібник для студентів медичних вузів III-IV рівнів акредитації) / За ред. Склярова О.Я. – Львів. Світ. – 2015. – С. 220-243.
8. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С.. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження. – К.: Медицина, 2009. – С. 40, 45-48, 54-64.

Додаткова:

1. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – С. 289.
2. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко – діагностичне значення. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Здоров'я, 2003. – 192 с.
3. Біохімічні показники в нормі і при патології / За ред. О.Я. Склярова – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
4. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – 432 с.

Наукова фахова:

1. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Молекулярные механизмы действия гормонов. Рецепторы, нейромедиаторы. Системы со вторыми посредниками. // Биохимия. – 2005. – том 70, вып. 1. – С. 33 – 50.
2. Wood – Allum С.А. Shaw P.J Thyroid disease and the nervous systems Handb Clin Neurol, 2014;120:703 – 735
3. Fichna M, Fichna P Glucocorticoids and beta – cell functions /Endocrinol Pol. 2017, 68(5): 568 – 573.

Розділ 8.

Основи фармацевтичної біохімії та біохімії тканин

Тема № 10. Хромопротеїни (гемоглобін та його похідні). Будова гемоглобіну його біологічна роль. Біосинтез порфіринів, механізми виникнення порфірій.

Мета заняття: Засвоїти біохімічні основи синтезу гему. Навчитися за біохімічними показниками крові та сечі проводити диференційну діагностику

порфірій. Вивчити будову, властивості та роль гемоглобіну у забезпеченні дихальної функції крові.

Мотивація теми: Гемопротейни (гемоглобін, міоглобін) – комплекси заліза з порфіринами та білком – важливі сполуки, які забезпечують транспорт кисню в нашому організмі, що є життєвоважливим для забезпечення життєдіяльності організму в цілому. Гемоглобін також залучений до транспорту інших газів: він переносить частину вуглекислого газу, важливу регуляторну молекулу – оксид азоту, а в багатьох тканинах слугує антиоксидантом і регулятором метаболізму заліза. Накопичення продуктів синтезу гему в організмі понад норму супроводжується розвитком порфірій, а аномалії синтезу гемоглобіну спричинюють розвиток гемоглобінозів.

Конкретні завдання:

- *Давати характеристики порфіринам.*
- *Пояснювати роль гемоглобіну у транспортуванні різних газів до тканин та легенів.*
- *Відтворювати структурну формулу гему та знати особливості пептидних ланцюгів, які входять до складу молекули гемоглобіну.*
- *Розрізняти фізіологічні та патологічні форми гемоглобіну.*
- *Пояснювати відмінності між різними фізіологічними формами гемоглобіну.*
- *Диференціювати патологічні форми гемоглобіну та патології, які при цьому виникають.*
- *Відтворювати реакції синтезу гему.*
- *Описувати спадкові порушення обміну порфіринів (порфірії).*

Теоретичні питання

1. Порфірини: загальна характеристика та номенклатура.
2. Гемоглобін: будова, типи гемоглобіну та його похідні. Відмінності між гемоглобіном і міоглобіном.
3. Механізми участі гемоглобіну в транспорті кисню та діоксиду вуглецю.
4. Патологічні форми гемоглобінів людини.
5. Гемоглобінози: гемоглобінопатії та таласемії.
6. Реакції біосинтезу гему. Регуляція процесу.
7. Спадкові порушення обміну порфіринів (порфірії).

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу:

1. Порфірини: загальна характеристика та номенклатура.

- Дати загальну характеристику порфіринам.
- Назвати основні класи порфіринів.

2. Гемоглобін: будова, типи гемоглобіну та його похідні.

- Описати будову гемоглобіну. Вказати структурні відмінності між гемоглобіном і міоглобіном.
- Дати характеристику типам гемоглобіну (HbA₁, HbA₂, HbA₃, HbP, HbF), заповнивши таблицю:

Назва	Особливості будови	Вміст у крові (%)

- Описати похідні гемоглобіну (HbO₂, MetHb, HbCO₂, HbCO, HbSO).

3. Механізми участі гемоглобіну в транспорті кисню та діоксиду вуглецю.

- Описати процес зв'язування гемоглобіну з киснем.
- Відобразити залежність ступеня оксигенації від парціального тиску для гемоглобіну та метгемоглобіну. Пояснити відмінності.
- Дати пояснення ефекту Бора.
- Описати механізм транспорту діоксиду вуглецю до легень.

4. Патологічні форми гемоглобінів людини.

- Дати характеристику патологічних форм гемоглобіну (HbS, HbC, HbM, HbA_{1C}), заповнивши таблицю:

Назва	Мутація	Біологічні наслідки мутації	Клінічні прояви

5. Гемоглобінози: гемоглобінопатії та таласемії.

- Дати визначення поняттям гемоглобінози, гемоглобінопатії, таласемії.
- Дати характеристику гемоглобінопатії на прикладі серпоподібноклітинної анемії.
- Пояснити причини розвитку та прояви таласемій.

6. Реакції біосинтезу гему. Регуляція процесу.

- Написати реакції синтезу гему.
- Описати регуляцію синтезу гему. Назвати алостеричні інгібітори та активатори процесу.

7. Спадкові порушення обміну порфіринів (порфірії).

- Заповнити таблицю:

Нозологічна форма порфірії	Основні клінічні симптоми	Біохімічні показники		
		Еритроцити	Сеча	Кал

Приклади тестів інтегрального іспиту "Крок – 1"

1. Які порфірини та їх ізомери визначають у крові хворих з підозрою на порушення порфіринового обміну?

- Уропорфірин III
- Копропорфірин IV
- Копропорфірин V
- Уропорфірин II
- Протопорфірин X

2. До якої з перелічених порфірій можна віднести такі показники: дитячий вік; збільшена селезінка; клініка гемолітичної анемії, виразки, рубці, еритема шкірних покривів, підвищена чутливість до сонячного опромінення,

лейкоцитоз; гіпертермія. Сеча забарвлена в червоно-помаранчєй колір за рахунок наявності уропорфірину I?

- A. Уропорфірія (хвороба Гюнтера)
- B. Печінкова порфірія
- C. Еритропоетична порфірія
- D. Копропротопорфірія
- E. Переміжна порфірія

3. У дитини на четвертому місяці життя розвинулася тяжка форма гіпоксії, що проявлялася задихою та ціанозом шкіри. Причиною цього є порушення заміни фетального гемоглобіну на:

- A. Гемоглобін А.
- B. Гемоглобін S.
- C. Глікозильований гемоглобін.
- D. Метгемоглобін.
- E. Гемоглобін М.

4. Пацієнт 20-ти років скаржиться на загальну слабкість, запаморочення, швидку втомлюваність. При обстеженні виявлено: гемоглобін крові 80 г/л, мікроскопічно – еритроцити зміненої форми. Причиною цього може бути:

- A. Серпоподібноклітинна анемія.
- B. Обтураційна жовтяниця.
- C. Паренхіматозна жовтяниця.
- D. Гостра переміжна порфірія.
- E. Хвороба Аддісона.

5. Людина знепритомніла у салоні автомобіля, де тривалий час очікувала приятеля при ввімкненому двигуні. Яку сполуку гемоглобіну можна виявити у крові постраждалого?

- A. Карбоксигемоглобін.
- B. Карбгемоглобін.
- C. Дезоксигемоглобін.
- D. Метгемоглобін.
- E. Оксигемоглобін.

Ситуаційні задачі

1. Пацієнт скаржиться на загальну слабкість, серцебиття. Об'єктивний огляд показав підвищену чутливість до сонячного опромінення, тахікардію, спленомегалію. Лікар підозрює розвиток еритропоетичної протопорфірії. Які результати лабораторних досліджень зможуть підтвердити діагноз?

2. У результаті лабораторного дослідження сечі встановлено, що вміст уропорфірину та копропорфірину збільшився в 100 разів порівняно з нормою, вміст АЛК, порфобіліногену, порфіринів еритроцитів залишається нормальним. Який попередній діагноз можна поставити, спираючись на результати лабораторних досліджень?

3. Під час судово-медичного дослідження трупної крові спектральним аналізом у жовтій і зеленій смугах спектру виявлено смугу поглинання.

При додаванні до розчину крові дитіоніту натрію спектр не змінюється. Про що це свідчить?

Практична робота

Дослід 1. Виявлення оксигемоглобіну (HbO₂)Fe²⁺.

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

Матеріальне забезпечення: спектроскоп, натрію дитіоніт, розчин крові.

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

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

Дослід 2. Виявлення дезоксигемоглобіну (Hb)Fe²⁺.

Хід роботи: До розчину оксигемоглобіну в 2-й пробірці додають 2 – 3 крупинки натрію дитіоніту Na₂S₂O₄ і обережно змішують. Відмічають зміну кольору. Розчин гемоглобіну обережно переливають із пробірки в пробірку для доступу кисню і переходу дезоксигемоглобіну в оксигемоглобін. Відмічають зміну кольору і перевіряють спектр поглинання. В спектроскопі видно широку полосу поглинання між Фраунгоферовими лініями Д і Е, характерними для оксигемоглобіну.

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

Значення для фармації і клініки. Концентрація гемоглобіну в крові жінок 120 – 140 г/л, а у чоловіків 130 – 140 г/л. Зменшення концентрації гемоглобіну є основним показником при анемії. Рівень зниження гемоглобіну у крові залежить від форми анемії.

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

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

У клініці для діагностики цукрового діабету використовується рівень глікозилизованого гемоглобіну. Глікозилований гемоглобін – це комплекс

глюкози з мінорною фракцією А гемоглобіну. В нормі його концентрація становить 5-7 % від загальної кількості гемоглобіну.

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

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

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

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

Значення для фармації і клініки. У судово-медичних експертизах ідентифікацію крові проводять за утворенням геміну.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. За допомогою якого методу можна виявити похідні гемоглобіну?
2. Який тип гемоглобіну визначають при цукровому діабеті?
3. Яка нормативна величина гемоглобіну для чоловіків і жінок?
4. При додаванні яких сполук можна досягти зникнення спектра оксигемоглобіну?

Література

Основна:

1. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
2. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
3. Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. Біологічна хімія. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига. – 2015. – 702 с.
4. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі / Бондарчук Т., Гринчишин Н., Климишин Д., Кобилінська Л., Макаренко Т., Мазур О., Склярів О., Федевич Ю., Фоменко І., Хаврона О. – Л.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – 454 с.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред. Склярів О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – 702 с.
2. Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2022. Т. 3. – 296 с.
3. Функціональна біохімія / За ред. Сибірної Н.О. – ЛНУ, 2018. – 644 с.

Науково-фахова:

1. Bocharova V. Porphyrins and photodynamic skin damage (problem lecture)/ Bioenergetics in Medicine and Biology 2019. - № 1(3), - С. 4-24. DOI 10.26886/2523-6938.1(3)2019.3

2. HbA1c level as a risk factor for retinopathy and nephropathy in children and adults with type 1 diabetes: Swedish population based cohort study / M. Lind, A. Pivodic, A. Svensson та ін. BMJ. 2019. № 366. С. 1–9.

3. Thom C. S. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates / C. S. Thom, C. F. Dickson, D. A. Gell, M. J. Weiss // Cold Spring Harbor perspectives in medicine. – 2019. - №3(3). Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23388674>.

Тема № 11. Дослідження біохімічних функцій крові. Білки плазми крові, небілкові азотовмісні і безазотисті компоненти крові. Кислотно-основний стан крові та його регуляція

Мета заняття: Вміти аналізувати біохімічний склад крові та пояснювати роль білків плазми крові, аналізувати зміни показників кінцевих продуктів метаболізму в крові. Знати небілкові азотовмісні сполуки крові, що складають залишковий азот, та засвоїти методи його визначення.

Мотивація теми: У діагностиці невідкладних станів важлива роль належить визначенню кислотно-основного стану, парціального тиску кисню та вуглекислого газу крові, стану буферних систем крові, іонного складу позаклітинної рідини, осмолярності біологічних рідин, дисоціації гемоглобіну тощо. У плазмі крові виявлено і описано понад 100 різновидів білків. Білки плазми визначають її властивості: колоїдно-осмотичний тиск і, тим самим, постійний об'єм крові, в'язкість крові, підтримання постійного рН крові та функції, а саме: захисну, регуляторну, терморегуляторну, дихальну, трофічну тощо.

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

Конкретні завдання:

- Аналізувати біохімічний склад крові та пояснювати діагностичну роль білків плазми крові, небілкових азотовмісних сполук (залишковий азот), безазотистих органічних компонентів крові в нормі та за умов розвитку патології.
- Аналізувати стан здоров'я людини на підставі біохімічних параметрів змін проміжних та кінцевих продуктів метаболізму в крові.
- Пояснювати біохімічні основи функціонування калікреїн-кінінової системи.
- Вміти охарактеризувати порушення кислотно-основної рівноваги і пояснити причини їх виникнення.

Теоретичні питання

1. Біологічні та біохімічні функції крові в організмі людини. Дихальна функція еритроцитів.
2. Хімічний склад та фізико-хімічні властивості крові здорової людини. Вплив лікарських засобів на фізико-хімічні властивості крові.
3. Використання цільної крові донорів та препаратів з крові тварин у практичній медицині.
4. Основні фракції білків плазми та їх клініко-біохімічна характеристика, зміна вмісту при патологіях. Гіпер-, гіпо-, пара- та диспротеїнемії.
5. Ферменти плазми крові: значення в ензимодіагностиці захворювань органів і тканин. Калікреїн-кінінова система крові та тканин. Лікарські засоби – антагоністи кініноутворення.
6. Небілкові органічні сполуки плазми крові. Неорганічні компоненти плазми крові.
7. Азотемія, її види і причини виникнення. Біохімічні аспекти використання деяких лікарських засобів при азотемії.
8. Кислотно-основний стан. Регуляція рН рідин в організмі, порушення кислотно-основного стану: ацидоз метаболічний та респіраторний; алкалоз метаболічний та респіраторний. Механізми їх виникнення.
9. Роль нирок, органів дихання, тканин в регуляції кислотно-основного стану.
10. Буферні системи крові, їх види. Роль буферних систем крові в підтриманні постійності рН крові.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

- 1. Біохімічні та фізіологічні функції крові в організмі людини. Дихальна функція еритроцитів.**
 - Назвати і охарактеризувати функції крові.
 - Дати визначення поняттю «еритроцит», описати особливості його будови.
 - Вказати особливості біохімічного складу еритроцитів, обґрунтувати наявність 2,3-дифосфогліцеринової кислоти.
- 2. Хімічний склад та фізико-хімічні властивості крові здорової людини. Вплив лікарських засобів на фізико-хімічні властивості крові.**
 - Вказати групи органічних речовин, що входять до складу плазми крові.
 - Описати фізико-хімічні властивості крові.
 - Вказати, які групи лікарських засобів та яким чином можуть впливати на основні фізико-хімічні властивості крові (в'язкість, осмотичний та онкотичний тиск).
- 3. Використання цільної крові донорів та препаратів з крові тварин у практичній медицині.**
 - Вказати мету використання донорської крові та основні вимоги до її якості.
 - Перерахувати компоненти цільної крові донорів, які використовуються в медичній практиці.

- Навести приклади препаратів крові людини білкової природи.
- Навести приклади препаратів крові тварин.

4. Основні фракції білків плазми та їх клініко-біохімічна характеристика, зміна вмісту при патологіях. Гіпер-, гіпо-, пара- та диспротеїнемії.

- Назвати і охарактеризувати фракції білків плазми крові.
- Зобразити електрофореграму білків плазми крові за умов норми та при патологіях.
- Заповнити таблицю:

Білок	Особливості	Основна функція

- Дати визначення поняттям і вказати причини їх виникнення:

Гіперпротеїнемія – це...

Гіпопротеїнемія – це...

Парапротеїнемія – це...

Диспротеїнемія – це...

5. Ферменти плазми крові: значення в ензимодіагностиці захворювань органів і тканин. Калікреїн-кінінова система крові та тканин. Лікарські засоби – антагоністи кініноутворення.

- Дати визначення поняттю «ензимодіагностика».
- Навести приклади використання ферментів та їх ізоформ у діагностиці патологій з вказанням назви ферменту/ізоферменту та органу/тканини, в якому вони локалізовані.
- Зобразити у вигляді схеми механізм утворення кінінів.
- Описати основні кініни та вказати їх біологічні функції.
- Вказати механізм дії та застосування апротиніну (Гордокс, Контрикал).

6. Небілкові органічні сполуки плазми крові. Неорганічні компоненти плазми крові.

- Описати азотовмісні сполуки крові.
- Заповнити таблицю:

Показник	Концентрація за умов норми	Клініко-діагностичне значення

- Описати безазотисті сполуки плазми крові.
- Перелічити макро- та мікроелементи, які входять до складу плазми крові.

7. Азотемія, її види і причини виникнення. Біохімічні аспекти використання деяких лікарських засобів при азотемії.

- Дати визначення поняттю «азотемія».
- Описати види азотемій і причини їх виникнення.
- Пояснити, яким чином азотемія може впливати на фармакокінетику лікарських засобів.

8. Кислотно-основний стан. Регуляція рН рідин в організмі, порушення кислотно-основного стану: ацидоз метаболічний та респіраторний; алкалоз метаболічний та респіраторний. Механізми їх виникнення.

- Дати визначення поняттям:

Ацидоз – це...

Алкалоз – це...

- Заповнити таблицю:

Порушення КОР	Причини виникнення	Стани, при яких виникає
Ацидоз респіраторний		
Ацидоз метаболічний		
Алкалоз респіраторний		
Алкалоз метаболічний		

9. Роль нирок, органів дихання, тканин в регуляції кислотно-основного стану.

- Пояснити роль органів дихання та тканин у виникненні певних видів порушень кислотно-основної рівноваги.
- Пояснити участь нирок та легенів у компенсації порушень кислотно-основної рівноваги.

10. Буферні системи крові, їх види. Роль буферних систем крові у підтриманні постійності рН крові.

- Охарактеризувати буферні системи крові (білкову, гемоглобінову, бікарбонатну, фосфатну).

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. При електрофоретичному дослідженні сироватки крові пацієнта виявили інтерферон. В зоні якої фракції цей білок знаходиться?

- A. β -глобуліни
- B. α_1 -глобуліни
- C. α_2 -глобуліни
- D. γ -глобуліни
- E. Альбуміни

2. Чоловік 49-ти років страждає на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом. Який провідний механізм розвитку набряків при даній патології?

- A. Утруднення лімфовідтоку
- B. Підвищення гідростатичного тиску в капілярах
- C. Зниження онкотичного тиску крові
- D. Підвищення проникності капілярів
- E. Підвищення онкотичного тиску інтерстиціальної тканини

3. У пацієнта інфаркт міокарда. Активність якого ферменту буде значно підвищена в сироватці крові хворого в перші години?

- A. ЛДГ₄
- B. Креатинфосфокіназа-МВ
- C. АСТ
- D. ЛДГ₅
- E. АЛТ

4. Пацієнт звернувся зі скаргами на гострий біль у правому підребер'ї. При огляді лікар звернув увагу на пожовтіння склер хворого. Лабораторно: підвищена активність АЛТ та негативна реакція на стеркобілін в калі. Для якого захворювання характерні такі симптоми?

- A. Хронічний гастрит
- B. Гемолітична жовтяниця
- C. Хронічний гастродуоденіт
- D. Хронічний коліт
- E. Гепатит

5. До лікаря звернувся чоловік 60-ти років зі скаргами на гострий біль в великих пальцях ніг. Він часто вживає пиво. Виникла підозра на подагру. Вміст якої із перелічених речовин необхідно визначити у крові для підтвердження діагнозу?

- A. Сечова кислота
- B. Сечовина
- C. Лактат
- D. Білірубін
- E. Кетонові тіла

Ситуаційні задачі

1. Загальний вміст білка у крові становить 50 г/л. Оцініть отриманий результат. Які можливі причини виникнення такого стану?
2. Визначте вміст залишкового азоту в сироватці крові, якщо відомо, що вміст азоту сечовини становить 27,14 ммоль/л, а резидуальний – 20,5 ммоль/л. Яке клініко-діагностичне значення має цей показник?
3. Як за вмістом залишкового азоту крові та загального азоту сечі можна диференціювати ретенційну і продукційну азотемію?

Практична робота

Дослід 1. Колоїдна проба Вельтмана на визначення стану білків крові

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

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

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

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

Результати оцінюють за загальною кількістю кальцію хлориду в цій реакції. Норма становить 0,4 – 0,5 мл кальцію хлориду.

Значення для фармації і клініки. Пробу Вельтмана використовують для ранньої діагностики захворювань печінки, ревматизму, туберкульозу легенів та інших захворювань, які супроводжуються диспротеїнеміями, переважанням грубодисперсних глобулінових фракцій.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Клініко-діагностичне значення використання колоїдних (осадових) проб.
2. Які основні причини метаболічного та респіраторного ацидозів?
3. Таласемії відносяться до вроджених дефектів синтезу гемоглобінів, при яких у мутантних формах гемоглобінів відсутні α - або β -ланцюги. Які зміни крові характерні для β -таласемії?

Індивідуальна самостійна робота студентів

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

Література

Основна:

1. Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. Біологічна хімія. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига. – 2015. – 702 с.
2. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
4. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі. Навчальний посібник / [Т. І. Бондарчук, Н. М. Гринчишин, Д. О. Климишин та ін.] ; за ред. О. Я. Склярів. – Львів: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 348-373.
5. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження: підручник / О. Я. Склярів, Н. В. Фартушок, Л. Д. Сойка, І. С. Смачило. – К. : Медицина, 2009. – С. 99-106.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2022. Т. 3. – 296 с.
2. Функціональна біохімія / За ред. Сибірної Н.О. – ЛНУ, 2018. – 644 с.
3. Клінічна біохімія / [Д. П. Бойків, О. Л. Іванків, Л. І. Кобилінська та ін.] ; за ред. Склярова О. Я. – Київ: Медицина, 2006. – 432 с.

Наукова фахова:

1. Катеренчук І. П. Клінічна оцінка, діагностичне і прогностичне значення деяких сучасних лабораторних досліджень у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Кардіологія: від науки до практики. - 2019, № 3 (37). – С. 70 – 81.
2. Діагностичне значення метаболічних і клінічних показників у моніторингу захворювань (навчальний посібник) / за редакцією проф. В.І. Жукова, О.А. Наконечної – Харків: ХНМУ, 2017. – 338 с.
3. Шевряков М.В. Буферні системи крові (лекція) / Природничий альманах (біологічні науки), 2021. - №30, - С.121 – 135. DOI:10.32999/ksu2524-0838/2021-30-12.

Тема № 12. Дослідження згортальної, антизгортальної та фібринолітичної системи крові. Біохімічні закономірності реалізації імунних процесів

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

Мотивація теми: Згортання крові - складний біохімічний процес, який є захисною реакцією нашого організму на крововтрату. Знання біохімічної характеристики згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові є необхідними для розуміння механізмів підтримання агрегатного стану крові за умов норми та при чисельних захворюваннях, а також для їх своєчасної корекції лікарськими засобами.

Конкретні завдання:

- Трактувати біохімічні механізми функціонування згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові.
- Оволодіти методами дослідження системи згортання крові та фібринолізу, вміти трактувати отримані результати.
- Знати роль компонентів згортальної, антизгортальної та фібринолітичної систем крові в патобіохімії синдрому дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові, атеросклерозу та гіпертонічної хвороби.
- Характеризувати клітинні та біохімічні компоненти імунної системи.
- Пояснювати механізми виникнення імунодефіцитних станів.

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика процесу згортання крові та системи гемостазу в організмі людини, її етапи.
2. Судинно-тромбоцитарний гемостаз: етапи; складові компоненти, що забезпечують реалізацію цього процесу.
3. Коагуляційний гемостаз: механізми активації та функціонування каскадної системи згортання крові; внутрішній та зовнішній шляхи коагуляції. Роль вітаміну К у реакціях коагуляції. Лікарські засоби – агоністи та антагоністи вітаміну К.
4. Спадкові та набуті порушення судинно-тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу.
5. Антизгортальна система крові, характеристика антикоагулянтів.
6. Фібринолітична система крові: етапи та компоненти фібринолізу. Лікарські засоби, що впливають на процеси фібринолізу.
7. Імуноглобуліни – ефектори гуморального імунітету: структура, біологічні функції, механізми регуляції їх синтезу.
8. Медіатори та гормони імунної системи: інтерлейкіни, інтерферони, білково-пептидні фактори регуляції росту та проліферації клітин.
9. Біохімічні компоненти системи комплементу людини; класичний та альтернативний (пропердиновий) механізми активації.
10. Біохімічні механізми імунодефіцитних станів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Загальна характеристика процесу згортання крові та системи гемостазу в організмі людини, її етапи.
 - Дати визначення поняттям «згортання крові» та «гемостаз».
 - Перелічити основні функції системи гемостазу.
 - Перелічити компоненти, що забезпечують функціонування системи гемостазу.
 - Назвати етапи гемостазу.
2. Судинно-тромбоцитарний гемостаз: етапи; складові компоненти, що забезпечують реалізацію цього процесу.
 - 2.1. Описати етапи судинно-тромбоцитарного гемостазу (спазм судин, адгезія, агрегація).
 - 2.2. Дати характеристику тромбоцитам, як основним функціональним складовим судинно-тромбоцитарного гемостазу.
 - 2.3. Перелічити і вказати роль тромбоцитарних факторів згортання крові.
 - 2.4. Охарактеризувати рецептори тромбоцитів.
 - 2.5. Описати будову та роль фактора Віллебранда.
 - 2.6. Охарактеризувати роль тромбоксану А2 та простацикліну, відобразити механізм їх утворення.
3. Коагуляційний гемостаз: механізми активації та функціонування каскадної системи згортання крові; внутрішній та зовнішній шляхи коагуляції. Роль вітаміну К у реакціях коагуляції. Лікарські засоби – агоністи та антагоністи вітаміну К.

- Описати коагуляційні фактори згортання крові, відзначити вітамін К-залежні.
- Вказати роль вітаміну К в реакціях коагуляції, написати реакцію карбоксилювання глютамінової кислоти і зв'язування останньої з кальцієм.
- Навести механізм дії та застосування у медицині агоністів та антагоністів вітаміну К.
- Охарактеризувати фази коагуляційного гемостазу (активація, коагуляція, ретракція згустка):
- Вказати складові компоненти протромбінази.
- Описати зовнішній та внутрішній шляхи активації протромбінази.
- Охарактеризувати роль протромбінази, назвати основні шляхи впливу тромбіну.
- Описати структуру фібриногену та механізм його перетворення на нерозчинний фібрин.
- Описати компоненти, що забезпечують ретракцію згустку.

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

- Описати судинно-тромбоцитарні патології, заповнивши таблицю:

Захворювання	Дефіцит фактора	Порушений процес

- Охарактеризувати тромбоцитопатії з порушенням реакції вивільнення та хвороби недостатнього пулу нагромадження або зберігання.
- Описати порушення коагуляційного гемостазу:
 - гемофілії;
 - а-, гіпо-, дисфібриногенемії;
 - тромбофілії.

5. Антизгортальна система крові, характеристика антикоагулянтів.

- Дати визначення поняттю «антикоагулянти», навести їх класифікацію.
- Перелічити і охарактеризувати основні первинні та вторинні антикоагулянти.

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

- Дати визначення поняттю «фібриноліз», описати етапи фібринолізу.
- Описати групи лікарських засобів – активаторів плазміногену та інгібіторів плазміну, навести приклади.

7. Імуноглобуліни – ефектори гуморального імунітету: структура, біологічні функції, механізми регуляції їх синтезу.

- Описати загальний принцип будови імуноглобулінів.
- Дати біохімічну характеристику класів імуноглобулінів (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE) людини.
- Описати принцип регуляції імуноглобулінів.

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

- Дати визначення поняттю «цитокіни», навести їх класифікацію.

- Описати інтерлейкіни, інтерферони, білково-пептидні фактори регуляції. росту та проліферації клітин з вказанням місця їх синтезу та біологічної ролі.
- Обґрунтувати механізм противірусної дії інтерферонів.

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

- Пояснити біологічне значення системи комплементу, вказати її компоненти.
- Зобразити схематично активацію системи комплементу за класичним, лектиновим і альтернативним механізмами.

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

- Дати визначення поняттю «імунодефіцитний стан».
- Описати первинні імунодефіцити за схемою:
назва;
причини виникнення;
прояви.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Для експериментального утворення тромбів в судинах поруч з веною брижі жаби кладуть кристалик кухонної солі. Що є основним механізмом, який запускає тромбоутворення у данному випадку?

- A. Завихрення кровотоку
- B. Сповільнення кровотоку
- C. Пошкодження ендотелію
- D. Зростання активності системи згортання крові
- E. Зниження активності системи протизгортання

2. Крім білкових факторів, у процесі зсідання крові беруть участь катіони. Вкажіть, який із катіонів відіграє провідну роль у цьому процесі:

- A. K^+
- B. Ca^{2+}
- C. Na^+
- D. Mn^{2+}
- E. Mg^{2+}

3. Студент використав консервовану донорську кров для визначення часу її зсідання. Однак, будь-якого позитивного результату він отримати не зміг. Причиною цього є відсутність в крові:

- A. Фібриногену
- B. Фактора Хагемана
- C. Тромбопластину
- D. Іонізованого кальцію
- E. Вітаміну К

4. Пацієнт потрапив до лікарні з кишковою кровотечею. Який лікарський засіб треба включити до схеми лікування?

- A. Рибофлавін
- B. Сульфаніламід
- C. Кокарбоксилаза
- D. Аспірин
- E. Вікасол

5. Пацієнту, у якого діагностовано тромбоз нижніх кінцівок, лікар призначив синкумар, що є антивітаміном К. Який процес гальмується під дією цього лікарського засобу?

- A. Карбоксилювання залишків глутамату
- B. Фосфорилування залишків серину
- C. Метилування радикалів амінокислот
- D. Гідроксилювання проліну
- E. Гідроксилювання лізину

Ситуаційні задачі

1. При лабораторному аналізі крові, доставленій з пологового відділення, встановлено, що час згортання крові за методом Лі-Уайта становить 15 хв (норма 5 – 10 хв), протромбіновий час 45 с (норма 14 – 16 с), наявна велика кількість мікротромбів, знижений вміст тромбоцитів. Яку патологію слід підозрювати?

2. До лікаря звернулась мати з дитиною 3-х років, у якої виявлені наступні симптоми: кровоточивість ясен, підшкірні крововиливи, тривалі кровотечі після незначних травм. Лабораторно встановлено подовження часу згортання крові, подовження часу рекальцифікації плазми і гепаринового часу. Який імовірний діагноз та подальша диференціальна діагностика захворювання?

3. До лікаря звернулась мати з дитиною віком 6 міс., яка часто хворіє на інфекційні захворювання, що характеризуються тяжким перебігом, а також частими діареями. Температура тіла становить 37,9 °С, зі слів матері гарячка у дитини постійна. Лікар помітив наявність неврологічних симптомів та кон'юнктивіт. Лабораторно діагностовано зниження вмісту В-лімфоцитів, різке зниження (у десятки разів) вмісту імуноглобулінів класу А, G та М. Яке захворювання слід підозрювати?

Практична робота

Дослід 1. Визначення циркулюючих імунних комплексів

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

Матеріальне забезпечення: сироватка крові хворого, 0,1 М боратний буфер (рН 8,4), 4 % розчин ПЕГ-6000, спектрофотометр, пробірки.

Хід роботи. У контрольну пробірку вносять 2,7 мл 0,1 М боратного буферу (рН 8,4) і 0,3 мл розведеної в три рази боратним буфером сироватки хворого; у дослідну – 0,3 мл розведеної сироватки та 2,7 мл 4 % розчину ПЕГ-6000. Обидві пробірки витримують 1 год при кімнатній температурі, вимірюють екстинкцію на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм. Отриманий показник екстинкції множать на тисячу і виражають в умовних одиницях.

Значення для фармації і клініки. Визначення циркулюючих імунних (ЦІК) комплексів є важливим тестом для визначення тяжкості та активності патологічного процесу. У нормі їх рівень коливається в межах 30 – 100 ум.од. Розміри ЦІК впливають на їх імунобіологічну активність і роль в патогенезі захворювань. ЦІК великих і середніх розмірів є найбільш патогенними, тобто можуть взаємодіяти з системою комплементу, згортальною, калікреїнкініновою та іншими регуляторними системами організму і здійснювати цитопатогенний вплив на клітинні мембрани.

Контроль виконання лабораторної роботи

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

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Синдром набутого імунодефіциту людини (СНІД): причина, діагностика, клінічні ознаки, лікування.

Література

Основна:

1. Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. Біологічна хімія. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмендкнига. – 2015. – 702 с.
2. Біологічна хімія. Губський Ю.І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Книжний дом, 2021. – 648 с.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів 3-4 рівнів акредитації – Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. – 736 с.
4. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі. Навчальний посібник / [Т. І. Бондарчук, Н. М. Гринчишин, Д. О. Климишин та ін.] ; за ред. О. Я. Склярова.– Львів: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 374-381, 407-408.
5. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження: підручник / О. Я. Склярів, Н. В. Фартушок, Л. Д. Сойка, І. С. Смачило. – К. : Медицина, 2009. - С. 308-311, 322-339.

Додаткова:

1. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. - 702 с.

2. Клінічна біохімія : підручник: у 3 т. / Г. Г. Луньова, Г. М. Ліпкан, Л. В. В'юницька та ін. /; за ред. Г. Г. Луньової. – Львів : ПП «Магнолія 2006», 2022. Т. 3. – 296 с.
3. Функціональна біохімія / За ред. Сибірної Н.О. – ЛНУ, 2018. – 644 с.

Наукова фахова:

1. Ендотелій - головна мішень коронавірусної інфекції / Бондар М.В., Пилипенко М.М., Лоскутов О.А. // Медицина невідкладних станів, 2022. – Т. 18, No 2. – С. 13 – 19. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.18.2.2022.1467>
2. Кугут Н.С. Роль цитокинових імуногенів в медичній практиці // Студентський науковий вісник. 2020. – Випуск 14. - С.118 – 125.
3. Швець В. А. Гасюк О. М. Участь цитокинів у адаптаційних реакціях (огляд літератури) / Природничий альманах, 2020. - №27, - С. 145-161.
4. Шурко Н. Фактор фон Віллебранда: структура, властивості й роль у процесі гемостазу // Вісник Львівського університету. Серія біологічна, 2020. - Випуск 83. - С. 3–13. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2021.83.01>
5. COVID19: цитокиновий шторм і антицитокинова терапія / Бондар М.В., Пилипенко М.М., Лоскутов О.А. // Медицина невідкладних станів, 2021. – Т. 17, No 2. – С. 6 – 13. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.17.2.2021.230629>

Тема № 13. Роль печінки в обміні вуглеводів, ліпідів, білків. Обмін кінцевих продуктів катаболізму гему. Патобіохімія жовтяниць.

Мета заняття: Засвоїти гомеостатичну роль печінки в регуляції вуглеводного, білкового, ліпідного обмінів організму. Знати біохімічні основи катаболізму гему. Навчитися за біохімічними показниками крові та сечі проводити диференційну діагностику жовтяниць.

Мотивація теми: Печінка займає центральне місце в обміні речовин, підтримуючи гомеостаз внутрішнього середовища організму. Печінці належить значна роль у регуляції вуглеводного, білкового, ліпідного обмінів, у обміні вітамінів, гормонів та мікроелементів. Цей орган виконує жовчоутворювальну та сечовиноутворювальну функції, бере участь у метаболізмі гему, у детоксикації речовин ендогенного та екзогенного походження.

Порушення катаболізму гему та метаболізму його продукту білірубину в печінці супроводжується порушенням пігментного обміну і появою жовтяниць. Діагностику жовтяниць можна провести, аналізуючи біохімічні показники крові та сечі.

Конкретні завдання:

- Знати біохімічні функції печінки.
- Пояснювати біохімічні основи гомеостатичної функції печінки у регуляції вуглеводного, ліпідного та білкового обмінів.
- Пояснювати роль печінки в забезпеченні нормоглікемії (синтез і катаболізм глікогену, глюконеогенез) та при патологічних змінах – гіпо-, гіперглікемії, глюкозурії.
- Трактувати роль печінки у синтезі жовчі та сечовини.

- Трактувати біохімічні показники крові та сечі, які характеризують порушення функцій печінки.
- Пояснювати біохімічні основи катаболізму гемоглобіну.
- Аналізувати диференційні зміни біохімічних показників крові та сечі (вільний та кон'югований білірубін) з метою оцінки патобіохімії жовтяниць.
- Визначати білірубін у сироватці крові. Давати оцінку отриманим результатам і робити висновок.

Теоретичні питання

1. Біохімічні функції гепатоцитів. Гомеостатична роль печінки в обміні вуглеводів, білків та ліпідів.
2. Роль печінки у синтезі сечовини та синтезі жовчі. Біохімічний склад жовчі.
3. Катаболізм гемоглобіну: розрив тетрапірольного кільця гему, розпад вердоглобіну, перетворення білівердину на білірубін, утворення білірубіндиглокуроніду, екскреція в жовч та подальше перетворення у шлунково-кишковому тракті.
4. Клініко-діагностичне значення визначення загального білірубіну та його фракцій.
5. Патобіохімія набутих жовтяниць: гемолітична (передпечінкова), паренхіматозна (печінкова), обтураційна (післяпечінкова).
6. Причини та прояви спадкових жовтяниць.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Біохімічні функції гепатоцитів. Гомеостатична роль печінки в обміні вуглеводів, білків та ліпідів.
 2. Дати визначення та вказати механізми вуглеводрегулюючої ролі печінки в організмі людини. Навести схему вуглеводного обміну у гепатоцитах.
 2. Пояснити особливості функціонування у гепатоцитах гексокінази і глюкокінази. Представити графік залежності ферментативної активності цих ферментів від концентрації глюкози.
 2. Заповнити таблицю

Ферменти	Гексокіназа	Глюкокіназа
K _m		
V _{max}		
Інгібування глюкозо-6-фосфатом		

2. Дати визначення та вказати механізми ліпідрегулюючої ролі печінки в організмі людини.
2. Дати визначення та вказати механізми білоксинтезуючої ролі печінки в організмі людини.
2. Роль печінки у синтезі сечовини та синтезі жовчі. Біохімічний склад жовчі.

3. Дати визначення та вказати механізми сечовиноутворювальної ролі печінки в організмі людини.
3. Дати визначення та вказати механізми жовчоутворювальної ролі печінки в організмі людини. Пояснити різницю хімічного складу печінкової та міхурової жовчі.
3. Катаболізм гемоглобіну: розрив тетрапірольного кільця гему, розпад вердоглобіну, перетворення білівердину на білірубін, утворення білірубіндіглюкуроніду, екскреція в жовч та подальше перетворення у шлунково-кишковому тракті.
4. Представити реакції катаболізму гемоглобіну.
4. Написати реакції кон'югації білірубину з глюкуроновою кислотою.
4. У вигляді схеми показати процес перетворень білірубину в кишковому тракті.
4. Клініко-діагностичне значення визначення загального білірубину та його фракцій.
- 4.1. Дати визначення і навести норму :
- прямий, звязаний, кон'югований білірубін крові
 - непрямий, вільний, некон'югований білірубін.
- 4.2. Заповніть таблицю:

Жовтяниця	Кров		Сеча	
	Білірубін прямий	Білірубін непрямий	Білірубін	Стеркобілін
Гемолітична (надпечінкова)				
Паренхіматозна (печінкова)				
Механічна (підпечінкова)				
Новонароджених (фізіологічна)				

5. Патобіохімія набутих жовтяниць: гемолітична (передпечінкова), паренхіматозна (печінкова), обтураційна (післяпечінкова).

5.1. Заповнити таблицю:

Типи жовтяниць	Причини виникнення	Діагностичні критерії
Гемолітичній жовтяниці		
Паренхіматозній жовтяниці		
Обтураційній жовтяниці		
Фізіологічна жовтяниця		

6. Причини та прояви спадкових жовтяниць.

6.1. Заповніть таблицю:

Типи спадкових	Причини виникнення	Діагностичні критерії

жовтяниць		
Синдром Жильбера		
Синдром Криглера - Найяра		
Синдром Дабіна - Джонсона		

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

- Хворому з метою попередження жирової дистрофії печінки лікар призначив ліпотропний препарат – донор метильних груп. Це імовірно:
 - S-Аденозилметіонін
 - Холестерол
 - Білірубін
 - Валін
 - Глюкоза
- Після споживання високовуглеводної їжі спостерігається аліментарна гіперглікемія. Активність якого ферменту гепатоцитів при цьому індукується у найбільшій мірі?
 - Глюкокіназа
 - Альдолаза
 - Фосфорилаза
 - Ізоцитратдегідрогеназа
 - Глюкозо-6-фосфатаза
- У жінки віком 46 років із жовчнокам'яною хворобою, розвинулась жовтяниця. При цьому сеча стала темно-жовтого кольору, кал – знебарвлений, у плазмі крові виявлено підвищений вміст кон'югованого (прямого) білірубіну. Який вид жовтяниці можна запідозрити?
 - Обтураційну
 - Паренхіматозну
 - Гемолітичну
 - Жовтяницю новонароджених
 - Хворобу Жильбера
- У малюка, що народився недоношеним, спостерігається жовте забарвлення шкіри та слизових оболонок. Причиною цього стану є тимчасова нестача ензиму.
 - УДФ-глюкуронілтрансферази
 - δ -Амінолевулінатсинтази
 - Гемоксигенази
 - Порфобілінгенсинтази
 - Білівердинредуктази

5. У хворого із жовтяницею виявлено: підвищення у плазмі крові вмісту загального білірубину за рахунок непрямого (вільного), у калі і сечі – вмісту стеркобіліну, вміст прямого (зв'язаного) білірубину в плазмі крові – в межах норми. Який вид жовтяниці можна запідозрити?

- A. Гемолітичну
- B. Паренхіматозну
- C. Механічну
- D. Жовтяницю новонароджених
- E. Хворобу Жільбера

Ситуаційні задачі

1. У пацієнта спостерігається знебарвлення калових мас, спостерігається виділення з калом триацилгліцеролів. Порухення засвоєння яких речовин буде спостерігатися при цій формі стеатореї?
2. У пацієнта діагностовано гепатит, при якому порушена білоксинтетична функція печінки. Як при цьому зміниться білковий склад крові?
3. У пацієнта загальний білірубін крові – 35 мкмоль/л, прямий білірубін – 4 мкмоль/л, непрямий – 31 мкмоль/л. Зниження активності якого ферменту кон'югації може викликати вказані порушення?

Практична робота

Дослід 1. Визначення вмісту білірубину в сироватці крові.

Принцип методу. Білірубін взаємодіє з діазореактивом з утворенням азобілірубину рожевого кольору. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації білірубину і може бути визначена фотометрично при зеленому світлофільтрі (довжина хвилі 530-560 нм). Кон'югований білірубін дає швидку (пряму) реакцію. Реакція некон'югованого білірубину значно повільніша. Додаванням акселераторів (кофеїн та ін.) вільний білірубін можна перевести в розчинний стан і визначити кількість загального білірубину. При використанні буферного розчину без акселераторів визначається кон'югований білірубін, а при використанні буферного розчину з акселераторами – загальний білірубін. Кількість некон'югованого білірубину дорівнює різниці між кількістю загального і прямого білірубину.

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

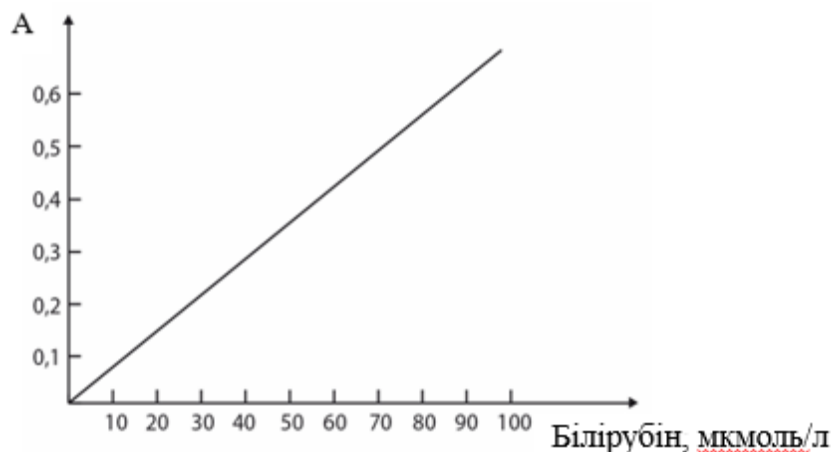
Матеріальне забезпечення: сироватка крові; реагент 1 без акселератора; реагент 1 з акселератором; реагент 2; пробірки; дистильована вода; піпетки; ФЕК.

Хід роботи:

Визначення проводять за схемою:

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

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



Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Значення для фармації і клініки. У нормі вміст загального білірубину становить 1,7-20,5 мкмоль/л (0,1-1,2 мг/100 мл), некон'югованого – 1,7-17,1 мкмоль/л (0,1-1,0 мг/100 мл), кон'югованого 0,86-4,30 мкмоль/л (0,05-0,25 мг/100 мл). Токсична дія високих концентрацій білірубину крові проявляється ураженням центральної нервової системи, виникненням некротичних ділянок в паренхіматозних органах, пригніченням клітинного імунітету, розвитком анемії внаслідок гемолізу еритроцитів. Важливу роль в токсичній дії білірубину

відіграє його фотосенсибілізуєча дія. Білірубін, як метаболіт протопорфірину, одного з найбільш активних фотосенсибілізаторів, здатний, використовуючи квантову енергію світла, переводити хімічно інертний молекулярний кисень у надзвичайно активну, синглетну форму. Синглетний кисень руйнує будь-які біологічні структури, окиснює ліпіди мембран, нуклеїнові кислоти, амінокислоти білків. У наслідок активації ним перекисного окиснення ліпідів і відщеплення глікопротеїнів, а також високомолекулярних пептидів мембран виникає гемоліз еритроцитів. Нагромадження в крові білірубину вище 27,4-34,2 мкмоль/л призводить до відкладання його в тканинах і появи жовтяниці. В залежності від причини жовтяниця може бути надпечінкова (гемолітична), печінкова (паренхіматозна), підпечінкова (обтураційна).

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

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

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

У новонароджених внаслідок стерильності кишки білірубін не перетворюється у похідні (метаболіти), але активно всмоктується у кров, зумовлюючи гіпербілірубінемію. Крім того, у новонароджених часто спостерігається тимчасова понижена активність білірубінглюкуронілтрансферази, що є причиною жовтяниці новонароджених, яка характеризується високим вмістом у крові некон'югованого білірубину.

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

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Яка в норма загального білірубину в крові?
2. Назвіть діагностичні критерії жовтяниці?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Спадкові порушення обміну гемоглобіну.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для фармацевтичних спеціальностей. / [А.Загайко, К. Александрова, О. Склярів, Л. Вороніна, Б. Борзенко, О.Макоїд, Т. Бондарчук, З. Скоробогатова]. – Х.: Вид-во “Форт”, 2014. – 728 с.
2. Біологічна хімія / [Л.В. Вороніна, В.Ф. Десенко, Н.Н. Мадієвська та ін.]. – Харків: Вид – во НФАУ „Основа”, 2000. – 607 с.
3. Склярів О. Я. Біологічна хімія. / Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмендкнига, 2015. – 706 с.
4. Біологічна хімія: підручник. (ВНЗ IV р.а.)/ Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін. – Київ: Нова книга, 2021. – 648 с.
5. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. – 3-тє вид., випр. і допов. -Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 736 с.
6. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі / [Т. Бондарчук, Н. Гринчишин, Д. Климишин, Л. Кобилінська, Т. Макаренко, О. Мазур, О. Склярів, Ю. Федевич, І. Фоменко, О. Хаврона] – Л. Вид-во ЛНМУ, 2015. –454 с.
7. Посібник з біологічної хімії „Крок-1. Фармація”: навч.посіб./ Склярів О.Я., Макаренко Т.М., Хаврона О.П., Федевич Ю.М., Фоменко І.С. – Л.: Вид-во ЛНМУ, 2022. – 199 с.

Додаткова:

1. Скоробогатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія. Короткий курс. Частина 1. Навчальний посібник. – К.: Біокомполіт, 2019. – 148 с.
2. Скоробогатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. - 76 с.
3. Функціональна біохімія: підручник / Н.О.Сибірня, Г.Я.Гачкова, І.В.Бродяк та ін.; за ред Н.О.Сибірної –Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. – 644 с.
4. Biological and Bioorganic Chemistry: in 2 books: Textbook/ Yu.I. Gubsky, I.V.Nizhenkovska, M.M.Korda. – Kyiv:AUS “ Medicine”, 2021. -544 p.
5. Harper`s Illustrated Biochemistry / Rodwell V.W., Bender D.A., Botham K.M., Kenelly P.J., Weil P.A. – 31st ed. –USA: The Mc-Graw-Hill Companies Inc.- 2018/ - 800 p.
6. Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry. 7th edition. D.R.Ferrier; Wolters Kluwer, 2017. 565 p.
7. McKee T., McKee J.R.. Biochemistry. The molecular basis of life. Seventh edition. Oxford University Press, 2019. 448 p.
8. MCQs in biochemistry 2nd edition / A. Ya. Sklyarov et al.: Lviv: Danylo Halytsky Lviv National Medical University Press, 2020. 319 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. 8-th edition. W.H. Freeman and Company, New York, 2021. 1328 p.
10. Satyanarayana U., Chakrapani U. Biochemistry. Fifth edition, N.Delhy: Elsevier, co-published with Book and Allied, 2017. 788 p.

Наукова фахова:

1. Загородня Я. М. До питання пролонгованої жовтяниці у новонароджених / Я. М. Загородня // Педіатрія – 2014. – № 2. – С. 20 – 22.
2. Жовтяниці неонатального періоду (огляд літератури) глава I: визначення поняття, епідеміологія, етіопатогенез та патоморфологія, класифікація. / Годованец Ю., Волосівська Ю., Агафонова Л. // Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина – 2018. - № 4 (30). – С.71 – 78.

Тема № 14. Дослідження детоксикаційної функція печінки. Процеси біотрансформації ксенобіотиків та ендogenous токсинів. Мікросомальне окиснення, цитохром P-450. Основи фармацевтичної біохімії.

Мета заняття: Знати основні біохімічні функції печінки у знешкодженні токсичних речовин. Вміти трактувати біохімічні механізми функціонування детоксикаційної системи печінки: реакції мікросомального окиснення та кон'югації в біотрансформації ксенобіотиків та ендogenous токсинів.

Вивчити біохімічну трансформацію у печінці лікарських засобів. Засвоїти методи визначення деяких лікарських препаратів та їх метаболітів і використовувати отримані знання в фармації.

Мотивація теми: Печінка займає центральне місце у підтриманні гомеостазу внутрішнього середовища організму. З цим органом пов'язані найголовніші детоксикаційні реакції речовин ендogenous та екзogenous походження. Ці процеси умовно поділені на дві фази – модифікації (I) та кон'югації (II). У печінці інтенсивно знешкоджуються ксенобіотики, речовини, які не виконують пластичної та енергетичної функції, є чужорідними для нормальних метаболічних шляхів, але можуть змінювати і порушувати перебіг обмінних процесів. Деякі з ендogenous метаболітів, екзogenous речовин, лікарських засобів є індукторами або інгібіторами реакцій детоксикації. Печінка бере значну участь у метаболізмі лікарських речовин. Лікарські засоби, які є ксенобіотиками, можуть змінювати перебіг обмінних процесів, а в умовах патології - нормалізувати метаболізм. Знання кінетики всмоктування, транспорту, розподілу та метаболізму в організмі лікарських засобів є основою для науково обґрунтованого використання їх в медичній практиці.

Конкретні завдання:

- *Трактувати роль процесів метаболізму та біотрансформації ксенобіотиків.*
- *Знати механізм дії цитохрому P₄₅₀, та роль монооксигеназних систем у біотрансформації ендogenous та екзogenous субстратів.*
- *Трактувати фази метаболізму ксенобіотиків.*
- *Аналізувати типи реакцій кон'югації ксенобіотиків та ендogenous метаболітів у гепатоцитах.*
- *Пояснювати шляхи біотрансформації лікарських засобів та їх наслідки.*

Теоретичні питання

1. Детоксикаційна функція печінки. Механізми біотрансформації та ендogenous метаболітів та ксенобіотиків. Поняття та класифікація ксенобіотиків.
2. Фази метаболізму ендogenous метаболітів та ксенобіотиків (I – модифікації, II – кон'югації), їх локалізація в органах та клітинах. Типи реакцій біотрансформації у печінці.
3. Біологічна роль цитохрому P-450, його ізоформи, механізм дії. Індуктори та інгібітори цитохрому P-450. Лікарські засоби – індуктори та інгібітори цитохрому P-450.
4. Послідовність реакцій мікросомального окиснення; електронно-транспортні ланцюги в мембранах ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів. Роль монооксигеназних систем у біотрансформації ендogenous та екзогенних субстратів.
5. Реакції кон'югації в гепатоцитах: біохімічні механізми реакцій з глюкуроною кислотою, сульфатною кислотою, гліцином, метилювання, ацетилювання; їх функціональне значення.
6. Зміна активності лікарських засобів в процесі біотрансформації.
7. Виникнення і природа розвитку толерантності до лікарських засобів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Детоксикаційна функція печінки. Механізми біотрансформації та ендogenous метаболітів та ксенобіотиків. Поняття та класифікація ксенобіотиків.

1.1. Пояснити, в чому полягає детоксикаційна функція печінки.

1.2. Дати визначення:

Ксенобіотики – це...

Ксенобіохімія – це...

P-глікопротеїн – це...

1.3. Представити сучасні класифікації ксенобіотиків.

2. Фази метаболізму ендogenous метаболітів та ксенобіотиків (I – модифікації, II – кон'югації), їх локалізація в органах та клітинах. Типи реакцій біотрансформації у печінці.

2.1. Представити загальну схему процесів біотрансформації ендogenous метаболітів та ксенобіотиків.

2.2. Дати визначення двом фазам біотрансформації у печінці. Навести приклади реакцій.

3. Біологічна роль цитохрому P-450, його ізоформи, механізм дії. Індуктори та інгібітори цитохрому P-450. Лікарські засоби – індуктори та інгібітори цитохрому P-450.

3.1. Дати визначення:

Цитохром P-450 – це...

3.2. Пояснити біологічну роль цитохрому P-450.

3.3. Пояснити, що означає генетичний поліморфізм цитохрому P-450.

- 3.4. Описати особливості конститутивних та індукцибельних цитохромів Р-450.
- 3.5. Пояснити фізіологічне значення індукції цитохрома Р-450.
- 3.6. Назвати основні індуктори та інгібітори мікросомальних монооксигеназ.
- 3.7. Навести приклади лікарських засобів – індукторів і інгібіторів.

4. Послідовність реакцій мікросомального окиснення. Електронно-транспортні ланцюги в мембранах ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів. Роль монооксигеназних систем у біотрансформації ендогенних та екзогенних субстратів.

5. Дати визначення
Монооксигенази – це...
Диоксигенази – це...

5. Заповнити таблицю

Типи реакцій мікросомального окиснення	Схема реакцій
<i>Гідроксилування</i>	
<i>Окиснення за атомом сульфуру (сульфоокиснення)</i>	
<i>Окисне дезамінування</i>	
<i>Деалкілування за нітрогеном</i>	
<i>Дезалкілування за киснем</i>	
<i>Дезалкілування за сульфуром</i>	
<i>Епоксидування</i>	

6. Представити види електронно-транспортних ланцюгів ендоплазматичного ретикулуму.

7. Представити і пояснити схему Естабрука (каталітичного циклу функціонування цитохрому Р-450).

8. Навести приклади реакцій мікросомального окислення.

→

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

10. Заповнити таблицю

Тип кон'югаційної реакції	Назва ензиму	Характер реакції	Донор (активна форма) для реакції кон'югації	Приклад
Глюкуронування	УДФ-глюкуроніл-трансфераза		УДФГК – уридил-дифосфат-глюкуронова кислота	Білірубін + 2 УДФГК → Білірубін-диглюкуронід
Сульфування				

Метилування				
Ацетилування				
Пептидна - з гліцином				
Пептидна - з цистеїном				
Пептидна - глутатіоном				

11. Написати приклади реакцій кон'югації в гепатоцитах.
12. Пояснити принцип проведення та діагностичне значення проби Квіка.

13. Зміна активності лікарських засобів в процесі біотрансформації.

14. Заповнити таблицю

Зміна активності лікарського засобу	Приклад лікарського засобу	Хімічна реакція біотрансформації
Інактивація (деактивація)		
Посилення токсичності (токсифікація)		
Активація (неактивний лікарський засіб набуває активності)		
Посилення активності лікарського засобу		
Зміна спрямованості фармакологічної дії		

15. Пояснити вплив різних факторів на метаболізм лікарських засобів.

16. Виникнення і природа розвитку толерантності до лікарських засобів.

17. Пояснити механізми розвитку толерантності до лікарських засобів. Навести приклади.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Монооксигеназна система мембран ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів включає флавопротеїн НАДФН-цитохром, Р-450-редуктазу і цитохром Р-450. Вона сприяє інактивації біологічно-активних речовин або знешкодженню токсичних сполук, каталізуючи реакції

- A. Гідроксилування
- B. Окиснення
- C. Метилування
- D. Ацетилування
- E. Відновлення

2. Активність знешкодження токсичних речовин у дітей нижча у 4 рази, ніж у дорослих. Який фермент, необхідний для кон'югації токсичних сполук, має низьку активність у дітей?

- A. Глюкуронілтрансфераза
- B. АЛАТ
- C. АсАТ
- D. Креатинфосфокіназа
- E. ЛДГ1

3. У пацієнта в сечі підвищений вміст гіпурової кислоти, яка є продуктом знешкодження в печінці бензойної кислоти. З якої амінокислоти в організмі людини утворюється бензойна кислота?

- A. Фенілаланін
- B. Сукцинат
- C. Лактат
- D. Аспартат
- E. Глутамат

4. Визначення інтенсивності реакції (кількості екскретованої з сечею гіпурової кислоти після введення per os стандартної дози бензоату), яка лежить в основі дослідження антитоксичної функції печінки, є так звана

- A. Проба Квіка
- B. Реакція Фоля
- C. Реакція Мілона
- D. Реакція Тромера
- E. Нінгідрінова реакція

5. У клінічній практиці як індикатор активності гниття білків у кишках та функціонального стану печінки розглядається величина екскреції тваринного індикану, який утворюється в печінці в результаті реакції кон'югації:

- A. Сульфування
- B. Глюкурування
- C. Метилування
- D. Ацетилювання
- E. З гліцином

Ситуаційні задачі

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

2. При проведенні проби Квіка, у сечі хворого виявили гіпурової кислоти менше норми. Як пояснити результат обстеження?

3. 20-річна студентка була госпіталізована до лікарні після того, як її було знайдено в гуртожитку під час блювання та з гострим болем в животі. В кімнаті гуртожитку було знайдено упаковку Панадолу (діюча речовина – ацетамінофен (парацетамол)). При лабораторному дослідженні встановлено гіпокаїємію, підвищення активності трансаміназ, рівень лейкоцитів в нормі, концентрація ацетамінофену в сироватці крові – 200 мкг/мл. Лікар призначив N-ацетилцистеїн. Поясніть патобіохімічний механізм гепатотоксичності ацетамінофену та механізм дії N-ацетилцистеїну в даному випадку.

Практична робота

Методи якісного визначення фенацетину та його метаболітів

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

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

Виявлення фенацетину за продуктами його гідролізу. Більшість реакцій виявлення фенацетину, виділеного з біологічного матеріалу, зводиться до виявлення п-амінофенолу. Для виконання реакцій на п-амінофенол використовується хлороформна витяжка, отримана при збовтуванні кислій водяної витяжки з біологічного матеріалу з хлороформом. З цією метою 0,5 мл хлороформної витяжки вносять у маленьку пробірку, яку нагрівають на водяній бані (50-55°C) до повного випаровування хлороформу. Сухий залишок розчиняють в 1-2 мл концентрованої хлоридної кислоти і нагрівають пробірку на полум'ї пальника доти, поки об'єм рідин зменшиться приблизно наполовину. Вміст пробірки охолоджують і додають рівний об'єм води. Отриманий гідролізат розливають в декілька пробірок, в яких визначають наявність п-амінофенолу за допомогою реакцій утворення індофенолового барвника, амонійної солі індофенольного барвника і реакції утворення азобарвника.

Дослід 1. Утворення індофенолового барвника.

Принцип методу. Від додавання ангідриду хромової кислоти до отриманого гідролізату з'являється вишнево-червоне забарвлення (індофенол).

Матеріальне забезпечення: 2 % розчин ангідриду хромової кислоти, 5 % розчин пірохромату калію.

Хід роботи: До гідролізату додають краплю 2 % розчину ангідриду хромової кислоти або краплю 5 % розчину пірохромату калію – з'являється фіолетове забарвлення, яке переходить у вишнево-червоне (індофеноловий барвник).

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Дослід 2. Реакція утворення азобарвника.

Принцип методу: При додаванні до гідролізату нітриту натрію, хлоридної кислоти, а згодом β-нафтолу утворюється червоне забарвлення (азобарвник).

Матеріальне забезпечення: 1 % розчин нітриту натрію, йодкрохмальний папірець, лужний розчин β-нафтолу, розведена хлоридна кислота.

Хід роботи: До гідролізату по краплях додають 1%-ний розчин нітриту натрію доти, поки не почне синіти йодкрохмальний папірець. Потім в пробірку вносять декілька крапель лужного розчину β-нафтолу. При наявності в розчині п-амінофенолу (продукту гідролізу фенацетину) з'являється червоне забарвлення або випадає осад такого ж кольору.

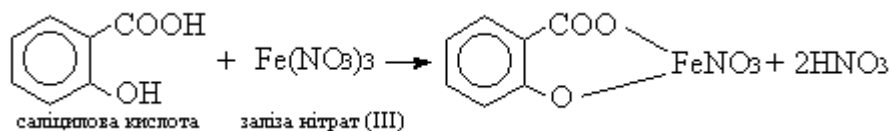
Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Значення для фармації і клініки. Причиною ускладнення фармакотерапії є досить часто неврахована взаємодія ліків у фармакокінетичній фазі, а саме під час їх метаболізму. Серед лікарських препаратів потрібно виділити речовини, які підвищують або пригнічують активність ферментів, які метаболізують ліки в печінці. Це необхідно враховувати при проведенні комплексної терапії в ході якої застосовується два-три і більше медикаментів.

З лікарських речовин інгібуючу дію мають аміназин, дисульфірам, ізоніазид, стероїдні контрацептиви, 5-фторурацил та ін. Поєднане застосування інгібіторів з іншими лікарськими засобами веде до зміни фармакокінетики і фармакодинаміки останніх. Інгібітори найчастіше впливають на цитохром P-450: пригнічення метаболізму одних ксенобіотиків-субстратів проходить за рахунок їх конкуренції за місця зв'язування з цитохромом P-450 (дифенілгдантоїн, наприклад, конкурує з гексобарбіталом), інші – при утворенні міцного зв'язку інгібітора з цитохромом P-450 (наприклад, метапірон).

Дослід 3. Виявлення саліцилової кислоти в крові та сечі за реакцією із феруму нітратом (III)

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



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

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

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

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

У дихальній системі інгібітори найчастіше впливають на цитохром P₄₅₀: пригнічення метаболізму одних ксенобіотиків настає за рахунок їх конкуренції за місця зв'язування з цитохромом P₄₅₀ (дифенілгидантон, наприклад, конкурує з гексобарбіталом), інших – при утворенні міцного зв'язку інгібітора з цитохромом P₄₅₀ (наприклад, метапірон).

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Фенацетин метаболізується в організмі людини шляхом:
 - A. Дезалкілювання і гідроксилування
 - B. Дезалкілювання
 - C. Гідроксилування
 - D. Метилування
 - E. Декарбоксилування
2. Принцип методу визначення саліцилової кислоти у крові та сечі.

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Толерантність до лікарських засобів.

Література

Основна:

1. Біохімія. Підручник для фармацевтичних спеціальностей. / [А.Загайко, К. Александрова, О. Склярів, Л. Вороніна, Б. Борзенко, О.Макоїд, Т. Бондарчук, З. Скоробогатова]. – Х.: Вид-во “Форт”, 2014. – 728 с.

2. Вороніна Л.М., Денисенко В.Ф. Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. Харків: Основа. Видавництво НФАУ, 2000. – 607 с.
3. Біологічна хімія: підручник. (ВНЗ ІV р.а.)/ Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін. – Київ: Нова книга, 2021. – 648 с.
4. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. – 3-тє вид., випр. і допов. -Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.-736 с.
5. Склярів О. Я. Біологічна хімія. / Склярів О.Я., Бондарчук Т.І., Фартушок Н.В. – Тернопіль.: ТДМУ Укрмедкнига, 2015. – 706 с.
6. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі / [Т. Бондарчук, Н. Гринчишин, Д. Климишин, Л. Кобилінська, Т. Макаренко, О. Мазур, О. Склярів, Ю. Федевич, І. Фоменко, О. Хаврона] – Л. Вид-во ЛНМУ, 2015. – 454 с.
7. Посібник з біологічної хімії „Крок-1. Фармація”: навч.посіб./ Склярів О.Я., Макаренко Т.М., Хаврона О.П., Федевич Ю.М., Фоменко І.С. – Л.: Вид-во ЛНМУ, 2022. – 199 с.

Додаткова:

1. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія. Короткий курс. Частина 1. Навчальний посібник. – К.: Біокомполіт, 2019. – 148 с.
2. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. - 76 с.
3. Функціональна біохімія: підручник / Н.О.Сибірня, Г.Я.Гачкова, І.В.Бродяк та ін.; за ред Н.О.Сибірної –Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. – 644 с.
4. Biological and Bioorganic Chemistry: in 2 books: Textbook/ Yu.I. Gubsky, I.V.Nizhenkovska, M.M.Korda. – Kyiv:AUS “Medicine”, 2021. -544 p.
5. Harper`s Illustrated Biochemistry / Rodwell V.W., Bender D.A., Botham K.M., Kenelly P.J., Weil P.A. – 31st ed. –USA: The Mc-Graw-Hill Companies Inc.- 2018/ - 800 p.
6. Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry. 7th edition. D.R.Ferrier; Wolters Kluwer, 2017. 565 p.
7. McKee T., McKee J.R.. Biochemistry. The molecular basis of life. Seventh edition. Oxford University Press, 2019. 448 p.
8. MCQs in biochemistry 2nd edition / A. Ya. Sklyarov et al.: Lviv: Danylo Halytsky Lviv National Medical University Press, 2020. 319 p.
9. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. 8-th edition. W.H. Freeman and Company, New York, 2021. 1328 p.
10. Satyanarayana U., Chakrapani U. Biochemistry. Fifth edition, N.Delhy: Elsevier, co-published with Book and Allied, 2017. 788 p.

Наукова фахова:

1. Кукес В.Г., Грачев С.В. и др. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей. — М.: ГЕОТАР-Медиа, 2008. 304 с.
2. Пономаренко Т. М., Сычѳв Д. А., Чикало А. О., Бердникова Н. Г., Кукес В. Г. Система цитохрома P450 в лёгких: роль в патогенезе заболеваний и фармакокинетике лекарственных средств // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2012. — № 1. — С. 25—28.

3. Fujiwara R, Yoda E, Tukey RH. Species differences in drug glucuronidation: Humanized UDP-glucuronosyltransferase 1 mice and their application for predicting drug glucuronidation and drug-induced toxicity in humans. / Drug Metab Pharmacokinet. 2017 Oct 7. pii: S.1347-4367(17)30137 - 4.
4. Fujiwara R, Yokoi T, Nakajima M. Structure and Protein-Protein Interactions of Human UDP-Glucuronosyltransferases. / Front Pharmacol. 2016 Oct 24;7:388.
5. Mazerska Z, Mróz A, Pawłowska M, Augustin E. The role of glucuronidation in drug resistance. / Pharmacol Ther. 2016 Mar;159:35 – 55.
6. Thallinger C, Joukhadar C. Cytochrom-P450 mediated drug interactions caused by antibiotics. / Wien Med Wochenschr. 2006 Sep;156(17-18):508 – 514.

Тема № 15. Дослідження обміну води і мінеральних речовин

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

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

Конкретні завдання:

- *Вміти пояснювати механізми регуляції водно-сольового обміну та його порушення.*
- *Вміти аналізувати механізм дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її функції; пояснити принцип дії активаторів та інгібіторів Na^+ , K^+ -АТФ-ази*
- *Вміти трактувати класифікацію мінеральних елементів, шляхи їх надходження в організм людини.*
- *Вміти пояснювати біологічні функції окремих макро- та мікроелементів та знати причини виникнення мікроелементозів.*

Теоретичні питання

1. Біологічна роль води та її розподілення в організмі людини. Водний баланс, його види.
2. Регуляція водно-сольового обміну, його порушення. Дегідратація і гіпергідратація, біохімічні механізми виникнення.
3. Механізм дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її регуляція.
4. Біогенні елементи, їх класифікація, шляхи надходження в організм людини.
5. Біологічна роль макро-, мікро- і ультрамікроелементів.
6. Вплив радіоактивних ізотопів, рентгенівського опромінення та інших видів опромінення на порушення мінерального балансу.
7. Методи визначення показників водно-сольового та мінерального обмінів.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Біологічна роль води та її розподілення в організмі людини. Водний баланс, його види.

- Представити схему розподілу води в організмі людини; описати біологічну роль води.
- Дати визначення поняттям:
Водний баланс – це ...
Позитивний водний баланс – це ... *Спостерігається при...*
Негативний водний баланс – це ... *Спостерігається при...*

2. Регуляція водно-сольового обміну, його порушення. Дегідратація і гіпергідратація, біохімічні механізми їх виникнення.

- Зазначити причини порушення гідратації клітин; дати визначення:
Гіпергідратація – це ...
Гіпогідратація – це ...
- Назвати гормони, які відіграють основну роль у забезпеченні балансу води, вказати механізм їх дії.

3. Механізм дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її регуляція.

- Описати процеси, які призводять до змін електролітного обміну Na^+ , K^+ ; пояснити вплив лікарських середників на йонний обмін вказаних електролітів.

4. Біогенні елементи, їх класифікація, шляхи надходження в організм людини.

- Описати біологічну роль органогенних елементів Карбону, Нітрогену, Оксигену і Гідрогену.

5. Біологічна роль макро-, мікро- і ультрамікроелементів.

- Описати біологічні функції макроелементів кальцію, фосфору, хлору, магнію; охарактеризувати причини і прояви їх порушення.
- Дати характеристику біологічних функцій мікроелементів феруму, марганцю, йоду, броду, фтору, міді, цинку, кобальту, молібдену, селену; описати прояви мікроелементної недостатності.
- Дати характеристику ультрамікроелементам.

6. Мікроелементози людини: ендогенні та екзогенні (ятрогенні, техногенні тощо). Оліготерапія.

- Дати визначення:
Мікроелементози – це...
- Назвати причини ендогенних мікроелементозів та шляхи їх корекції.
- Перерахувати хімічні та фізичні чинники, які порушують мінеральний баланс організму та вказати методи його корекції.
- Дати визначення:
Оліготерапія – це ...

7. Методи визначення показників водно-сольового та мінерального обмінів.

- Описати принцип методу та клініко-діагностичне значення визначення кальцію в крові та сечі (проба Сульковича)
- Описати клініко-діагностичне значення визначення калію в крові.
- Пояснити клініко-діагностичне значення визначення в крові вмісту кальцію, фосфору, їх відношення.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Хворий, який проживає на півночі і вживає в надлишковій кількості печінку риб (містить вітамін D), звернувся в медичний центр зі скаргою на підвищений тиск. Рентгенологічне обстеження підтвердило відкладання каменів у сечових шляхах. У хворого виявлено:

- A. Гіперкальціємію
- B. Гіпокальціємію
- C. Гіперкуприємію
- D. Гіпокуприємію
- E. Гіперкаліємію

2. Турист у спекотний день довго знаходився без питної води. Нарешті він дістався до джерела і задовільнив спрагу. Це призвело до:

- A. Підвищення осмоляльності позаклітинної рідини
- B. Зниження осмоляльності позаклітинної рідини
- C. Підвищення осмоляльності внутрішньоклітинної рідини
- D. Зниження осмоляльності внутрішньоклітинної рідини
- E. Підвищення внутрішньочерепного тиску

3. До лікаря звернувся хворий, який протягом тривалого часу приймав лікарський засіб – спіронолактон (антагоніст альдостерону) в зв'язку з тахікардією і гіпотензією. Причиною такого стану може бути:

- A. Гіпонатріємія
- B. Гіпернатріємія
- C. Гіперкальціємія
- D. Гіпокальціємія
- E. Гіперкаліємія

4. У приймальне відділення стаціонару поступив хворий у якого виявлено гіпотензію, порушення свідомості, сухість слизових оболонок. Причиною такого стану може бути:

- A. Гіпонатріємія
- B. Гіпернатріємія
- C. Гіперкуприємія
- D. Гіпокуприємія
- E. Гіперкаліємія

5. Летальність може наступити при концентрації калію вище:

- A. 10,5 ммоль/л
- B. 8,5 ммоль/л
- C. 7,5 ммоль/л
- D. 6,5 ммоль/л
- E. 15,2 ммоль/л

Ситуаційні задачі

1. До приймального відділення інфекційної лікарні доставлено хворого 30 років в тяжкому стані зі скаргами на часті водянисті випорожнення, блювання. За огляду – тургор тканин та еластичність шкіри знижена. Пульс - 120/хв, АТ – 60/30 мм.рт.ст. Діурез - 150 мл. Про який невідкладний стан свідчать дані обстеження?
2. Хворий, який проживає на півночі і вживає в надлишковій кількості печінку риби (містить вітамін D), звернувся в медичний центр зі скаргою на підвищений тиск. Рентгенологічне обстеження підтвердило відкладання каменів у сечових шляхах. З'ясуйте причину появи каменів у даного пацієнта. Яке походження мають вказані камені?

Практична робота

Дослід 1. Колориметричний мікрометод визначення калію в сироватці крові (метод Лазарева Н.)

Принцип методу. Іони калію в присутності іонів Pb^{2+} , Cu^{2+} і NO_2^- утворюють нерозчинний у воді осад $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$ – купрогексанітрит калію-свинцю, який розчиняють в суміші риванолу і льодової ацетатної кислоти. Визначають оптичну густину утвореного розчину, яка прямопропорційна кількості іонів NO_2^- . Для визначення рівня калію використовують постійний коефіцієнт, розрахований, виходячи із співвідношення NO_2^- і K^+ в сполучці, що утворилась.

Матеріальне забезпечення: 1) 5 % розчин ацетату $CH_3COONa \cdot 3 H_2O$; 2) Суміш розчину $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ і $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3 H_2O$. Зважують в колбу 7,5 г ацетату міді (кристалічного) і 2 г ацетату свинцю (кристалічного), додають 150 мл дистильованої води. Суміш нагрівають до $100^\circ C$ і після охолодження відфільтровують. 3) Нітрит натрію (кристалічний); 4) Суміш нітриту натрію і розчинів ацетату міді і ацетату свинцю: до 2 мл суміші розчинів ацетату міді і ацетату свинцю додають 0,25 мг $NaNO_2$. Готують ex tempore. 5) 0,5 % розчин риванолу; 6) Льодова оцтова кислота; 7) Фотоелектроколориметр; 8) Центрифуга.

Хід роботи. У центрифужну пробірку вносять 0,5 мл розчину ацетату натрію, 0,1 мл досліджуваної сироватки крові і 0,5 мл суміші ацетату міді, ацетату свинцю і нітриту натрію. Вміст пробірки перемішують скляною паличкою і залишають на 1 год, після чого центрифугують на протязі 10 хв при 1500 об/хв. Прозору надосадову рідину зливають. У пробірку додають 1 мл розчину ацетату натрію, перемішують скляною паличкою, центрифугують і обережно зливають надосадову рідину. Аналогічно промивання осаду розчином

ацетату натрію повторюють ще раз. Потім до осаду додають 1 мл розчину риванолу і 2 мл льодової оцтової кислоти. Добре перемішуючи паличкою, розчин за допомогою дистильованої води кількісно переносять в мірну колбу на 25 мл, доводячи до мітки дистильованою водою, перемішують і колориметрують при 540 нм (зелений світлофільтр) в кюветах з товщиною шару 10 мм проти води.

Вміст калію в сироватці крові визначають за формулою:

$$K = A \times 36 \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

A – показник екстинкції.

36 – постійний коефіцієнт, який відображає співвідношення K^+ і Na^+ .

Пояснити отриманий результат, зробити висновок.

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

Калій – катіон, основна частина якого знаходиться всередині клітини – до 98%. Незначна частина його міститься в позаклітинному просторі, не відіграє істотної ролі в підтримці осмотичного тиску. При зниженні рівня калію в крові (менше 3 ммоль/л) наступають зміни в роботі серця, порушується ритм і провідність. **Гіперкаліємія** проявляється нудотою, блювотою, брадикардією, порушенням серцевого ритму. Підвищення концентрації калію плазми вище 6,5 ммоль/л – загрозливе, вище 7,5 до 10,5 ммоль/л – токсичне, а вище 10,5 ммоль/л – смертельне. Причини гіперкаліємії: знижене виділення калію із сечею при нирковій недостатності, внутрішньовенне введення калієвмісних розчинів, некроз клітин, недостатність наднирників та ін. **Гіпокаліємія** супроводжується м'язовою гіпотонією, апатією, сухістю шкіри. Спостерігається блювота, тахікардія, зниження артеріального і ріст венозного тиску, аритмії, зниження толерантності до серцевих глікозидів. Причини гіпокаліємії: втрати калію через шлунково-кишковий тракт (блювання, пронос, прийом проносних), при прийомі лікарських засобів (діуретиків, гіпотензивних засобів), хронічні пієло- і гломерулонефрити та ін.

Дослід 2. Визначення кальцію в сечі (проба Сульковича)

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

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

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

Пояснити отриманий результат, зробити висновок.

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

Контроль виконання лабораторної роботи

1. При визначенні калію колориметричним методом за Лазаревим Н. утворюється нерозчинний у воді осад $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$ – купрогексанітрид калію-свинцю – в присутності:
 - A. Pb^{2+}
 - B. Cu^{2+}
 - C. NO_2^-
 - D. Ca^{2+}
 - E. Na^+
2. При нормальній концентрації кальцію в сечі за методом Сульковича через 30 секунд спостерігається:
 - A. Молочно-біле помутніння сечі
 - B. Синьо-фіолетове забарвлення
 - C. Жовто-оранжеве забарвлення
 - D. Випадає оранжевий осад
 - E. Сеча залишається прозорою
3. Раптова зупинка серця може наступити при концентрації загального кальцію в сироватці крові:
 - A. 3,75 ммоль/л
 - B. 3,00 ммоль/л
 - C. 2,75 ммоль/л

D. 2,55 ммоль/л

E. 2,25 ммоль/л

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Мікроелементози людини.
2. Діагностика водно-електролітного складу.

Література

Основна:

1. Біохімія : підручник для студентів фармацевтичних спеціальностей / [Загайко А.Л., Александрова К.В., Склярів О.Я. та ін.]. - Х. : Форт, 2014. – С. 660-661.
2. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.]. – К. : ВСВ «Медицина», 2016. – С. 315 - 316, 354 - 358.
3. Склярів О.Я. Біологічна хімія / Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 528 - 537.
4. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Х.: Основа: Видавництво НФАУ, 2000. – с. 499-500.
5. Гонський Я.І. Біохімія людини / Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – С. 507 - 527.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця : Нова книга, 2011. – С. 545- .
7. Біологічна хімія : тести та ситуаційні задачі: навчальний посібник [для студ. вищ. медич. навч. закл.] / за ред. О.Я. Склярів. – Львів : Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 398 - 406.
8. Склярів О.Я. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження / Н.В.Фартушок, Л.Д.Сойка, І.С.Смачило. – К. : Медицина, 2009. – С. 298 - 305.

Додаткова:

1. Біохімічні показники у нормі і при патології : навчальний довідник / за ред. Склярів О.Я. – К. : Медицина, 2007. – 320 с.
2. Бойків Д.П. Клінічна біохімія : підручник / [Д.П.Бойків, Т.І.Бондарчук, О.Л.Іванків та ін.] - К. : Медицина, 2006. – С.143 – 160, 303 – 317.
3. Практикум з біологічної хімії / за ред. О.Я. Склярів. – К. : Здоров'я, 2002. – С. 263 – 274.
4. Клінічна біохімія. Курс лекцій для студентів вищих навчальних медичних закладів / За ред. Склярів О.Я. – Львів, 2004. – 295 с.

Наукова фахова:

1. Швець В.І. Патолофізіологія взаємодії систем регуляції агрегатного стану крові та водно-сольового обміну : Монографія / В.І. Швець, Ю.Є. Роговий, І.Д.Шкробінець. – Чернівці, 2009. - 372 с.
2. Lingam R.K. CT of primary hyperaldosteronism (Conn's syndrome): the value of measuring the adrenal gland / R.K. Lingam, S.A.Sohaib., I. Vlahos // AJR Am. J. Roentgenol. - 2003 . – Vol. 181, № 3. – P. 843 – 849.

3. Fyhrquist F., Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited/ J. Intern. Med. - 2008. - Vol. 264, № 3. – P. 224 – 236.
4. Palmer B.F. Approach to fluid and electrolyte disorders and acid-base problems // Prim Care. – 2008. - Vol. 35, № 2. – P. 195 – 213.
5. Viera A.J. Wouk Potassium Disorders: Hypokalemia and Hyperkalemia // Am. Fam. Physician. - 2015. - Vol. 92, № 6. – P. 487 – 495.
6. Weisberg L.S Management of severe hyperkalemia // Crit. Car. Med. – 2008. - Vol. 36, № 12. – P. 3246 – 3251.

Тема № 16. Сечоутворювальна функція нирок. Біохімічний склад сечі людини в нормі і при патології

Мета заняття: Знати фізико-хімічні властивості сечі; основні біохімічні показники нормальних і патологічних компонентів і шляхи їх проникнення в сечу. Вміти провести біохімічний аналіз сечі та інтерпретувати отримані результати.

Мотивація теми: Біохімічний аналіз сечі є обов'язковим в амбулаторних і клінічних умовах у діагностуванні низки захворювань і дає можливість судити про функціональний стан нирок, обмін речовин у різних органах і організмі в цілому, допомагає виявити причини, характер і прогноз патологічного процесу, дозволяє оцінити ефективність лікування. Крім того, дослідження сечі на вміст лікарських речовин або їх метаболітів дозволяє також оцінити фармакологічну дію ліків і прогнозувати терапевтичний ефект.

Конкретні завдання:

- Трактувати біохімічні функції нирок та їх роль в утворенні сечі.
- Аналізувати біохімічний склад сечі в нормі та за умов розвитку патологічних процесів; оцінювати функціональне значення кінцевих продуктів азотистого обміну (сечовина, сечова кислота, креатинін) та продуктів детоксикації (тваринний індикан, гіпурова кислота), зміни їх добового виділення.
- Аналізувати вплив фармацевтичних засобів на функції нирок та фізико-хімічні властивості сечі.

Теоретичні питання

1. Роль нирок у регуляції об'єму, електролітного складу та рН рідин організму, виведенні продуктів біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів.
2. Біохімічні механізми сечоутворювальної функції нирок (фільтрація, реабсорбція, секреція й екскреція). Біохімічна характеристика ниркового кліренсу та ниркового порогу, їх діагностичне значення.
3. Ренін-ангіотензинова система нирок. Біохімічні механізми виникнення ниркової гіпертензії. Гіпотензивні лікарські засоби – інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту.

4. Фізико-хімічні властивості сечі: кількість, колір, запах, прозорість, реакція (рН), залежність її від складу їжі. Роль нирок і легенів у підтриманні кислотно-основного стану організму. Амонійогенез.
5. Біохімічний склад сечі людини в нормі.
6. Біохімічний склад сечі людини за умов розвитку патологічних процесів. Клініко-діагностичне значення аналізу складу сечі.
7. Вплив фармацевтичних засобів на функції нирок та фізико-хімічні властивості сечі.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Роль нирок у регуляції об'єму, електролітного складу та рН рідин організму, виведенні продуктів біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів.

- Представити схему обміну гідрокарбонатів у нирках
- Дати визначення ксенобіотиків та описати два механізми активного транспорту ксенобіотиків та ендогенних токсинів, які залежать від рН цих речовин
- Вказати порогові речовини (сечовина, сечова кислота, креатинін) та діагностичне значення їх визначення.

2. Біохімічні механізми сечоутворювальної функції нирок (фільтрація, реабсорбція, секреція й екскреція). Біохімічна характеристика ниркового кліренсу та ниркового порогу, їх діагностичне значення.

- Дати визначення поняттям:
Фільтрація – це ...
Реабсорбція – це ...
Секреція - це ...
Екскреція – це ...
Нирковий кліренс – це ...
Нирковий поріг – це ...

3. Ренін-ангіотензинова система нирок. Біохімічні механізми виникнення ниркової гіпертензії. Гіпотензивні лікарські засоби – інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту.

- Представити схему ренін-ангіотензинової системи нирок; описати біохімічні механізми виникнення вазоренальної та паренхіматозної артеріальної гіпертензії
- Описати основні групи інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту(АПФ) та пояснити механізм їх дії.

4. Фізико-хімічні властивості сечі: кількість, колір, запах, прозорість, реакція (рН), залежність її від складу їжі. Роль нирок та легень у підтриманні кислотно-основного стану організму. Амонійогенез.

- Дати характеристику фізико-хімічних властивостей сечі та вказати причини їх порушень.

- Пояснити роль нирок та легень у підтриманні кислотно-основного стану організму.
- Дати визначення поняттю амонійогенез.

5. Біохімічний склад сечі людини в нормі.

- Вказати найважливіші органічні та неорганічні речовини, що присутні в сечі в нормі (сечовина, сечова кислота, креатин, креатинін, гіпурова кислота, індикан, органічні кислоти, вітаміни, гормони, натрію хлорид, калій, кальцій, магній, фосфор)
- Привести значення вказаних біохімічних показників в сечі в нормі.

6. Біохімічний склад сечі людини за умов розвитку патологічних процесів.

Клініко-діагностичне значення аналізу складу сечі

- Вказати причини появи патологічних компонентів сечі (білка, глюкози, галактози, фруктози, пентоз, кетонових тіл, жовчних кислот та жовчних пігментів, крові) та значення їх для діагностики патологічних станів.

7. Вплив фармацевтичних засобів на функції нирок та фізико-хімічні властивості сечі

- Охарактеризувати основні групи діуретиків; пояснити механізм їх дії (представити у вигляді схеми)

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. У пацієнта 18 років при лабораторному обстеженні виявлена глюкоза в сечі при нормальній концентрації її в плазмі крові. Найвірогіднішою причиною цього є порушення:

- Секреції інсуліну
- Клубочкової фільтрації
- Секреції глюкокортикоїдів
- Канальцевої секреції
- Канальцевої реабсорбції

2. Чоловік 65 років, який хворіє на подагру, скаржиться на болі в області нирок. При УЗД обстеженні встановлена наявність ниркових каменів. Підвищення концентрації в сечі якої речовини є найбільш ймовірною причиною утворення каменів у даному випадку?

- Білірубін
- Сечової кислоти
- Сечовини
- Цистину
- Холестерину

3. Хворий скаржиться на поліурію (5 л сечі на добу) і спрагу. Біохімічні показники: вміст глюкози в крові 5,1 ммоль/л, питома густина сечі 1,01. Глюкоза та кетонів тіла відсутні. Яка можлива причина такого стану?

- Мікседема

- В. Стероїдний діабет
- С. Цукровий діабет
- Д. Тиреотоксикоз
- Е. Нецукровий діабет

4. У сечі новонародженої дитини виявлено цитрулін та підвищення концентрації аміаку. Утворення якої речовини найімовірніше порушене при цьому?
- А. Аміаку
 - В. Сечової кислоти
 - С. Сечовини
 - Д. Цитрату
 - Е. Креатину
5. Для діагностики захворювання мутну сечу, що має лужну реакцію, підкислили і підігріли. При цьому осад зник. Чим зумовлена каламуть сечі?
- А. Слизом із сечовидільних шляхів
 - В. Мікрофлорою, що розкладає сечовину з утворенням NH_3
 - С. Гноєм з уретри
 - Д. Білком ниркового походження
 - Е. Кальцій та магній фосфатами та уратами

Ситуаційні задачі

1. За хронічної ниркової недостатності у пацієнта спостерігали порушення метаболізму у тканинах органів ротової порожнини. Які з компонентів, що становлять фракцію залишкового азоту крові, зумовлюють появу патологічних змін у порожнині рота за вказаного захворювання ?
2. Хворого 25 років доставлено до приймального відділення інфекційної лікарні з підозрою на жовтяницю. Після проведення біохімічних досліджень встановлено: вміст загального білірубіну в крові - 50 мкмоль/л, прямого – 25 мкмоль/л , непрямого – 20 мкмоль/л. Кал ахолічний. У сечі – позитивна реакція на білірубін. Під час ультразвукового обстеження виявлені камені у жовчній протоці. Проаналізуйте одержані показники. Яка можлива причина такого стану ? Які біохімічні зміни, окрім білірубінемії, будуть спостерігатися у сечі?

Практична робота

Дослід 1. Фізико-хімічні властивості сечі.

Матеріальне забезпечення: сеча, мірний циліндр, колбочки, набір урометрів, індикаторний папір „Ріфан”, піпетки, пробірки.

Визначення кількості сечі. Виділення сечі за певний проміжок часу (за день, ніч або за добу) називається діурезом. Об'єм сечі вимірюють мірним циліндром по нижньому меніску.

Значення для фармації і клініки: У нормі доросла людина за добу виділяє в середньому 1100 – 1800 мл сечі. Поліурія – збільшення виділення сечі (понад 2000 мл) – може бути фізіологічною (за рахунок вживання великої кількості рідини або при нервовому збудженні) і патологічною (при цукровому та нецукровому діабетах, захворюваннях нирок, при вживанні сечогінних і серцевих лікарських засобів). Олігурія – зменшення виділення сечі (600 мл і менше) – може бути фізіологічною (при обмеженому вживанні рідини, втраті рідини з потом) і патологічною (при запаленні нирок, частих проносах, гарячкових станах, блюванні, вадах серця). Анурія – повне припинення виділення сечі – часто спостерігається при закупорці сечоводів (нирковий камінь, пухлина). Така анурія називається неістинною. Істинна анурія виникає при порушенні сечовидільної функції нирок (гостра ниркова недостатність, тяжкі форми гострого гломерулонефриту, отруєння ртуттю, свинцем).

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

Значення для фармації і клініки: У нормі колір сечі дорослої людини солом'яно-жовтий завдяки таким пігментам, як урохром, уробілін, уроеритрин тощо. У новонароджених сеча майже безбарвна.

При патологічних станах можуть відбуватися як якісні, так і кількісні зміни у забарвленні сечі.

Якісні зміни кольору сечі залежать від наявності в ній білірубину та гемоглобіну. При гематурії ниркового походження сеча набуває кольору “м'ясних помиїв”, при жовтяниці – кольору “пива”, при вживанні деяких ліків (амідопірин, ацетилсаліцилова кислота) і при отруєнні карболовою кислотою колір сечі стає рожево-червоним. Червоний колір сечі спостерігається при порфіринурії (первинна порфіринурія виникає внаслідок ензимопатії, наприклад, спадкова хвороба Гюнтера, при якій з сечею виділяється багато уропорфіринів і копропорфіринів типу I; вторинна – при інтоксикаціях із подальшим ураженням печінки).

При збільшенні діурезу змінюється інтенсивність кольору сечі. Інтенсивне забарвлення спостерігається при олігурії або при посиленому виділенні пігментів, зокрема білірубину (гемолітична жовтяниця). Слабке забарвлення сечі буває при поліурії (нефросклероз, нецукровий і цукровий діабети, швидке розсмоктування набряків тощо).

При вживанні буряків, моркви, суниць сеча забарвлюється різними пігментами, що містяться в цих продуктах.

Молочно-білий колір сечі спостерігають при хілурії внаслідок розриву лімфатичних капілярів нирки, великому вмісту ліпідів, фосфатів і домішок гною.

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

Прозорість сечі. Прозорість сечі визначають у склянці з безбарвного скла після збовтування.

У нормі свіжа сеча завжди прозора. З часом у ній починається лужне бродіння, тому сеча стає каламутною. Розрізняють сечу прозору, слабо каламутну, каламутнувату і різко каламутну.

Причиною каламутності різної інтенсивності може бути наявність у сечі солей (у лужному середовищі фосфатів, а в кислій сечі – уратів), слизу, кліткових елементів і бактеріальної флори (цистопієліти). Дуже рідко каламутність спричинюють жири (при переломах великих кісток). Щоб відрізнити патологічне походження каламутності (осаду) сечі від звичайної сольової каламуті, треба провести відповідні хімічні і мікроскопічні дослідження.

Хімічне дослідження на розрізнення організованих осадів від неорганізованих. Всі елементи сечових осадів поділяють на дві великі групи: організовані і неорганізовані. Неорганізований осад складається з солей і кристалічних утворів, що наявні як у нормальній, так і в патологічній сечі. Солі осаду різні в залежності від реакції сечі. До неорганізованих елементів осаду у кислій сечі належать аморфні урати, сечова кислота, оксалати, у лужній – аморфні фосфати, трипельфосфати, амонію урат. До організованих елементів осаду сечі належать всі клітинні елементи: еритроцити, лейкоцити, епітеліальні клітини (плоскі, циліндричні і круглі).

Матеріальне забезпечення: сеча, 10 % розчин ацетатної кислоти, 5 % розчин гідроксиду натрію, пробірки.

Хід роботи. У 2 пробірки наливають по 5 мл сечі і додають у першу пробірку 1 мл 10 % ацетатної кислоти, а у другу – 1 мл 5 % гідроксиду натрію і нагрівають.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Неорганізовані осадки (фосфати, карбонати, оксалати) розчиняються у кислотах, а урати – в лузі. Якщо в лужному середовищі каламуть не зникає навіть після додавання 3 – 5 крапель концентрованого розчину NaOH, тоді ця каламуть зумовлена наявністю клітинних елементів (епітелій, лейкоцити, еритроцити, слизь).

Організовані елементи відрізняються від неорганізованих тим, що вони дуже повільно зсідаються і не розчиняються при нагріванні і додаванні кислот.

Реакція сечі. Визначення рН сечі за допомогою індикаторного паперу. На середину індикаторного папірця “Ріфан” наносять 1 – 2 краплі свіжої сечі і за зміною забарвлення однієї із забарвлених смужок, яка співпадає з кольором контрольної смуги, визначають рН сечі.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки. Точніше визначають рН сечі потенціометричним методом.

Значення для фармації і клініки. Реакція сечі (рН) у здорової людини коливається в нормі від 4,5 до 8,0. На неї може впливати склад їжі і патологічні стани. Наприклад, лужну реакцію сечі спостерігають при блюванні, фосфатурії, запаленні сечового міхура (цистит) і ниркових мисок (в останніх двох випадках бактеріальна флора розкладає сечовину на аміак), вагітності, вживанні лужних мінеральних вод. Більш кисла реакція сечі буває при цукровому діабеті та голодуванні (внаслідок нагромадження у сечі кетонів тіл), тяжкій нирковій

недостатності внаслідок порушення функції нирок і зменшення вмісту аміаку, що нейтралізує сечу. Дуже кисла реакція спостерігається при подагрі і гарячковому стані.

Великий вплив на реакцію сечі має характер харчування. При посиленому білковому харчуванні (м'ясо) сеча стає більш кислотою, якщо переважає рослинна їжа – більш лужною.

Густина сечі. Сечу наливають у вузький циліндр на 100 мл і стежать, щоб не утворилась піна. Якщо ж піна утворилася, то її знімають фільтрувальним папером. Утворенню піни можна запобігти, якщо наливати сечу у циліндр по його стінці. У циліндр обережно опускають урометр і, коли він перестане коливатися, визначають густину по нижньому меніску. Урометр при цьому повинен вільно плавати в циліндрі і не торкатися його стінок.

Якщо досліджуваної сечі мало, її треба розвести дистильованою водою, визначити питому вагу і добутий показник (дві останні цифри) помножити на розведення.

Наприклад, якщо для аналізу взяли 20 мл сечі, то її розводять в циліндрі дистильованою водою у 2 рази (до 40 мл) і вимірюють густину. Якщо вона рівна 1,006, тоді істинна густина дорівнює 1,012. Такий спосіб визначення густини сечі дуже важливий для педіатричної практики.

Кожний урометр калібрований для певної, вказаної на ньому температури. Якщо визначення роблять при іншій температурі, тоді вносять поправку: на кожні 3°C вище вказаної температури до показника урометра додають по 0,001, якщо температура нижче, тоді на кожні 3°C – віднімають по 0,001.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації і клініки. У нормі густина сечі при температурі 15°C коливається від 1,014 до 1,025. Густина сечі характеризує концентраційну здатність нирок, тому що вона дає уявлення про концентрацію речовин, розчинених у сечі (першою чергою, сечовини та солей натрію). Густина сечі впродовж доби може змінюватися (нічна сеча у нормі більшої густини, ніж денна) і залежить від кількості спожитої рідини та кількості рідини, виділеної з потом і калом.

При нецукровому діабеті густина сечі коливається від 1,001 до 1,004, а при цукровому діабеті досягає 1,030 – 1,040 і більше. На кожний 1 % цукру в сечі вноситься поправка в густину на 0,004. Протеїнурія також впливає на густину сечі – 3 г/л збільшує її на 0,001.

Підвищення густини спостерігають при гарячкових станах, блюванні, проносах, деяких хворобах нирок.

Низька густина буває при тяжких розладах функції нирок, нервових захворюваннях, нецукровому діабеті.

Виділення впродовж тривалого часу сечі зі стабільною густиною, показник якої дорівнює густині первинної сечі (1,010 – 1,011), називається ізостенурією.

Гіпостенурію – часткову втрату нирками здатності концентрувати і розбавляти сечу – спостерігають при частому виділенні сечі, густина якої 1,007 – 1,015. При цьому функціональна здатність нирок частково зберігається, але прогноз також несприятливий.

Дослід 2. Виявлення білка в сечі.

Принцип методу. Для виявлення білка в сечі найчастіше застосовують реакцію осадження за допомогою сульфосаліцилової кислоти.

Матеріальне забезпечення: сеча, що містить білок (патологічна) і нормальна сеча, 20 % розчин сульфосаліцилової кислоти, пробірки, піпетки.

Хід роботи. У першу пробірку наливають 2 мл сечі здорової людини, у другу пробірку – 2 мл патологічної. У обидві пробірки додають по 5 крапель 20 % розчину сульфосаліцилової кислоти. При наявності білка у сечі утворюється білий осад або муть.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації і клініки. Сеча здорової людини практично не містить білка (звичайними хімічними реакціями його не виявляють).

Появу білка в сечі називають протеїнурією. Розрізняють справжню альбумінурію і несправжню. При справжній або нирковій протеїнурії білки сироватки крові проникають в сечу через нирки при порушенні фільтраційної мембрани. Несправжня протеїнурія спостерігається при потрапленні в сечу слизу, крові, гною (не з нирок, а з сечовивідних шляхів).

Білок з'являється у сечі також при серцевій декомпенсації, інколи при вагітності, гіпертонії та інфекційних захворюваннях тощо.

Дослід 3. Виявлення крові в сечі (Бензидинова проба).

Принцип методу. Реакція базується на окисненні бензидину до п-хінондиіміну киснем, який утворюється внаслідок розкладу гідрогену пероксиду за присутності крові.

Матеріальне забезпечення: сеча, 10 % розчин бензидину в ацетатній кислоті, 3 % розчин гідрогену пероксиду, піпетки, пробірки, штатив.

Хід роботи. До 3 мл сечі дають 2-3 краплі 3 % гідрогену пероксиду і 2-3 краплі свіжоприготовленого розчину бензидину в ацетатній кислоті. При наявності крові в сечі з'являється синьо-зелене забарвлення.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації і клініки. Сеча при гематурії каламутна і має червоний відтінок, інтенсивність якого залежить від кількості формених елементів крові. В осаді під мікроскопом виявляють еритроцити та лейкоцити. Гемоглобінурію спостерігають при захворюваннях, пов'язаних з гемолізом (розпадом) еритроцитів. Сеча при цьому буває червоного або кавово-бурого кольору. У випадку гематурії і гемоглобінурії в сечі міститься білок.

Дослід 4. Виявлення кетонових тіл (проба Герхарда).

Принцип методу. Визначення ґрунтується на здатності ацетоацетату утворювати з феруму хлоридом (III) сполуку, забарвлену у червоний колір.

Матеріальне забезпечення: сеча, 10 % розчин феруму хлориду (III), пробірки.

Хід роботи: До 5 мл сечі додають по краплях 10% розчин феруму хлориду (III); випадає в осад фосфат заліза $FePO_4$. При наявності ацетоацетату після додавання зайвої краплі хлориду заліза (III) з'являється червоне забарвлення

(реакція на еноли), яке поступово зникає в результаті самовільного декарбоксилування ацетоацетатної кислоти.

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення для фармації і клініки. У нормі за добу з сечею виділяється 20 – 40 мг кетонів тіл. Збільшення кількості кетонів тіл в крові (кетонемія) і сечі (кетонурія) спостерігають при цукровому діабеті, дефіциті вуглеводів у харчуванні (вуглеводне голодування), тиреотоксикозі, ураженні печінки, тяжких інтоксикаціях.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. Сеча хворого на подагру при нанесенні на індикаторний папірець „Ріфан” показує сильно кислу реакцію? Про наявність якого складника сечі це свідчить?
 - A. Гомогентизинової кислоти
 - B. Параамінобензойної кислоти
 - C. δ -Амінолевуленової кислоти
 - D. Пангамової кислоти
 - E. Сечової кислоти
2. У харчовому раціоні людини переважають білки і практично виключені вуглеводи. Як це впливатиме на фізико-хімічні властивості та хімічний склад сечі?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Патобіохімія нирок. Клініко-біохімічні зміни при гломерулонефриті, амілоїдозі, пієлонефриті, гострій та хронічній нирковій недостатності.
2. Біохімічні методи дослідження функціонального стану нирок.

Література

Основна:

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / [Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.]. – К. : ВСВ «Медицина», 2016. – С.467– 484.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця : Нова книга, 2009. – С.551 - 559.
3. Гонський Я.І. Біохімія людини / Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – С. 588 – 592, 595 – 604.
2. Біологічна хімія : тести та ситуаційні задачі: навчальний посібник [для студ. вищ. медич. навч. закл.] / за ред. О.Я. Скларова. – Львів : Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 382 – 406.
3. Біохімічні показники у нормі і при патології : навчальний довідник / за ред. Скларова О.Я. – К. : Медицина, 2007. – 320 с.
4. Бойків Д.П. Клінічна біохімія : підручник / [Д.П.Бойків, Т.І.Бондарчук, О.Л.Іванків та ін.] - К. : Медицина, 2006. – С.143 – 160, 303 – 317.

5. Практикум з біологічної хімії / за ред. О.Я. Склярова. – К. : Здоров'я, 2002. – С. 263 – 274.
8. Скляров О.Я. Біологічна хімія / Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 107, 537 – 556.

Додаткова:

1. С. Ангельські. Клінічна біохімія / Ангельські С., Якубовські З., Домінічак М.Г. – Сопот, 1998. – 451 с.
2. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин. – М. : Медицина, 1998. – С. 608 – 624.
3. Дядик О.І. Роль дослідження сечового синдрому у клінічній практиці // Лаб. діагностика. – 2002. – № 2. – С. 61 – 68.
4. Ракова Н.Г. Патогенез и лабораторная диагностика диабетической нефропатии // Клини. лабораторная диагностика. – 1998. – № 5. – С. 3 – 9.
5. Клінічна біохімія: навчальний посібник / за ред. проф. О.П. Тимошенко. – Київ : Професіонал, 2005. – 292 с.

Наукова фахова:

1. Кириченко Л.М. Амілоїдоз як системне захворювання, етіологічні чинники, клінічні ознаки, методи діагностики та лікування / Biomedical and biosocial antropology. - 2014. - № 23. – С.272 – 273.
2. Palmer V.F. Approach to fluid and electrolyte disorders and acid-base problems / Prim Care. – 2008. – Vol. 35 (2). – P. 195-213.
3. Ko G. Dietary protein intake and chronic kidney disease / G. Ko, Y. Obi, A.R.Tortorici et al. // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2017. – Vol. 20, № 1. – P. 77 – 85.

Тема № 17. Біохімія м'язової тканини. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у м'язовій тканині.

Мета заняття: Знати склад і біохімічні особливості метаболізму м'язової та нервової тканин, їх функціонування в нормі і при деяких патологіях. Вміти кількісно визначати креатинін і креатин у сечі для діагностики захворювань.

Мотивація теми: М'язовій та нервовій тканинам властивий специфічний метаболізм в залежності від віку людинита патологічних станів, викликаних як ендогенними, так і екзогенними факторами. Особливе місце в клініці займають біохімічні методи дослідження патологічних процесів у м'язах, зокрема визначення креатиніну в сечі. При багатьох захворюваннях нервової системи і особливо при стресах важливо знати вміст не тільки нейромедіаторів, а й активність ензимів, що зумовлюють до їх утворення та знешкодження.

Конкретні завдання:

- *Аналізувати біохімічний склад м'язів, роль білків у побудові їх структури.*
- *Пояснювати молекулярні механізми м'язового скорочення*
- *Аналізувати біохімічні основи енергозабезпечення м'язів, роль АТФ і креатинфосфату в даних процесах.*

- Пояснювати особливості хімічного складу білої і сірої речовин мозку.
- Трактувати особливості метаболізму нервової системи.
- Пояснювати молекулярні механізми дії нейромедіаторів.
- Аналізувати біохімічну основу порушень обміну медіаторів і модуляторів головного мозку при психічних розладах

Теоретичні питання

1. Біохімічний склад міоцитів. Білки міофібрил: міозин, актин, тропоміозин, тропонін. Молекулярна організація товстих і тонких філаментів.
2. Екстрактивні речовини м'язів, азотисті і безазотисті, їх хімічна природа та роль. Молекулярні механізми м'язового скорочення: сучасні уявлення про взаємодію м'язових філаментів. Роль іонів Ca^{2+} в регуляції скорочення та розслаблення скелетних і гладеньких м'язів.
3. Біоенергетика м'язової тканини. Макроергічні сполуки м'язів. Структура, утворення і роль АТФ, креатинфосфату, креатинфосфокіназ, джерела АТФ у м'язах; роль креатинфосфату в забезпеченні енергією м'язового скорочення.
4. Біохімічні зміни в м'язах при патології.
5. Особливості біохімічного складу та метаболізму головного мозку: хімічний склад головного мозку, нейроспецифічні білки та ліпіди (гангліозиди, цереброзиди, холестерол), особливості амінокислотного складу мозку, роль системи глутамінової кислоти.
6. Енергетичний обмін в головному мозку людини.
7. Біохімія нейромедіаторів (ацетилхоліну, норадреналіну, дофаміну, серотоніну, збуджувальних і гальмівних амінокислот), їх роль у передачі нервових імпульсів та регуляції пам'яті.
8. Рецептори для нейромедіаторів та фізіологічно активних сполук.
9. Пептидергічна система головного мозку.
10. Опіодні пептиди (енкефаліни, ендорфіни, динорфіни) та їх рецептори.
11. Порушення обміну медіаторів та модуляторів головного мозку при психічних розладах.
12. Біохімічні механізми, які лежать в основі нервово-психічних захворювань людини (алкоголізм, наркоманія, хвороба Альцгеймера, розсіяний склероз, хвороба Паркінсона, епілепсія).
13. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для лікування патологій м'язової та нервової систем.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Біохімічний склад міоцитів. Білки міофібрил: міозин, актин, тропоміозин, тропонін. Молекулярна організація товстих і тонких філаментів.

- Описати ультраструктуру та вказати біохімічний склад міоцитів.
- Охарактеризувати структурну організацію саркомерів (І-диски, А-диски, Н-зона).
- Дати структурну та функціональну характеристику білків міофібрил.

- Описати організацію товстих та тонких філаментів (ниток), що входять до складу саркомера.

2. Екстрактивні речовини м'язів, азотисті і безазотисті, їх хімічна природа та роль. Молекулярні механізми м'язового скорочення: сучасні уявлення про взаємодію м'язових філаментів. Роль іонів Ca^{2+} в регуляції скорочення та розслаблення скелетних і гладеньких м'язів.

- В конспекті дати визначення та перелічити екстрактивні речовини м'язів, їх азотисті та безазотисті компоненти; вказати хімічну природу та метаболічну роль у функціонуванні м'язової тканини.
- Вказати роль змін цитозольної концентрації йонів Кальцію в регуляції скорочення та розслаблення посмугованих та непосмугованих м'язів.
- В конспекті представити молекулярні механізми м'язового скорочення: сучасні уявлення про взаємодію м'язових філаментів.
- В конспекті описати сучасну модель м'язового скорочення (модель Хакслі) та викласти її головні постулати
- Описати послідовність потоку біохімічної інформації, що призводить до скорочення посмугованих (скелетних) м'язів.
- Описати особливості функціонування актин-міозинової системи, що призводить до скорочення непосмугованих (гладеньких) м'язів

3. Біоенергетика м'язової тканини. Макроергічні сполуки м'язів. Структура, утворення і роль АТФ, креатинфосфату, креатинфосфокіназ, джерела АТФ у м'язах; роль креатинфосфату в забезпеченні енергії м'язового скорочення.

- Перелічити макроергічні сполуки м'язів, написати структуру та вказати роль їх та креатинфосфокіназ у енергетичному забезпеченні функціонування м'язової системи
- Написати реакції утворення креатинфосфату із зазначенням їх клітинної локалізації.
- В конспекті вказати метаболічні шляхи, які слугують джерелами АТФ для забезпечення скорочення м'язів

4. Біохімічні зміни в м'язах при патології

- Описати метаболічні зміни при інфаркті міокарда із зазначенням клініко-біохімічних критеріїв цієї патології.
- Описати метаболічні зміни при хронічних серцевих захворюваннях.
- Вказати біохімічні зміни та діагностику при м'язових дистрофіях.

5. Особливості біохімічного складу та метаболізму головного мозку: хімічний склад головного мозку, нейроспецифічні білки та ліпіди (гангліозиди, цереброзиди, холестерол), особливості амінокислотного складу мозку, роль системи глутамінової кислоти.

- В конспекті описати хімічний склад головного мозку.
- Описати нейроспецифічні білки та ліпіди (гангліозиди, цереброзиди, холестерол).

- Дати характеристику амінокислотного складу мозку; роль системи глутамінової кислоти; ГАМК – шунт.

6.Енергетичний обмін в головному мозку людини.

- В конспекті описати особливості енергозабезпечення роботи головного мозку
- Пояснити значення аеробного окислення глюкози

7.Біохімія нейромедіаторів (ацетилхоліну, норадреналіну, дофаміну, серотоніну, збуджувальних і гальмівних амінокислот), їх роль у передачі нервових імпульсів та регуляції пам'яті.

- В конспекті подати синтез та структуру вказаних нейромедіаторів
- Описати їх фізіологічні ефекти
- Вказати роль у передачі нервових імпульсів та регуляції пам'яті
- Вказати механізми інактивації

8. Рецептори для нейромедіаторів та фізіологічно активних сполук.

- В конспекті перелічити рецептори нейромедіаторів та фізіологічно активних сполук , дати їх характеристику
- Вказати механізм реалізації біохімічної відповіді.

9.Пептидергічна система головного мозку. Опіодні пептиди (енкефаліни, ендорфіни, динорфіни) та їх рецептори

- Дати визначення: *нейропептиди –це...*
- Вказати попередників, механізм утворення та подати характеристику енкефалінів, ендорфінів, динорфінів.
- Описати рецептори опіодних пептидів та біохімічні механізми їх функціонування.
- Вказати роль опіодних пептидів у роботі нервової системи

10.Біохімічні механізми, які лежать в основі нервово-психічних захворювань людини (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, епілепсія).

- В конспекті описати біохімічні порушення в обміні нейромедіаторів при:
 - хворобі Паркінсона;
 - епілепсії;
 - хворобі Альцгеймера;

11.Фармацевтичні препарати, що застосовуються для лікування патологій м'язової та нервової систем.

- В конспекті перелічити фармацевтичні препарати, що застосовують для лікування:
 - інфаркту міокарда;
 - хронічних серцевих захворювань;
 - м'язових дистрофій;
- В конспекті перелічити фармацевтичні препарати, що застосовують для лікування нервових захворювань:

- антидепресанти
- нейролептики
- анксиолітики

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. Для роботи серцевого м'язу необхідна енергія. Вказати, який субстрат є основним джерелом енергії в працюючому м'язі?

- A. Жирні кислоти
- B. Амінокислоти
- C. Молочна кислота
- D. Піровиноградна кислота
- E. α -Кетоглутарова кислота

2. Який найбільш швидкий механізм утворення АТФ, що необхідний для термінового включення процесу м'язового скорочення ?

- A. Генерація АТФ із креатинфосфату
- B. Аеробний гліколіз
- C. Анаеробний гліколіз
- D. Глікогеноліз у м'язах
- E. Окислення тригліцеридів

3. Хворому з підозрою на діагноз "прогресуюча м'язова дистрофія" був зроблений аналіз сечі. Яка сполука у сечі підтверджує діагноз даного пацієнта?

- A. Креатин
- B. Колаген
- C. Порфирин
- D. Міоглобін
- E. Кальмодулін

4. Відомо, що в метаболізмі катехоламінових медіаторів особлива роль належить ферменту моноаміноксидазі (МАО). Яким шляхом цей фермент інактивує медіатори (норадреналін, адреналін, дофамін)?

- A. Шляхом окисного дезамінування
- B. Шляхом приєднання аміногрупи
- C. Шляхом видалення метильної групи
- D. Шляхом карбоксилювання
- E. Шляхом гідролізу

5. Попередником оксиду азоту, що є важливим регулятором тонуусу гладких м'язів, нейротрансмісії, імунних процесів виступає:

- A. Аргінін
- B. Орнітин
- C. Цитрулін
- D. Карбомойлфосфат
- E. Лізин

Ситуаційні задачі

1. Відомо, що характерною ознакою бронхіальної астми є спазм гладкої мускулатури бронхіол. Які причини появи такого симптому?
2. Для хворих з недостатністю тіаміну характерний ряд неврологічних симптомів: втрата рефлексів, збудливість, сплутаність свідомості. Поясніть, чому нестача тіаміну відбивається на функції мозку?
3. Відомо, що глікоген, який складає енергетичний запас організму, відкладається про запас у печінці та м'язах, але не створює резерву у такій важливій тканині як мозок, яка у великій кількості використовує глюкозу. Поясніть, чому глікоген не запасається у мозку?

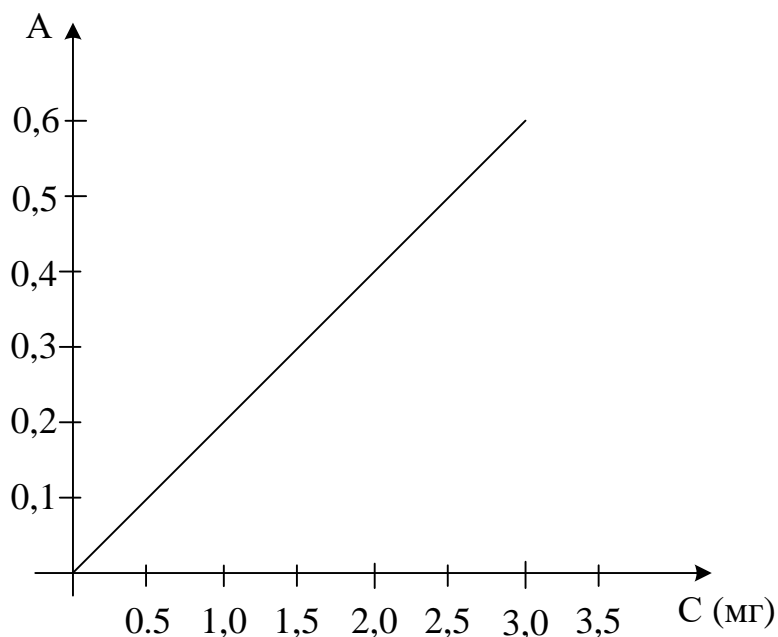
Практична робота

Дослід . Кількісне визначення креатиніну в сечі.

Принцип методу. Метод базується на кольоровій реакції (реакція Яффе) креатиніну з пікриновою кислотою в лужному середовищі з подальшим визначенням інтенсивності забарвлення на ФЕКу. Концентрацію креатиніну в сечі знаходять за калібрувальним графіком.

Матеріальне забезпечення: насичений розчин пікринової кислоти, 10 % розчин гідроксиду натрію, ФЕК, мірні циліндри на 100 мл, мірні піпетки, скляні палички.

Хід роботи. В один мірний циліндр відміряють 0,5 мл сечі (дослід), а в другий – 0,5 мл дистильованої води (контроль). В обидва циліндри добавляють по 0,2 мл 10% гідроксиду натрію і по 3 мл насиченого розчину пікринової кислоти, перемішують вміст циліндрів, залишають на 5 хв, потім доводять дистильованою водою до 100 мл, перемішують скляною паличкою і вимірюють на ФЕКу екстинкцію досліді проти контролю в кюветах з товщиною шару 1 см із зеленим світлофільтром.



Крива залежності оптичної густини розчину креатиніну від його концентрації.

Знаючи оптичну густину, за калібрувальним графіком визначають вміст креатиніну в досліді і розраховують кількість креатиніну, виділеного з сечею за добу за формулою:

$$X = \frac{a \times V_{\text{доб}}}{V_{\text{досл}}},$$

де a – кількість креатиніну, знайдена за калібрувальним графіком;
 $V_{\text{доб}}$ – добовий об'єм сечі (1500 мл);
 $V_{\text{досл}}$ – об'єм сечі, взятий для аналізу, мл;
(коефіцієнт перерахунку в одиниці СІ (ммоль/доб) дорівнює 8,84).

Пояснити отриманий результат. Зробити висновки.

Значення для фармації та клініки. В середньому за добу з сечею виділяють креатиніну у чоловіків 8,8 – 17,7 ммоль/добу (1,0 – 2,0 г/добу), а у жінок – 7,1 – 15,9 ммоль/добу (0,8 – 1,8 г/добу). Збільшення виділення креатиніну спостерігають при надмірному вживанні м'ясної їжі (екзогенний креатинін), розпаді білків протоплазми, посиленій фізичній роботі, акромегалії, цукровому та нецукровому діабетах, інфекційних та інших захворюваннях (ендогенний креатинін). Виділення креатиніну значно зменшується при захворюваннях нирок, м'язовій дистрофії, гіпертиреозі, анемії, лейкемії, у людей похилого віку, при хронічному нефриті з уремією (при цьому вміст його в крові збільшується). Креатинін, на відміну від багатьох інших низькомолекулярних речовин, не реабсорбується і тому за його екскрецією з сечею можна оцінювати стан клубочкової фільтрації.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. На чому ґрунтується принцип методу визначення креатиніну в сечі? Про що свідчить збільшення чи зменшення креатиніну в сечі?
2. Відомо, що характерною ознакою бронхіальної астми є спазм гладкої мускулатури бронхіол. Які причини появи такого симптому?
3. Відомо, що глікоген, який складає енергетичний запас організму, відкладається про запас у печінці та м'язах, але не створює резерву у такій важливій тканині як мозок, яка у великій кількості використовує глюкозу. Поясніть, чому глікоген не запасується у мозку?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Молекулярна організація товстих і тонких філаментів м'язової тканини.
2. Біохімічні механізми, що лежать в основі нервово-психічних захворювань (алкоголізм, наркоманія, хвороба Альцгеймера, Паркінсона, розсіяний склероз, епілепсія).

Література

Основна:

1. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – С. 106 – 114.
2. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. –744с.
3. Клінічна біохімія / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2006. – С. 106; 317-346
4. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія .- Тернопіль ТДМУ, 2015.- С. 587-620
5. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 320 с.
6. Біологічна і іоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн. 2. Біологічна хімія/ Ю.І.Губський, І.В.Ніжанковська, М.М.Корда та ін.; за ред Ю.І.Губського, В.І.Ніженковської. - К.: ВСВ «Медицина», 2016.- С. 485-496; 507-525
7. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів: ЛНМУ, 2015. – 454 с.
8. Вільям Ф. Ганонг. Фізіологія людини. – Львів: БаК, 2002. – 767 с.

Додаткова:

1. Биохимия с упражнениями и задачами: учебник для вузов / под ред. чл.-корр. РАН Е.С.Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
2. Клиническая биохимия: Учебник для студентов мед.вузов /А.Я.Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Леонов и др. – Харьков: Факт, 2005. – 456 с.
3. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.2. – М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, 2009. – С. 332 – 351.
4. Скорчій П.Г. Нервові хвороби. - Львів: ЛДМУ ім. Д. Галицького, ч.1,2. – 1050 с.

Наукова фахова:

1. С. С. Страфун, В.В.Гайович Структурно-метаболичні зміни скелетних м'язів при травмуванні периферичного нерва. Літопис травматології та ортопедії №1 -2 ,2015 С 31 – 32
2. Amato M.P,Portaccio E. Management options in multiple sclerosis – associated fatigue/ Expert Opin Pharmacother,2012, Feb;13(2): 207 - 216
3. Goodman J.G, Weintraub D. Advance in the treatment of co cognitive impairment in Parcinson's disease Vov Disord, 2015 Sep;67(5): 320 – 324

Тема № 18. Біохімія нервової тканини. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у нервовій тканині.

Тема № 19. Біохімія сполучної тканини. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у сполучній тканині

Мета заняття: Знати особливості складу сполучної тканини, проаналізувати закономірності біохімічних шляхів метаболізму сполучної тканини за умов норми і при патології. Уміти кількісно визначати

гідроксипролін (оксипролін) у сечі для діагностики захворювань сполучної тканини.

Мотивація теми: Одним із важливих завдань сучасної медицини є вміння на основі аналізу змін біохімічних показників метаболізму сполучної тканини своєчасно діагностувати та правильно призначити лікування набутих та спадкових захворювань сполучної тканини.

Конкретні завдання:

- Давати морфологічну та біохімічну характеристику компонентам сполучної тканини (фібрилярні структури, основна міжклітинна речовина);
- Назвати фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у сполучній тканині;
- Знати принцип методу кількісного визначення гідроксипроліну та виявлення глікозамінгліканів (мукополісахаридів) у сечі, давати оцінку отриманим результатам.
- Характеризувати біохімічні зміни в сполучній тканині при старінні та деяких патологічних станах (мукополісахаридозах, колагенозах). Пояснювати механізм дії біохімічні зміни в сполучній тканині при старінні та деяких патологічних станах (мукополісахаридозах, колагенозах).

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика біохімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини: волокна (колагенові, ретикулярні, еластичні) й основна аморфна речовина.
2. Білки волокон сполучної тканини: колагени, еластин, глікопротеїни та протеоглікани.
3. Біосинтез колагену та утворення фібрилярних структур.
4. Структура та роль складних вуглеводів основного аморфного матриксу сполучної тканини – глікозаміногліканів (мукополісахаридів). Механізми участі молекул глікозаміногліканів (гіалуронової кислоти, хондроїтин-, дерматан-, кератансульфатів, гепарину) у побудові основної речовини сполучної тканини. Розподіл різних глікозаміногліканів в органах і тканинах людини.
5. Патобіохімія сполучної тканини: біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у сполучній тканині.

Алгоритм самостійного вивчення навчального матеріалу

1. Загальна характеристика біохімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини: волокна (колагенові, ретикулярні, еластичні) й основна аморфна речовина.

- Описати особливості структури сполучної тканини та вказати її функції.
- Описати особливості біохімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини

2. Білки волокон сполучної тканини: колагени, еластин, глікопротеїни та протеоглікани.

- Дати характеристику колагену: особливості будови молекули тропоколагену; типи колагену та їх переважання у різних видах сполучної тканини; функції.
- Дати характеристику еластину: функції; особливості будови молекули еластину; механізм утворення поперечних зшивок; особливості структури (відобразити формули) та функції десмозину та ізодесмозину.
- Дати характеристику протеогліканам сполучної тканини: функції, особливості структури мономера протеоглікана, навести приклади протеогліканів та вказати, з яких глікозаміногліканів вони побудовані і місце локалізації.
- Дати характеристику глікопротеїнам: функції, особливості будови, представники, локалізація.

3. Біосинтез колагену та утворення фібрилярних структур.

- Описати етапи синтезу колагену:
 - внутрішньоклітинний: утворення препроколагену та проколагену (механізм гідроксилування та глікозилювання ланцюгів проколагену; роль ферментів і вітаміну С), формування дисульфідних зв'язків;
 - позаклітинний: утворення тропоколагену з формуванням поперечних зшивок, мікрофібрил, колагенових волокон.
- Описати роль матричних металопротеїназ (ММП) у розпаді колагену.
- Назвати тести для оцінки інтенсивності обміну колагену.

4. Структура та роль складних вуглеводів основного аморфного матриксу сполучної тканини – глікозаміногліканів (мукополісахаридів).

- Дати характеристику глікозаміногліканам (гіалуронова кислота, хондроїтин-4-сульфат, хондроїтин-6-фосфат, дерматансульфат, кератансульфат, гепарансульфат, гепарин) за схемою:
 - структурна формула дисахаридної одиниці, особливості будови молекули;
 - локалізація в органах і тканинах;
 - функції.

5. Патобіохімія сполучної тканини: біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика.

- Дати визначення поняття
Мукополісахаридози – це...
- У вигляді таблиці дати характеристику мукополісахаридозам за схемою:

- назва патології,
- дефектний фермент,
- негідролізований глікозаміноглікан,
- клінічні прояви.
- Дати визначення поняттю «колагеноз».
- Охарактеризувати природжені колагенози за схемою:
 - назва патології,
 - дефектний фермент,
 - клінічні прояви.
- Навести приклади системних уражень сполучної тканини, вказати основні морфологічні прояви та біохімічні зміни.
- 5.6. Дати характеристику фармацевтичним препаратам, які застосовують при порушеннях в сполучній тканині.

Приклади тестів інтегрального іспиту «Крок-1»

1. При пародонтозі відбувається деструкція білкових і полісахаридних компонентів сполучної тканини. Який із наведених білків входить до складу сполучної тканини:
 - A. Колаген
 - B. Альбумін
 - C. Трансферин
 - D. Церулоплазмін
 - E. Антитрипсин

2. В якості антикоагулянтів використовують різноманітні речовини, в тому числі полісахарид природного походження, а саме:
 - A. Гепарин
 - B. Гіалуронова кислота
 - C. Дерматансульфат
 - D. Хондроїтинсульфат
 - E. Декстран

3. Крихкість судин, руйнування емалі та дентину при скрбтуті обумовлені порушенням дозрівання колагену. Який етап модифікації проколагену порушується при цьому авітамінозі?
 - A. Гідроксилювання проліну
 - B. Утворення поліпептидних ланцюгів
 - C. Глікозилювання гідроксилізинових залишків
 - D. Відрізання С-кінцевого пептиду
 - E. Відрізання N-кінцевого пептиду

4. Відомо, що синовіальна рідина зменшує тертя суглобових поверхонь. При ревматизмі чи артриті її в'язкість знижується внаслідок деполімеризації (руйнування) такої речовини:
 - A. Гіалуронової кислоти
 - B. Глікогену

- C. Колагену
- D. Гепарину
- E. Альбуміну

5. Гіповітаміноз C призводить до зменшення утворення органічного матриксу, порушення синтезу колагену, тому що цей вітамін бере участь у процесах:

- A. Гідроксилювання проліну
- B. Карбоксилювання проліну
- C. Карбоксилювання лізину
- D. Гідроксилювання аргініну
- E. Гідроксилювання триптофану

Ситуаційні задачі

1. Деякі патогенні мікроорганізми здатні руйнувати гіалуронову кислоту, виділяючи ензим гіалуронідазу. У чому полягає їх перевага перед мікробами, які не виявляють гіалуронідазної активності?
2. Пацієнт з опіковою хворобою перебуває під загрозою утворення тромбів у кровоносних судинах через посилення згортання крові. Який глікозаміноглікан можна використати, щоб запобігти утворенню тромбів?

Практична робота

Дослід 1. Кількісне визначення гідроксипроліну (оксипроліну) у сечі.

Принцип методу: метод базується на окисненні гідроксипроліну до сполуки, близької за будовою до піролу, яка при конденсації з реактивом Ерліха (п-диметиламінобензальдегід) дає рожеве забарвлення. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації гідроксипроліну.

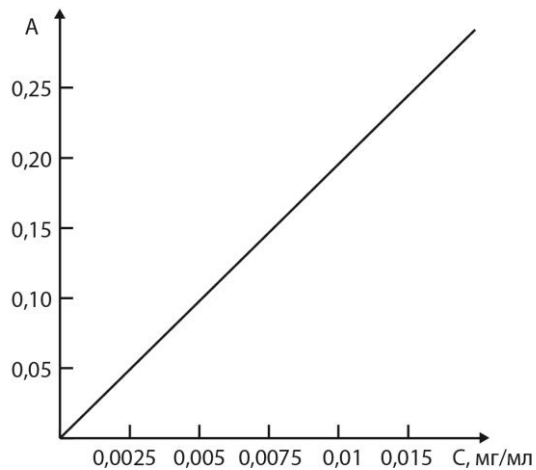
Матеріальне забезпечення: реактив Ерліха, 3 н розчин сірчаної кислоти, 6 % розчин гідрогену пероксиду, 2,5 н розчин натрію гідроксиду, 0,01 М розчин міді сульфату, водяна баня, ФЕК, мірні піпетки, пробірки, лійка, фільтрувальний папір.

Хід роботи. У першу пробірку відміряють 1мл профільтрованої сечі, у другу – 1мл дистильованої води (контрольна проба). В обидві пробірки додають по 1 мл 0,01 М розчину міді сульфату, по 1мл 2,5 н розчину натрію гідроксиду, по 1мл 6 % розчину гідрогену пероксиду. Проби перемішують 5 хв, після чого нагрівають 3 хв у киплячій водянній бані, потім пробірки охолоджують водою з-під крану. У пробірки додають по 4 мл 3 н розчину сірчаної кислоти і по 1 мл реактиву Ерліха, ставлять на 1 хв у кип'ячу водяну баню, охолоджують, а потім вимірюють оптичну густину на ФЕКу проти контролю при довжині хвилі $\lambda = 500 - 560$ нм (зелений світлофільтр) у кюветі завтовшки 10 мм.

За калібрувальним графіком визначають вміст гідроксипроліну в дослідній пробі і розраховують кількість гідроксипроліну, виділеного з сечею впродовж доби за формулою:

$$X = \frac{a \times V_{\text{доб}}}{V_{\text{проби}}}$$

де a – кількість гідроксипроліну, знайдена за калібрувальним графіком;
 $V_{\text{доб.}}$ – добовий об'єм сечі, мл; V проби – об'єм сечі, взятий для аналізу, мл.



Пояснити отриманий результат. Зробити висновок

Значення для фармації та клініки. Вміст гідроксипроліну в сечі та крові характеризує інтенсивність катаболізму колагену та швидкість обміну цієї амінокислоти. Гідроксипролін може знаходитись у зв'язаному з білками та пептидами стані, а також у вільному стані як у сироватці крові, так і в сечі. У 10 – 20-річному віці з сечею виділяється до 200 мг гідроксипроліну за добу, а у дорослих – 15 – 50 мг. Зростання цього показника спостерігають при колагенозах (ревматизм, ревматоїдний артрит, системна склеродермія, дерматоміозит), при гіперпаратиреоїдизмі, хворобі Педжета (до 1г за добу). Ще більше виділяється гідроксипроліну при спадковій гіпергідроксипролінемії, що спричинено дефектом ферменту гідроксипроліноксидази, у результаті чого порушується обмін гідроксипроліну.

Контроль виконання лабораторної роботи

1. У крові та сечі жінки віком 63 роки, яка хворіє на ревматизм, підвищена концентрація оксипроліну. Що є основною причиною гіпероксипролінемії?
2. До фібрилярних елементів сполучної тканини належать колаген, еластин і ретикулін. Вкажіть амінокислоту, яка входить тільки до складу колагену, і визначення якої в біологічних рідинах використовують для діагностики захворювань сполучної тканини?
3. Пацієнт обстежується в клініці з приводу підозри на колагеноз. За збільшенням у крові якого показника можна підтвердити цю патологію?
4. У хворих на колагеноз спостерігається деструкція сполучної тканини. Які дослідження лабораторних показників крові та сечі доцільно призначити хворому з підозрою на наявність колагенозу (хронічна форма)?

Індивідуальна самостійна робота студентів

1. Патохімія сполучної тканини: біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика.

Література

Основна:

1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія/Ю.І.Губський, І.В.Ніженковська, М.М.Корда та ін.; за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 497 – 506.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 596 – 607.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 655 – 666.
4. Клінічна біохімія: Підручник / За ред. проф. Склярова О.Я. – Львів, 2006. – С. 82 -116.
5. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 557 - 574.
6. Біологічна хімія. Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярова. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 427-436.
7. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
8. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
9. Swanson T.A., Kim S.I., Glucksman M.J., Lieberman M. A. “Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics” 5-th edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2010. – 380 p.

Додаткова:

1. Біохімічні показники в нормі і при патології. Довідник / За ред. Склярова О.Я. – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
2. Основи глікобіології: монографія / За ред. Н.О.Сибірної. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2015. – С. 332 – 362.
3. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я.Склярова. – К.”Здоров’я”, 2002, С.288 – 292.

Наукова фахова:

1. Pieta A., Zioga A., Skalkou M, Venetsanopoulou I. Fibroblastic rheumatism: an uncommon arthritis. A case-based review Rheumatol Int. 2022 Jun;42(6):1097-1103.
2. Raupitz JA, de Carvalho JF. Good clinical response to methotrexate treatment in a patient with fibroblastic rheumatism. Rheumatol Int. 2012 Jun;32(6):1789-91.
3. Schulte JJ, Husain AN. Connective Tissue Disease Related Interstitial Lung Disease. Surg Pathol Clin. 2020 Mar;13(1):165-188.

ЗМІСТ

Дидактичні компоненти при вивченні «Біологічної хімії»	1
Опис навчального плану з дисципліни — Біологічна хімія для студентів фармацевтичних факультетів за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»	3
Тематичний план лекцій	3
Тематичний план практичних занять	4
Тематичний план самостійної роботи студентів	5
Критерії оцінювання успішності студентів	6
Загальні правила техніки безпеки при роботі студентів у навчальній хімічній лабораторії	7
Тема № 1. Загальні шляхи перетворень амінокислот в організмі (трансамінування, дезамінування, декарбоксилування). Біосинтез глутатіону та креатину	8
Тема № 2. Дослідження процесів детоксикації аміаку та біосинтезу сечовини. Специфічні шляхи обміну амінокислот	16
Тема № 3. Дослідження спеціалізованих шляхів обміну циклічних амінокислот. Порушення та патологія цих обмінів	23
Тема № 4. Дослідження біохімічного складу пуринових та піримідинових нуклеотидів. Біохімічні функції нуклеотидів та нуклеїнових кислот	27
Тема № 5. Біосинтез та катаболізм пуринових і піримідинових нуклеотидів. Визначення кінцевих продуктів їх обміну. Спадкові порушення обміну нуклеотидів	35
Тема 6. Реплікація ДНК та транскрипція РНК. Аналіз механізмів мутацій, репарацій ДНК. Принципи отримання рекомбінантних ДНК і трансгенних білків. Мутації	42
Тема 7. Біосинтез білка у рибосомах. Процеси ініціації, елонгації та термінації в синтезі поліпептидного ланцюга. Інгібіторна дія антибіотиків. Принципи генної інженерії, їх застосування в сучасній медицині	51
Тема 8. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії гормонів білково-пептидної природи, похідних амінокислот та біогенних амінів на клітини-мішені. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію	59
Тема 9. Дослідження молекулярно-клітинних механізмів дії стероїдних та тиреоїдних гормонів на клітини-мішені	66
Тема № 10. Хромопротеїни (гемоглобін та його похідні). Будова гемоглобіну його біологічна роль. Біосинтез порфіринів, механізми виникнення порфірій.	72
Тема № 11. Дослідження біохімічних функцій крові. Білки плазми крові, небілкові азотовмісні і безазотисті компоненти крові. Кислотно-основний стан крові та його регуляція	78
Тема № 12. Дослідження згортальної, антизгортальної та фібринолітичної системи крові. Біохімічні закономірності реалізації імунних процесів	84
Тема № 13. Біологічна роль та обмін гемоглобіну. Біосинтез порфіринів, механізми виникнення порфірій. Обмін кінцевих продуктів катаболізму гему. Патобіохімія жовтяниць	90

Тема № 14. Дослідження детоксикаційної функція печінки. Процеси біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів. Мікросомальне окиснення, цитохром Р - 450. Основи фармацевтичної біохімії.	98
Тема № 15. Дослідження обміну води і мінеральних речовин.	107
Тема № 16. Сечоутворювальна функція нирок. Біохімічний склад сечі людини в нормі і при патології/	114
Тема № 17. Біохімія м'язової тканини. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у м'язовій тканині.	123
Тема № 18. Біохімія нервової тканин. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у нервовій тканині.	
Тема № 19. Біохімія сполучної тканини. Фармацевтичні препарати, що застосовуються для корекції порушень у сполучній тканині.	
Зміст	