

Міністерство освіти та науки України  
Чорноморський національний університет імені Петра Могили

**Невинський О. Г.**

**ПРАКТИЧНІ ЗАНЯТТЯ З  
БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ. ЧАСТИНА І.  
ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ  
МЕТАБОЛІЗМУ. МЕТАБОЛІЗМ  
ВУГЛЕВОДІВ, ЛІПІДІВ ТА ЙОГО  
РЕГУЛЯЦІЯ**

*Методичні рекомендації*

**Випуск 432**



Миколаїв – 2024

**УДК 577.1 (076)**

**Н 40**

*Рекомендовано до друку вченою радою Чорноморського національного університету ім. Петра Могили (протокол № 5 від 25 травня 2023 року).*

**Рецензенти:**

**Клименко М. О.** – д-р мед. наук, професор, проректор з науково-педагогічної роботи та питань розвитку ЧНУ імені Петра Могили.

**Кельїна С. Ю.** – канд. хім. наук, доцент кафедри ґрунтознавства та агрохімії Миколаївського національного аграрного університету.

**Н 40**

**Невинський О. Г.** Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I. Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція : метод. рек. / О. Г. Невинський. – Миколаїв : Вид-во ЧНУ ім. Петра Могили, 2024. – 244 с. – (Методична серія ; вип. 432).

Методичні рекомендації «Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I. Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція» містять методики підготовки та проведення практичних занять: алгоритми лабораторних дослідів, що виконуються на кожному занятті практикуму; задачі, вправи і запитання для самостійної роботи різної складності. Для полегшення самостійної роботи студентів на початку кожної роботи наведено короткий виклад найважливіших питань теорії. Призначені для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 226 «Фармація. Промислова фармація».

УДК 577.1 (076)

© Невинський О. Г., 2024

© ЧНУ ім. Петра Могили, 2024

ISSN 1811- 492X

# ЗМІСТ

<b>Передмова.....</b>	<b>5</b>
<b>Практичне заняття № 1 ВСТУП ДО БІОХІМІЇ. МЕТОДИ ПОВЕДЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ, АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД, БУДОВА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ФУНКЦІЇ ПРОСТИХ І СКЛАДНИХ БІЛКІВ.....</b>	<b>7</b>
<b>Практичне заняття № 2 ФЕРМЕНТИ: БУДОВА, НОМЕНКЛАТУРА, КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ.....</b>	<b>40</b>
<b>Практичне заняття № 3 ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ. ОДИНИЦІ ВИМІРУ КАТАЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ. ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГУЛЯЦІЇ ФЕРМЕНТАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ.....</b>	<b>58</b>
<b>Практичне заняття № 4 ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ ТА КІНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛІЗУ.....</b>	<b>83</b>
<b>Практичне заняття № 5 ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ .....</b>	<b>101</b>
<b>Практичне заняття № 6 МОЛЕКУЛЯРНІ ОСНОВИ БІОЕНЕРГЕТИКИ.....</b>	<b>125</b>
<b>Практичне заняття № 7 ПЕРЕТРАВЛЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ ЛЮДИНИ. ОБМІН МОНОСАХАРИДІВ. АЕРОБНЕ ТА АНАЕРОБНЕ ОКИСНЕННЯ ГЛЮКОЗИ.....</b>	<b>146</b>
<b>Практичне заняття № 8 ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ПОЛІСАХАРИДІВ. РЕГУЛЯЦІЯ ТА ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ГЛІКОГЕНУ.....</b>	<b>166</b>
<b>Практичне заняття № 9 ПЕРЕТРАВЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ. ЛІПОПРОТЕЇНИ ПЛАЗМИ КРОВІ. ОБМІН ПРОСТИХ ЛІПІДІВ ТА КЕТОНОВИХ ТІЛ.....</b>	<b>186</b>

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---

<b>Практичне заняття № 10</b> ОБМІН СКЛАДНИХ ЛІПІДІВ: ГЛЦЕРО- ФОСФОЛІПІДІВ ТА СТЕРОЇДІВ. РЕГУЛЯЦІЯ ТА ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ЛІПІДІВ.....	208
Список рекомендованої літератури.....	225
Додатки.....	226

## ПЕРЕДМОВА

Біологічна хімія – одна з фундаментальних природничих дисциплін у системі вищої фармацевтичної освіти, знання якої необхідні для плідної творчої діяльності фахівців у галузі фармації.

Біологічна хімія як навчальна дисципліна базується на вивченні студентами медичної біології, неорганічної, аналітичної, фізіологічної та органічної хімії, ботаніки, фізіології та мікробіології й інтегрується з цими дисциплінами. Біохімія закладає основи вивчення студентами фармацевтичної хімії, фармакології, лабораторної діагностики, біотехнології, що передбачає інтеграцію викладання з цими дисциплінами та формування умінь застосовувати знання з біохімії в процесі подальшого навчання й у професійній діяльності. Біологічна хімія як наука вивчає біохімічні процеси в організмі в нормі та при патології й закладає основи знань про здоровий спосіб життя, профілактику та корекцію фармацевтичними препаратами порушень обміну речовин в організмі.

Навчальна дисципліна «Біологічна хімія» викладається для студентів другого курсу спеціальності 226 «Фармація. Промислова фармація» протягом двох семестрів. Програма дисципліни структурована на два блоки, що вміщують по два розділи кожний. У відповідності до програмного змісту блоку «Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція» підготовлені методичні вказівки, що є складовою цілісної системи методичного забезпечення дисципліни.

Підготовка фахівців, яким потрібні знання біологічної хімії, вимагає не тільки теоретичної підготовки, але й різнобічних практичних навичок і вмінь у проведенні біохімічного експерименту.

Практикум з біологічної хімії складено у відповідності до програми курсу «Біологічна хімія» та підготовлений з метою допомоги студентам у вивченні теоретичного матеріалу та набутті відповідних практичних навичок виконання основних біохімічних методів, що використовуються в практичній діяльності фармацевта.

Опису методів дослідження передую короткій виклад теоретичного матеріалу з відповідної теми, який є необхідним для розуміння і виконання лабораторних робіт. У кінці кожного розділу наведено контрольні запитання, ситуаційні задачі та тести, відповіді на які мають допомогти студентам краще засвоїти навчальний матеріал.

***Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція***

---

Основною метою практичних занять з дисципліни «Біологічна хімія» є підготовка спеціалістів-фармацевтів, які володіють значним обсягом теоретичних та практичних знань відносно хімічних основ життя: хімічного складу органічних сполук і природи метаболічних процесів, що відбуваються в організмі людини; формування у них знань про будову сполук, що входять до складу живих організмів та взаємозв'язок з їх біохімічними функціями; створення бази уявлень про необхідну терапію патологічних станів фармацевтичними препаратами; забезпечення теоретичної бази для вивчення інших медико-біологічних дисциплін: фармакології, фармакотерапії з фармакокінетикою, клінічної фармакології та окремих фармацевтичних дисциплін.

## Практичне заняття № 1

### **ТЕМА: ВСТУП ДО БІОХІМІЇ. МЕТОДИ ПОВЕДЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ, АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД, БУДОВА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ФУНКЦІЇ ПРОСТИХ І СКЛАДНИХ БІЛКІВ**

**Навчальна мета:** дослідити, узагальнити і поглибити знання про хімічний склад живих організмів та хімічні перетворення біомолекул, що забезпечує глибоке розуміння механізмів патогенезу, біохімічної діагностики, профілактики та лікування найважливіших хвороб людства.

**Знати:** хімічний амінокислотний склад, будову, фізико-хімічні властивості та функції простих і складних білків; залежність фізико-хімічних властивостей білків від їх амінокислотного складу; структурну організацію білків (первинної, вторинної, третинної і четвертинної структур).

**Вміти:** аналізувати етапи та закономірності становлення біохімії як медико-біологічної науки та навчальної дисципліни, пояснювати принципи та основи методів біохімічних досліджень функціонального стану організму людини в нормі та при патології, пояснювати фізико-хімічні властивості білків та використовувати ці знання у лабораторній.

*Таблиця 1*

#### **План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття**

<b>Основні напрями теми</b>	<b>Зміст та послідовність розгляду питань</b>	
	<b>Опанування теоретичних питань</b>	<b>Джерело</b>
1. Визначення біохімії як логічної науки. Задачі біохімії.	1.1. Біохімія як наука. 1.2. Задачі біохімії. 1.3. Основні етапи розвитку біохімії. 1.4. Значення біохімії для діагностики і лікування основних захворювань людини.	[1] 8–14, [2] 8–11, [3] 4–7, [5] – №1.
2. Розділи біохімії.	2.1. Статична біохімія. 2.2. Динамічна біохімія.	[1] 8–14. [2] 8–11.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

	2.3. Функціональна біохімія. 2.4. Клінічна біохімія як розділ біохімії.	[3] 4–7, [5] – №1.
3. Структурна організація білків. Фізико-хімічні властивості білків-ферментів.	3.1. Білки як біополімери. 3.2. Рівні структурної організації білкових молекул. 3.3. Хімічний синтез пептидів та білків. 3.4. Механізм осадження білків. Види осадження. 3.5. Денатурація білка, її ознаки.	[1] 15–23, [2] 8–11 [3] 7–54, [5] – №1.
4. Методи виділення та аналізу білків та пептидів	4.1. Виділення білків. 4.2. Фракціонування білків. 4.3. Методи фракціонування. 4.4. Вивчення амінокислотного складу білків. 4.5. Розшифровка первинної структури білків і пептидів.	[1] 15–23, [2] 36–40
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Правила роботи в біохімічній лабораторії	1.1. Інструкція з ОП та ТБ під час практичних занять в навчальній біохімічній лабораторії. 1.2. Робота на фотометрі фотоелектричному КФК-3. 1.3. Робота з використанням лабораторної водяної бані.	
2. Дослідження властивостей протеїногенних амінокислот та білків.	2.1. Якісні реакції на амінокислоти та білки. 2.2. Реакції осадження білків. 2.3. Кількісне визначення білку сироватки крові біуретовим методом.	

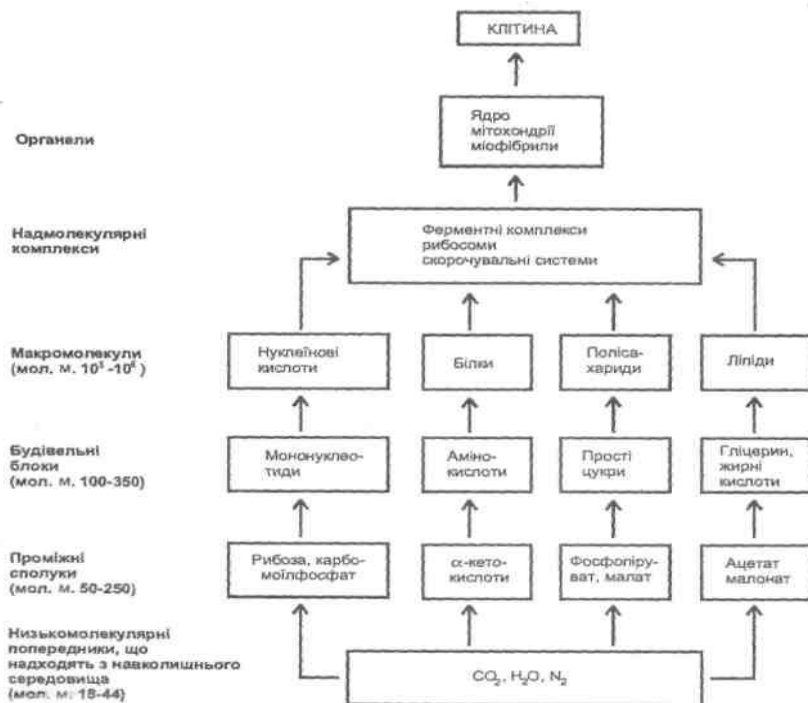
## **I. Короткі теоретичні відомості**

**1. Визначення біохімії як логічної науки. Задачі біохімії.** Біологічна хімія – наука, що вивчає склад і структуру хімічних речовин живої матерії та їх перетворення, які лежать в основі життєдіяльності.



Простіше висловився В. І. Вернадський, перший президент АН України: «Біохімія – це наука про структуру і поведінку живої речовини». Під живою речовиною він розумів сукупність усіх живих організмів, здатних захоплювати з навколишнього середовища певні хімічні елементи і складні речовини і, перетворюючи їх, використовувати утворені компоненти для побудови тканин власного тіла і виділяти певні, непотрібні кінцеві продукти перетворення у навколишнє середовище.

Структура біомолекул, тобто хімічна будова і просторове розміщення окремих атомів – конфігурація та конформація, – є передумовою їх взаємодії та перетворень у біохімічних реакціях, що складають «молекулярну логіку живого» (А. Ленінджер, 1982). Ці біохімічні перетворення становлять сутність обміну речовин (рис. 1).



**Рис. 1.** Схема послідовності біохімічних перетворень від низькомолекулярних попередників до надмолекулярних комплексів та органел.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

Усі біомолекули зрештою походять від дуже простих *низькомолекулярних попередників*, що надходять до рослинної структури та найпростішого організму з навколишнього середовища: вуглекислого газу, води й атмосферного азоту. У рослинах та живому організмі, взаємодіючи між собою, вони утворюють *проміжні* сполуки. Останні утворюють *будівельні блоки*. Це прості сахариди, амінокислоти, вищі жирні кислоти й ін.

Надалі ці будівельні блоки зв'язуються один з одним різноманітними ковалентними зв'язками, утворюючи білки: нуклеїнові кислоти, полісахариди і ліпіди. Це вже макромолекули. На такому рівні організації макромолекули об'єднуються за допомогою слабких ковалентних сил у *надмолекулярні комплекси*. Це рибосоми (комплекси нуклеїнових кислот з білками), ферментні комплекси і скорочувальні системи. На вищому, уже клітинному рівні організації надмолекулярні комплекси об'єднуються в клітинні *органели*: ядра, мітохондрії, мембрани, міофібрили і т.п. Оточені клітинною мембраною, органели утворюють *клітину*.

Предметом ретельного розгляду біохімії є основні будівельні блоки і макромолекули, з яких складається живий організм.

Біохімія тісно пов'язана з анатомією, гістологією, цитологією, і особливо з фізіологією, від якої вона відокремилася і стала самостійною наукою. Власне, ці дві науки доповнюють одна одну: *фізіологія* вивчає функціональний стан окремих клітин органів і організму в цілому, а *біохімія*, спираючись на свої специфічні методи, відкриває ті хімічні компоненти та процеси, що лежать в основі цих функцій.

Для медицини біохімія стала базовою, фундаментальною дисципліною, що на молекулярному рівні пояснює біологічні процеси в нормі й при захворюваннях. Біохімічні процеси лежать в основі сучасної діагностики, лікування хворих та прогнозу перебігу захворювання. Завдяки біохімії було розкрито причини і механізми таких захворювань, як цукровий і нецукровий діабет, серпоподібноклітинна анемія, глікогенози, колагенози тощо.

## **2. Розділи біохімії.**

У сучасній біохімії виокремлюють три розділи (етапи): *статична біохімія*, *динамічна біохімія* та *функціональна біохімія*.

**Статична біохімія** вивчає склад і хімічну структуру тканин та органів.

Це найнижчий ступінь пізнання живого на молекулярному рівні. Основну увагу біохімія приділяє значенню певних біомолекул в утворенні клітинних і тканинних структур, реалізації фізіологічних функцій організму.

**Динамічна біохімія** вивчає хімічні реакції, що в сукупності складають обмін речовин, або метаболізм живих організмів.

Завданням динамічної біохімії є вивчення перебігу та механізмів реакцій обміну вуглеводів, білків, ліпідів, нуклеїнових кислот.

**Функціональна біохімія** а підставі даних статичної й динамічної біохімії вивчає біохімічні процеси, що лежать в основі функціональної діяльності різних органів і систем. Зокрема: біохімічні основи травлення речовин у травному каналі; біохімічні механізми м'язового скорочення; генерацію та проведення нервового імпульсу; дихальну функцію крові; регуляцію кислотно-основного стану в організмі; детоксикаційну функцію печінки; видільну функцію нирок; захисну функцію імунної системи тощо.

Упродовж останніх років інтенсивно вивчаються зміни біохімічних компонентів і процесів за умов різних патологічних станів та розробляються способи ліквідації цих порушень за допомогою різних чинників. Ці питання вивчає біохімія людини, або **медична біохімія**, яка досліджує закономірності обміну речовин та їх порушення в умовах як нормального функціонування людського організму, так і виникнення патологічних процесів.

Підрозділом медичної біохімії є **клінічна біохімія**, що вивчає біохімічні процеси, які відбуваються в організмі людини при певних захворюваннях і дослідження яких може бути використане в діагностиці ураження певних органів, тканин, клітинних структур.

Основними предметами досліджень у біохімії на найближчу та віддалену перспективу є: біосинтез білка та його регуляція; біологічні мембрани і біоенергетика, диференціація клітин вищих організмів (еукаріотів); організація і механізм функціонування геному; процеси «розпізнавання» на молекулярному рівні; молекулярні основи захворювань людини, їх профілактика та лікування тощо.

Знання з біологічної хімії дають можливість на молекулярному рівні пізнати суть багатьох біохімічних процесів, що відбуваються в організмі в нормі і при патології, за необхідності встановити причину захворювання людини і на цій основі правильно вибрати стратегію її

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

лікування, зокрема із застосуванням природних та синтетичних біорегуляторів.

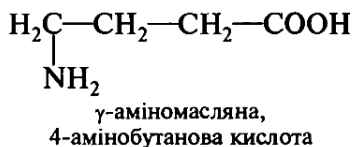
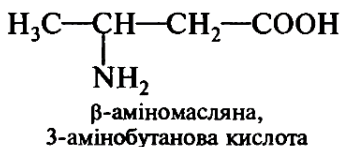
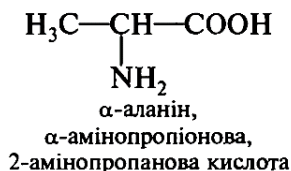
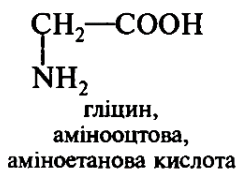
**3. Структурна організація білків. Фізико-хімічні властивості білків-ферментів.**

*Білки є високомолекулярними гетерополімерами поліамідної природи, що є продуктами поліконденсації певних α-амінокислот L-ряду.*

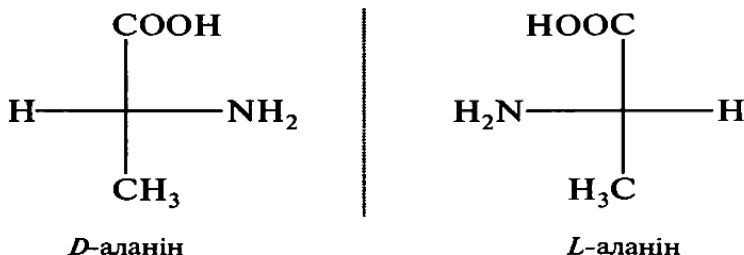
**3.1. Амінокислоти.**

Амінокислотами називаються похідні карбонових кислот, у вуглеводневому радикалі яких один або кілька атомів Гідрогену замінені аміногрупою.

*Номенклатура та ізомерія.* За замісничовою номенклатурою назви амінокислот утворюють від тривіальних або систематичних назв відповідних карбонових кислот і префікса **аміно-**. У випадку тривіальних назв карбонових кислот для позначення положення аміногрупи застосовують літери грецького алфавіту α, β, γ та ін. При застосуванні систематичних назв кислот положення аміногрупи позначають цифровими локантами. Для амінокислот, які входять до складу білків, найчастіше застосовують тривіальні назви.



*Ізомерія* амінокислот зумовлена різною структурою вуглеводневого радикала, з яким сполучена карбоксильна група, та різним положенням аміногрупи в карбоновому ланцюзі (структурна ізомерія). Для амінокислот, що містять асиметричний атом Карбону, ізомерія пов'язана з різним розміщенням замісників у просторі (оптична ізомерія):

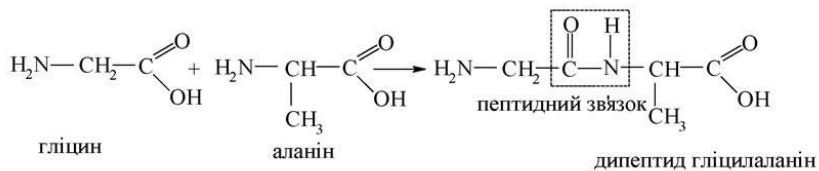


Амінокислоти, виділені з білків, називають *протеїногенними*. Протеїногенними є  $\alpha$ -амінокислоти, тобто ті, у яких аміногрупа ( $-\text{NH}_2$  сполучена з атомом Карбону, що знаходиться в  $\alpha$ -положенні відносно карбоксильної групи. Усі  $\alpha$ -амінокислоти, крім гліцину, містять асиметричний атом Карбону (сполучений з чотирма різними функціональними групами) і є оптично активними речовинами, тобто здатні обертати площину поляризації світла. Отже, природні амінокислоти є стереоізомерами L-ряду.

### 3.2. Утворення пептидів, поліпептидів і білків.

Амінокислоти можуть вступати до реакції поліконденсації, утворюючи молекули, що містять два і більше амінокислотних залишки.

*In vivo* за участі ферментів аміногрупа однієї молекули амінокислоти ацилується карбоксильною групою іншої з утворенням дипептиду, як першої стадії реакції поліконденсації в поліпептидну структуру:



**Рис. 2.** Принципова схема утворення дипептиду

Залишок амінокислоти в пептиді, що має вільну аміногрупу, називають N-кінцевим і з нього починають визначення структури, а який має вільну карбоксильну групу – C-кінцевим. Зв'язок  $-\text{CO}-\text{NH}-$  називають *пептидним зв'язком*.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

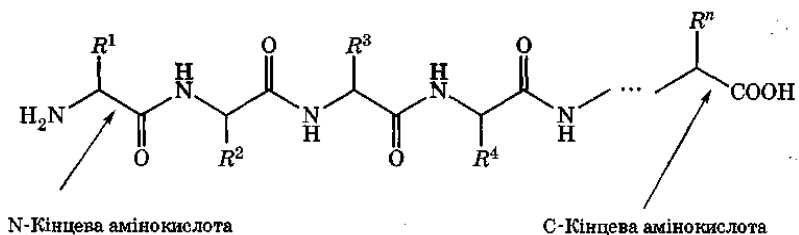
---

В організмі амінокислоти сполучаються між собою багато разів, збільшуючи кількість пептидних зв'язків і подовжуючи поліпептидний ланцюг аж до утворення білкової молекули.

### 3.3. Амінокислотний склад і амінокислотна послідовність

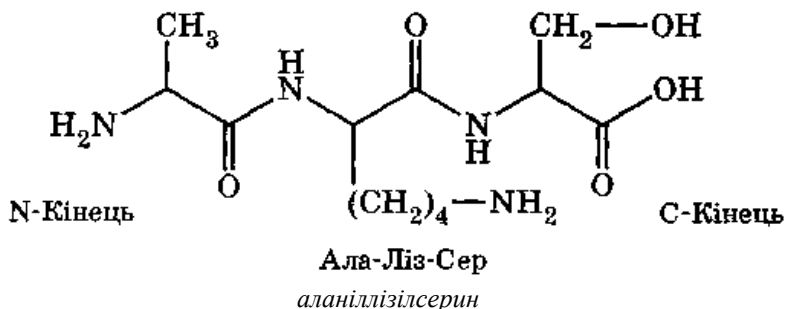
**Амінокислотний склад.** У кислому середовищі або за наявності ферментів довгі поліпептидні ланцюги білків поступово гідролізують з утворенням чимраз менших за розміром молекул (поліпептидів), які, у свою чергу, при подальшому гідролізі утворюють олігопептиди (тетра-, три- та дипептиди). Кінцевими продуктами гідролізу білків є амінокислоти. Отже, амінокислоти є ніби блоками, з яких побудовані гігантські молекули білків. Кожен білок має певний *амінокислотний склад*.

**Амінокислотна послідовність.** Як було зазначено, амінокислотні залишки в молекулах білків сполучені між собою за допомогою багатьох пептидних зв'язків, тобто вони мають поліпептидну природу. Скелет молекул усіх білків є постійним. У ньому чергуються пептидні зв'язки з СН-групами. Від СН-груп відходять розгалуження у вигляді різних радикалів. Таким чином, будову білків можна подати такою загальною структурною формулою:



Порядок розміщення амінокислот у молекулі білка називають *амінокислотною послідовністю*.

Для спрощеного позначення амінокислотної послідовності пептидів і білків використовують скорочені трилітерні назви амінокислот, що входять до їх складу. Амінокислоти перераховують по чергово, починаючи з N-кінцевої і закінчуючи C-кінцевою амінокислотою. Наприклад, трипептид, будову якого подано нижче, можна позначити як *Ала-Ліз-Сер*:



Амінокислотний склад і амінокислотна послідовність надзвичайно сильно впливають на біологічну дію пептидів і білків. Наприклад, гормони білкової природи – *окситоцин* і *вазопресин* відрізняються лише двома амінокислотами, проте така невелика відмінність у будові цих нонапептидів зумовлює специфічну дію кожного з них. Так, *окситоцин* міститься тільки в організмі жінок. Він спричинює скорочення непосмугованих м'язів, особливо м'язів матки, і застосовується в гінекології та акушерстві для стимуляції пологів. *Вазопресин* міститься як у жіночому, так і в чоловічому організмі. Він регулює обмін мінеральних сполук, зумовлюючи антидіуретичну дію. Вазопресин є також сильним стимулятором розумової діяльності:

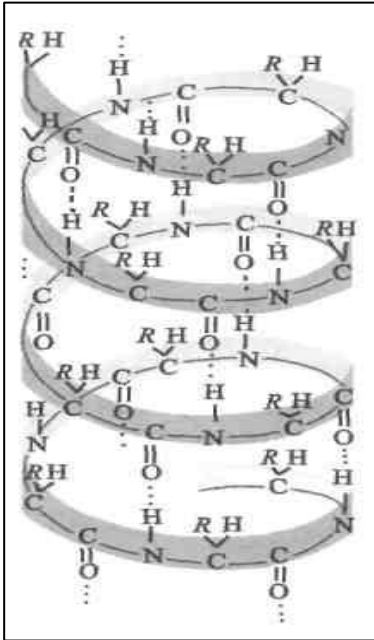


**Рис. 3.** Відмінність в амінокислотному складі двох нонапептидів (дві пари амінокислотних залишків, які різняться, позначені знаком «!»), що зумовлює специфічну дію кожного з них.

Порядок розміщення амінокислот умолекулах пептидів і білків, тобто амінокислотна послідовність, називається *первинною структурою*.

### 3.4. Структурна організація білків

Крім первинної структури пептиди і білки характеризуються більш високим рівнем організації їхньої будови, а саме: *вторинною, третинною*, а іноді й *четвертинною* структурами.



**Рис. 4.**  $\alpha$ -Спіральна конфігурація.

$\alpha$ -Спіраль – це *вторинна структура білка*. Проте на окремих ділянках макромолекули білка є й інші види вторинної структури, наприклад,  *$\beta$ -складчаста структура*. Вона стабілізується міжланцюговими водневими зв'язками. У створенні  $\beta$ -складчастої структури беруть участь два і більше поліпептидних ланцюгів (рис. 5).

**Вторинна структура.** Уявлення про амінокислотну послідовність не можуть повністю пояснити всіх властивостей білків, оскільки вони також залежать від розміщення поліпептидного ланцюга в просторі. Це розміщення значною мірою зумовлене особливостями будови пептидного зв'язку.

З кожним пептидним зв'язком каркас молекули білка все більше «закручується» і поступово набирає спіралеподібної форми. Найбільш стійкою є правозакручена спіраль, яку називають  $\alpha$ -спіраллю. Вона фіксується водневими зв'язками між атомом Оксигену карбонільної групи і атомом Гідрогену NH-групи (на рис. 4 водневі зв'язки зображені пунктирними лініями).



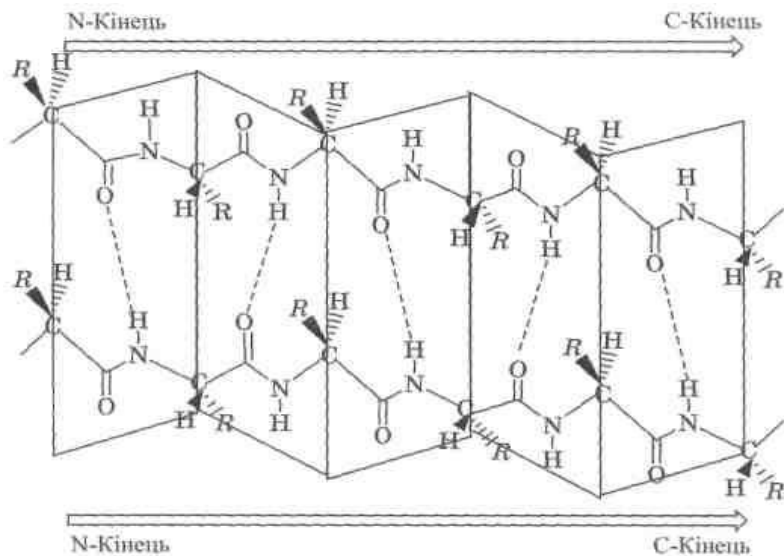


Рис. 5. Паралельна  $\beta$ -складчаста структура білка.

**Третинна структура.** Білки поділяють на дві великі групи – *фібрилярні* та *глобулярні*. До фібрилярних належать білки, в яких відношення довжини молекули до її ширини становить 10 і більше, тобто вони характеризуються молекулами видовженої форми.

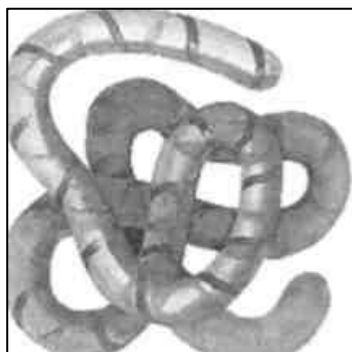
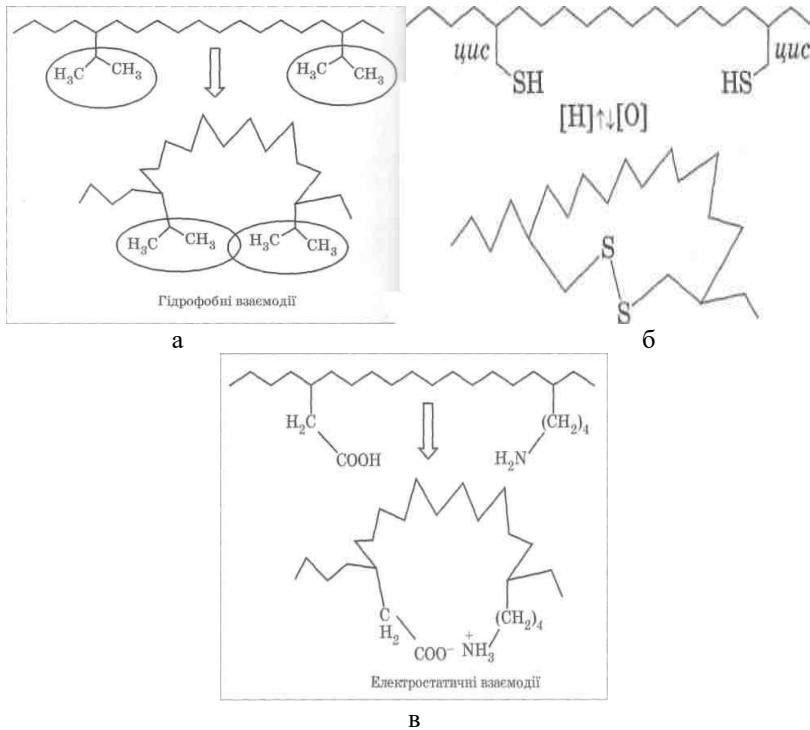


Рис. 6. Третинна структура білка

Для глобулярних білків це співвідношення становить менш як 10, тобто молекули глобулярних білків є клубкоподібними. Форми, яких набуває  $\alpha$ -спіраль чи  $\beta$ -складчата структура, називають *третинною структурою білка* (рис. 6).

Третинна структура фіксується водневими зв'язками, а також дисульфідними містками, силами гідрофобних та електростатичних взаємодій (рис. 7).

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**



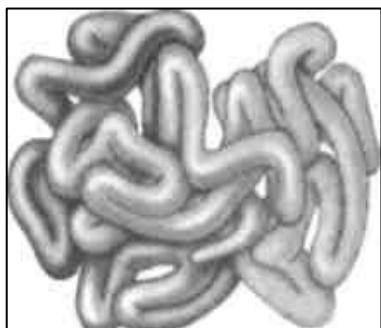
**Рис. 7.** Фактори стабілізації третинної структури білка: а) дисульфідними містками, б) силами гідрофобних та в) електростатичних взаємодій.

Дисульфідні зв'язки утворюються при окисненні в молекулі білка залишків цистеїну, надаючи поліпептидному ланцюгу клубкоподібної форми. Дисульфідний зв'язок міститься в молекулах згаданих вище гормонів окситоцину, вазопресину та багатьох інших білків.

Гідрофобні взаємодії виникають у результаті вандер-ваальсових сил притягання між вуглеводневими радикалами залишків амінокислот. Такою амінокислотою є, наприклад, валін, ізопропільні радикали якого мають ліпофільний (гідрофобний) характер і, притягуючись один до одного, формують третинну структуру білка.

Електростатичні взаємодії виникають за наявності в поліпептидному ланцюзі йоногенних амінокислот. До них належать кислі й основні амінокислоти, карбоксильні та аміногрупи яких реагують між собою, утворюючи біполярний йон. Протилежно заряджені частинки біполярного йона притягуються (йон-іонні взаємодії), надаючи поліпептидному ланцюгові певної форми.

**Четвертинна структура.** Деякі білки виявляють біологічну активність тільки в разі утворення макрокомплексу, що включав кілька білків з третинною структурою (рис. 8).



**Рис. 8.** Четвертинна структура білка

Це і є *четвертинною структурою білка*. Вона стабілізується тими самими факторами, що й третинні структура.

Прикладом білка, який має четвертинну будову, є *глобін*, що складається з 4 поліпептидних ланцюгів. За рахунок амінокислоти гістидину глобін координаційно сполучений з катіоном Феруму(II), який входить до складу тетрапірольної гетероциклічної системи – складової червоного пігменту крові – *гемоглобіну*.

Гемоглобін є переносником кисню з легень до тканин. Крім кисню, до катіону Феруму в молекулі гемоглобіну можуть приєднуватися й інші ліганди, наприклад CO (чадний газ). У цьому разі утворений комплекс є дуже стійким, унаслідок чого функція гемоглобіну блокується, що призводить до тяжких отруєнь і навіть до летального кінця.

Макроструктура білка є дуже «тендітною». Навіть у разі незначних змін умов білки втрачають свою нативність (природну макроструктуру). Втрату нативності білка називають *денатурацією*. Первинна структура білка при денатурації зберігається. Денатурацію білків можуть спричинити такі фактори, як зміна рН середовища (порушуються йон-іонні взаємодії), внесення окисників або відновників (утворюються чи руйнуються дисульфідні містки), речовин, які руйнують водневі зв'язки (наприклад, сечовина), поверхнево-активних речовин (порушують гідрофобні взаємодії), підвищення температури, ультрафіолетове випромінювання.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

Денатурований білок погано або зовсім не розчиняється у воді і втрачає біологічну активність.=

### **3.5. Класифікація білків**

Усі білки можна поділити на дві великі групи – *прості* (протеїни) та *складні* (протеїди).

Прості білки складаються лише з амінокислот, складні білки, крім поліпептидного ланцюга, містять небілкову частину, яку називають *простетичною* групою.

Залежно від природи простетичної групи складні білки поділяють на:

- нуклеопротеїни (простетична група – нуклеїнові кислоти);
- ліпопротеїни (простетична група – ліпіди);
- фосфопротеїни (простетична група – залишки фосфатної кислоти);
- металопротеїни (простетична група – катіони металів у поєднанні з деякими небілковими молекулами, наприклад, у гемоглобіні з порфіриновим ядром);
- хромопротеїни (простетична група – пігментна сполука);
- глікопротеїди (простетична група – вуглеводи).

### **3.6. Агрегативна стійкість білків**

Важливою властивістю білків є їх розчинність у воді та у водно-солевих розчинах. Завдяки великим розмірам молекул білки утворюють у воді колоїдні розчини, стійкість яких залежить від наявності на поверхні білка певного електричного заряду та гідратних оболонок. Знак та величина заряду поверхні зумовлені перевагою в структурі карбоксильних (кислотних) або аміно- (основних) груп. При певному значенні рН середовища ці кислотні та лужні групи нейтралізуються, молекула стає нейтральною і не стабільною. Ця величина рН реакції є *ізоелектричною точкою* білка.

При руйнуванні гідратних оболонок навколо білкових молекул (при дії водовіднімаючих речовин: концентрованих розчинів солей лужних металів, ацетону, спирту та ін.) розчинність білків знижується, вони випадають в осад, йде руйнування колоїдної системи з можливістю подальшої денатурації.

При нагріванні білки зсідуються, утворюються осадки, які неспроможні до зворотного розчинення. В основі такого незворотного явища – денатурації білка, лежить руйнування його вторинної, третинної та четв'ячної структур. Для різних білків температура їх коагуляції

неоднакова. Деякі білки коагулюють при 50...55°C, а інші можуть витримувати нетривале кип'ятіння.

Механізм температурної коагуляції та денатурації білків пов'язаний з перебудовою структури макромолекул білка, зокрема колоїдні частинки білка під впливом підвищеної температури з гідрофільних стають гідрофобними. Відбувається глибока та незворотна зміна вторинної та первинної будови молекул білка. Швидкість коагуляції залежить від присутності в розчині іонів солей та іонів гідрогену.

У дуже кислих та лужних розчинах білки не випадають в осад при нагріванні. При додаванні до кислих розчинів білків нейтральних солей можлива коагуляція.

Під впливом розведених розчинів солей, що вміщують невелику кількість катіонів важких металів ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  та ін.) розчини білків незворотно коагулюють. Іони солей важких металів з білками утворюють міцні комплексні сполуки, які за рахунок значних сил міжмолекулярної взаємодії утворюють у дисперсійному середовищі просторові сітки чи каркаси (структури).

При надлишку плюмбум (II) ацетату –  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , купрум (II) сульфату –  $\text{CuSO}_4$  спостерігається розчинність утвореного ними осаду. Таке явище можна пояснити адсорбцією надлишку іонів металу та перезарядженням білкового комплексу. Але це явище ніяким чином не пов'язане з відновленням природної структури білку.

Більшість органічних розчинників (спирт, ацетон, етер, хлороформ) осаджують білки з нейтральних і слабкокислих розчинів. Дія органічних розчинників полягає у зв'язуванні молекул води й дегідратації частинок білка, а також у зменшенні діелектричної сталої водних розчинів та іонізації білків, внаслідок чого знижується їх стійкість у розчинах. Якщо в розчині білка є солі, то осад утворюється швидше й повніше. Іони солі зв'язуються колоїдними частинками білка й зменшують їх заряд, що ще більше знижує стійкість білка в розчині. Коли осадження проводити на холоді й одержаний осад швидко відокремити від спирту, то білок може бути знову розчинений у воді. При тривалому перебуванні в спирті відбувається денатурація білка.

#### **4. Методи виділення та фракціонування білків**

Виділення індивідуальних білків із тканин, клітин та біологічних рідин живих організмів (тварин, рослин, бактерій, сироватки крові людини) є розповсюдженою біохімічною та біотехнологічною

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

процедурою, що широко застосовується з метою отримання лікарських засобів (гормонів, ферментів, інтерферонів).

#### **4.1. Виділення білків**

Для виділення білків із біологічних об'єктів найчастіше використовують їх екстрагування за допомогою різних розчинників, вибір яких залежить від фізико-хімічних властивостей білка або групи білків, яку потрібно отримати.

У разі необхідності одержання білків, які локалізовані в певних субклітинних органелах та зв'язані з біоструктурами (мембранами, ядерним хроматином тощо), процедура виділення білка включає в себе:

- руйнування тканинних та клітинних структур (гомогенізація тканини, механічне розтирання, осмотичний шок);
- диференційне центрифугування тканинних гомогенатів із метою отримання ізольованих фракцій ядер, мітохондрій, мембран ендоплазматичного ретикулулу, лізосом тощо;
- переведення білків субклітинних фракцій у розчинний стан шляхом обробки біоструктур детергентами або сольовими розчинниками;
- осадження білків шляхом висолювання або застосування таких дегідратуючих реагентів, як етанол, ацетон.

#### **4.2. Фракціонування білків**

Результатом зазначених біохімічних процедур є, як правило, отримання екстрактів, в яких міститься значна кількість різних білків та небілкових компонентів. Тому наступним етапом виділення індивідуальних білків є фракціонування білкових сумішей, яке здійснюється на основі відмінностей у фізико-хімічних властивостях індивідуальних білків (молекулярній масі, заряді, розчинності, хімічній та біохімічній активності). Ці ж методи дозволяють проводити визначення і відповідних фізико-хімічних параметрів певних білкових молекул.

#### **4.3. Методи фракціонування:**

*Методи, що базуються на відмінностях у молекулярній масі білків:*

- метод ультрацентрифугування (седиментаційного аналізу). Метод ґрунтується на застосуванні швидкісних ультрацентрифуг, за допомогою яких білкові молекули (або інші високомолекулярні сполуки) зазнають дії центробіжного прискорення, що в сотні тисяч разів перевищує прискорення земного тяжіння (100 000-500 000 g). Внаслідок дії значної центробіжної сили, макромолекули осідають (седиментують) зі швидкістю, яка залежить від їх розмірів та молекулярної маси.

● метод гелі-фільтрації (гелі-хроматографії). В основу методу покладено відмінності в швидкостях проходження (фільтрації) білкових молекул, що відрізняються молекулярними масами, через спеціальні гелі, які відіграють роль молекулярних сит. Швидкість проходження різних молекул через молекулярні сита зворотно пропорційна їх розмірам та молекулярним масам.

*Методи, що базуються на відмінностях у кислотно-основних властивостях білків.*

Амфійонні властивості білків дозволяють здійснювати їх фракціонування методами іонообмінної хроматографії та електрофорезу. Метод іонообмінної хроматографії базується на здатності заряджених молекул білків вибірково зв'язуватися за допомогою іонного обміну з певними ділянками іонообмінників. Фракціонування компонентів білкових сумішей досягається шляхом пропускання буферних розчинів білків при різних значеннях рН через хроматографічні колонки, що містять катіоно- або аніонообмінники.

*Методи, що базуються на відмінностях у біохімічній активності індивідуальних білків.*

Ця група методів ґрунтується на використанні різної спорідненості природних білків до певних хімічних лігандів, з якими окремі білкові молекули активно взаємодіють у живих організмах – хроматографія за спорідненістю, або афінна хроматографія. Для реалізації методу афінної хроматографії суміш білків пропускають через хроматографічну колонку, що містить природні ліганди для білка, який потрібно виділити зі складної біологічної суміші. Наприклад, для виділення ферментів застосовують їх специфічне зв'язування із субстратами, гормонів – із рецепторами, імуноглобулінів – із відповідними антигенами.

## **II. Практична частина**

### ***2.1. Правила роботи в біохімічній лабораторії.***

1. На першому занятті слід досконало вивчити інструкцію ОП та ТБ під час практичних занять в навчальній біохімічній лабораторії (додаток 1).

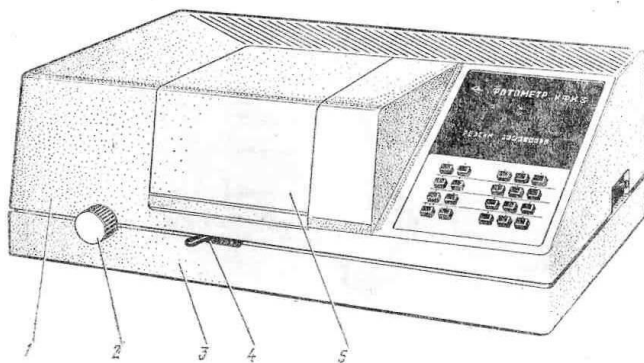
2. Лабораторні дослідження на кожному занятті розпочинати після інструктажу викладача, суворо дотримуючись методики (алгоритму) досліджень.

3. Дотримуватися інструкцій до роботи на приладах і обладнанні.

● ***Порядок роботи на фотометрі фотоелектричному КФК-3.***

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---



1. Колориметр ввікнути в мережу. Включити тумблер «Сеть» (Мережа) за 30 хв. до початку вимірювань. Під час прогрівання кюветне відділення повинне бути відкритим.

2. Натиснути клавішу «Пуск». На цифровому табло (нижній рядок) з'явиться символ «Г», на верхньому рядку – певне значення довжини хвилі.

3. Установити рукояткою 2 значення довжини хвилі, на якій буде здійснюватися вимірювання.

4. Заповнити кювети контрольним та досліджуваным розчинами  $\approx$  на  $3/4 \dots 4/5$  об'єму кювети.

5. Установити в кюветне відділення кювети з контрольним розчином (віддалене гніздо кюветотримача) і досліджуваным розчином (ближнє гніздо).

6. Рукояткою 4 (вліво до упору) установити в світловий пучок кювету з контрольним розчином.

7. Закрити кришку кюветного відділення й натиснути клавішу «Г». Потім натиснути або клавішу «П» (для виміру коефіцієнта світлопропускання), або «Е» (для виміру оптичної щільності). Відповідно цьому на цифровому табло повинні з'явитися початкові величини або пропускання « $100 \pm 0,2$ » або оптичні щільності « $0,000 \pm 0,002$ », що відповідає нормі.

8. Відкрити кришку кюветного відділення й натиснути клавішу «Нуль». Закрити кришку, натиснути або клавішу «П» (вимір коефіцієнта світлопропускання), або «Е» (вимір оптичної щільності).

9. При закритій кришці рукояткою 4 (вправо до упору) ввести у світловий пучок кювету з досліджуваным розчином. Відлік на світловому



табло праворуч від миготливої коми відповідає або коефіцієнту світлопропускання, або оптичній щільності розчину.

10. Повторити операцію по п.п. 6...9 три рази, обчислити середнє арифметичне вимірюваної величини для певного досліджуваного розчину.

11. Вимірювання всіх досліджуваних розчинів здійснити за п.п. 4...10, при цьому замінюють кювети з досліджуваними розчинами, кювету з контрольним розчином з віддаленого гнізда виймати не слід.

12. Видалити з кюветного відділення кювети. Вимкнути прилад з мережі.

• **Порядок роботи з використанням лабораторної водяної бані MICROMed марки ВБ-10.**

1. Рівень води у бані повинен бути в межах 1/3...2/3 його об'єму.

2. Занурити в баню штатив з посудом, якій заповнений рідиною, що термостатуються.

3. Баню ввімкнути в електричну мережу. Включити тумблер «POWER». На електронному табло з'являється значення реальної температури води у бані.

4. Натиснути кнопку «SET». Натисканням на кнопки «▲» або «▼» задати необхідну температуру. Після чого ще раз однократно натиснути на кнопку «SET». Вмикається індикатор «OUT», що свідчить про нагрів води. На електронному табло постійно відображається рівень підвищення температури.

5. При досягненні заданого значення нагрів припиняється, індикатор «OUT» відключається. Протягом термостатування це може періодично повторюватись для підтримки стабільності температури.

5. Після закінчення термообробки розчинів вимкнути тумблер «POWER», і тільки після цього виймати штатив з посудом.

6. Від'єднати прилад від електричної мережі.

## **2.2. Алгоритм лабораторної роботи № 1**

**Дослідження властивостей протейногенних амінокислот та білків.**

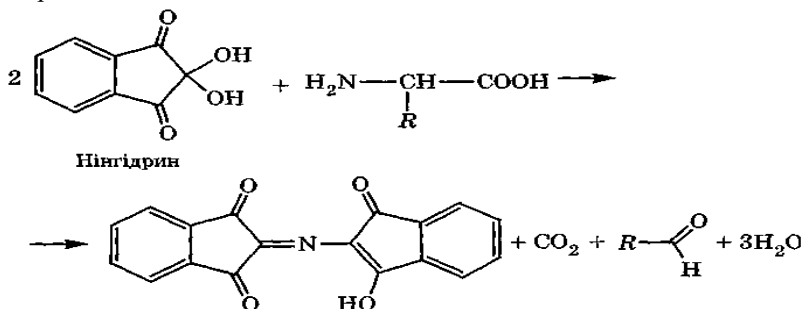
**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, пробірка з газовідвідною трубкою, спиртівка, піпетки, сірники, пробіркодержач, ступка з товкачиком, водяна баня, 10%-й розчин NaOH, 40%-й розчин формальдегіду, 1%-й розчин AgNO<sub>3</sub>, 2%-й розчин CuSO<sub>4</sub>, 96%-й розчин C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 2%-й розчин NH<sub>4</sub>OH, білок, розчин I<sub>2</sub> в KI, ацетон.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

**Принципи методів.**

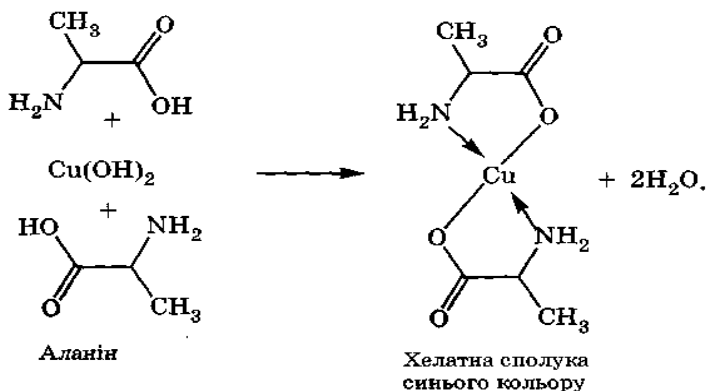
• **Нінгідринова реакція на амінокислоти та білки.** Усі  $\alpha$ -амінокислоти утворюють з нінгідрином сполуку, забарвлену в синьо-фіолетовий колір:



Сполука синьо-фіолетового кольору

Інші амінокислоти ( $\beta$ -,  $\gamma$ -) цієї реакції не дають.

• **Реакція  $\alpha$ -амінокислот з  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ .** Усі  $\alpha$ -амінокислоти утворюють зі свіжоосадженим  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  хелатні сполуки купруму(II) синього кольору:



• **Біуретова реакція.** При доливанні до розчину білку свіжоосадженого  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  утворюється фіолетове забарвлення. Цю реакцію дають сполуки, що містять два і більше пептидних зв'язків.

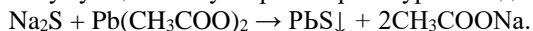
• **Ксантопротеїнова реакція.** При дії на білки концентрованої нітратної кислоти виникає жовте забарвлення, яке при додаванні луку

переходить у помаранчеве. Виникнення жовтого забарвлення зумовлене утворенням нітропохідних за рахунок ароматичних амінокислот.

● *Осадження солями важких металів.* При додаванні до розчинів білку розчинів  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_3$  та ін. утворюються осаді різного кольору.

● *Цистинова реакція.* При кип'ятінні білка в невеликій кількості розчину луку і наступному доливанні розчину ацетату плюмбуму утворюється осад чорнобурого кольору.

Реакція зумовлена наявністю сульфуровмісних амінокислот цистеїну і цистину, які при кип'ятінні з лугом утворюють  $\text{Na}_2\text{S}$ . Останній з плюмбуму ацетатом утворює чорно-бурий осад плюмбум сульфіді:



**Порядок виконання роботи:**

**1. Якісні реакції на амінокислоти та білки.**

**Дослід 1.1.** Виконання реакції з нінгідрином на аміногрупу:

а) у пробірку внести 1...2 мл 0,01%-ого водного розчину гліцину, 2 мл 1%-ого розчину нінгідрину, все перемішати і нагріти. Якого кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження;

б) у пробірку внести 1...2 мл 1%-ого водного розчину яєчного білку, 2 мл 1%-ого розчину нінгідрину, все перемішати і нагріти. Якого кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження

**Дослід 1.2.** Виконання реакції з  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  (*біуретова реакція* на пептидні зв'язки):

а) у пробірку внести 1...2 мл 0,01%-ого водного розчину гліцину, 2...3 мл 30%-ого розчину  $\text{NaOH}$  та 1...2 краплі 1%-ого розчину  $\text{CuSO}_4$ , все перемішати. Якого кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження;

б) У колбу внести 1...2 мл 1%-ого розчину яєчного білку, 2...3 мл 30%-ого розчину  $\text{NaOH}$  та 1...2 краплі 1%-ого розчину  $\text{CuSO}_4$ , все перемішати. Якого кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження.

**Дослід 1.3.** Виконання *ксантопротеїнової реакції* на ароматичну структуру білків: у пробірку внести 1...2 мл 1%-ого водного розчину яєчного білку, 0,5 мл насиченої нітратної кислоти, прокип'ятити 30с. До утвореного осаду додати 2...3 мл 30%-ого розчину  $\text{NaOH}$ . Якого

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження;

**2. Реакції осадження білків**

**Дослід 2.1.** Осадження білків кип'ятінням.

У 5 пробірок налити по 2 мл розчину яєчного білка. Нагріти вміст першої пробірки. Спостерігати поступове випадіння білка в осад.

У другу пробірку додати одну краплю 1%-ої ацетатної кислоти та нагріти. Осад білка випадає швидше й повніше, оскільки білок у цьому випадку знаходиться в ізоелектричній точці.

У третю пробірку додати 0,5 мл 10%-ої ацетатної кислоти та нагріти. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

У четверту пробірку додати 0,5 мл 10%-ої ацетатної кислоти та 3...4 краплі насиченого розчину натрій хлориду та нагріти. Утворюється осад білка.

В п'яту пробірку додати 0,5 мл 10%-ого NaOH та нагріти. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

Результати спостережень занести до табл. 2. Зробити висновки та заповнити таблицю.

Таблиця 2

**Результати осадження білків кип'ятінням.**

Нейтральне середовище	Слабко-кисле середовище (1%-ний розчин $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	Кисле середовище (10%-ний розчин $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	Кисле середовище + сіль (10%-ний розчин $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaCl}$ )	Лужне середовище (10%-ний розчин NaOH)

**Дослід 2.2.** Осадження білків іонами важких металів.

У три пробірки налити по 1...2 мл розчину яєчного білка. Додати по краплям: у першу – 1%-ий розчин плумбум(II) ацетату  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , у другу – 1%-ий розчин купрум(II) сульфату  $\text{CuSO}_4$ , у третю – 1%-ий розчин аргентум нітрату  $\text{AgNO}_3$ . Записати спостереження.

У пробірку з осадами від плумбум (II) ацетату і купрум (II) сульфату додати надлишок цих солей. Спостерігати при цьому розчинність осадів. Зробити висновок та записати свої спостереження.

**Дослід 2.3.** Осадження білків органічними розчинниками.

У пробірку налити 2...3 мл 1%-ого розчину яєчного білка 1 мл спирту, струсити. Розділити вміст пробірки надвоє. Додати до пробірки першої надлишок води до другої декілька крапель NaCl. Записати спостереження та зробити висновок.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

### **2.3. Алгоритм лабораторної роботи № 2**

**Кількісне визначення білку сироватки крові біуретовим методом.**

**Принцип методу.** Одним із методів кількісного визначення загального білку сироватки крові є біуретовий метод, який заснований на здатності пептидних зв'язків, що є основою первинної структури білків, утворювати з іонами купруму у лужному середовищі комплексні сполуки фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту білка в розчині.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, ФЕК, кювети товщиною 1 см, 10%-й стандартний розчин альбуміну сироватки крові, досліджувана сироватка, 0,9% розчин натрію хлориду, біуретовий реактив.

**Порядок виконання роботи.** У пробірку налити 0,1 мл досліджуваної сироватки, в іншу (контрольну) – 0,1 мл 0,9% розчину натрію хлориду. В обидві пробірки додати по 5,0 мл біуретового реактиву (іони  $\text{Cu}^{2+}$  в лужному середовищі). Вміст обох пробірок перемішати. Через 30 хв виміряти екстинкцію досліджуваного розчину на ФЕК у кюветі товщиною 1 см при довжині хвилі 540...560 нм (зелений світлофільтр) проти контрольного розчину.

Вміст білку в сироватці крові (г/л) знайти за калібрувальним графіком, який побудований із задалегідь відомими концентраціями стандартного білка і виражає залежність між кількістю білку в крові та оптичною щільністю (екстинкцією) забарвленого розчину.

### **Побудова калібрувального графіка.**

Для цього застосовують стандартний білок – альбумін сироватки крові. З 10%-го стандартного розчину альбуміну у чотирьох пронумерованих пробірках готують розчини білку певних концентрацій, як показано в таблиці 3.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

---

Таблиця 3

**Вміст компонентів у розчинах для побудови калібрувального графіку.**

<b>№ пробірки</b>	<b>Стандартний 10% р-н альбуміну, мл</b>	<b>0,9% розчин натрію хлориду, мл</b>	<b>Концентрація білку, г/л</b>
<b>1</b>	0,4	0,6	40
<b>2</b>	0,6	0,4	60
<b>3</b>	0,8	0,2	80
<b>4</b>	1,0	–	100

Послідовно з кожної пробірки відбирають 0,1 мл розчину, переносять до чистої пробірки і додають до неї 5,0 мл біуретового реактиву. Через 30 хв. вимірюють екстинкцію на ФЕК проти контрольного розчину (0,1 мл 0,9% розчину натрію хлориду і 5 мл біуретового реактиву).

На підставі отриманих даних будують графік у координатах: концентрація білку, г/л (вісь абсцис) – екстинкція (вісь ординат).

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Сироватка крові містить суміш білків, різних за фізіологічним значенням, структурою та фізико-хімічними властивостями. У нормі вміст білку у сироватці крові знаходиться у межах 65...80 г/л, у дітей віком до 6 місяців 48...56 г/л.

Відхилення вмісту білка в сироватці від норми може свідчити про певні порушення. Зниження вмісту білка (гіпопротеїнемія) може спостерігатися при втратах білка (кровотечі, хвороби нирок), при білковому голодуванні або при зниженні біосинтезу білка в результаті різних захворювань (інтоксикації, злоякісних новоутворень, хронічних захворювань). Підвищений вміст білку (гіперпротеїнемія) спостерігається значно рідше і має місце при згущенні крові через значну втрату рідини (тривала блювота, опікова хвороба, діарея) або при спадкових захворюваннях – парапротеїнеміях.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

### III. Питання для самопідготовки

#### 3.1. Розкрити питання.

1. Назвати біологічні функції білків.
2. Які речовини утворюються при гідролізі білків?
3. Схарактеризуйте будову, класифікацію та властивості протеїногенних кислот.
4. Чому амінокислоти мають амфотерні властивості?
5. Які основні фізико-хімічні властивості білків?
6. Що таке пептидний зв'язок? Реакції утворення пептидів.
7. Амінокислотний склад білків. Його вплив на біологічну дію.
8. Первинна структура білків; N- та C-кінцеві амінокислоти.
9. Структурна організація білків. Вторинна, третинна й четвертинна структури білків.
10. Фактори, що стабілізують третинну структуру білкової молекули. Альбуміни й глобуліни.
11. Що таке денатурація білка? Чим вона може бути зумовлена?
12. Класифікація білків. Протеїни і протеїди. Біологічні функції білків.
13. Напишіть схеми реакцій синтезу (ди-), трипептидів із відповідних амінокислот, згідно наданого завдання.

#### 3.2. Розв'язати ситуаційні завдання

**Завдання 1.** У чому полягає принцип біуретової реакції? Порівняйте інтенсивність забарвлення двох розчинів, що вміщують по однаковій кількості молекул: у першому – альбуміну ( $M_r = 64000$  D), у другому – імуноглобуліну G ( $M_r = 175000$  D), якого вони набуватимуть при додаванні до них біуретового реактиву.

**Завдання 2.** Зробіть висновки щодо амінокислотного складу досліджуваного пептиду на підставі наступних експериментальних даних:

- пептид не має електрофоретичної рухливості у лужному середовищі (рН 9,8);
- при електрофорезі у кислому середовищі (рН 5,6) рухається до катода;
- не дає жовтого забарвлення при обробці насиченою нітратною кислотою (ксантопротеїнова проба негативна).

**Завдання 3.** Багато патологічних станів можуть супроводжуватися зміною рН сечі. Наприклад, для циститу характерна лужна реакція сечі. Поясніть, чому при аналізі сечі на вміст білка, зокрема при осадженні

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

кип'ятінням білків, необхідно контролювати рН і, якщо необхідно, доводити його до слабокислої реакції?

**3.3. Відповісти на тестові питання**

1. До числа найважливіших фізико-хімічних властивостей білків відносять денатурацію, яка характеризується:

- A. Втратою білковою молекулою її нативної конформації.
- B. Таким значенням рН, при якому білок є електронейтральним.
- C. Руйнуванням пептидних зв'язків.
- D. Утворенням дисульфідних зв'язків.
- E. Всім перерахованим.

2. При альбінізмі в організмі не відбувається утворення пігменту меланіну. З порушенням метаболізму якої амінокислоти пов'язано виникнення цього захворювання?

- A. Аспарагін.
- B. Метіонін.
- C. Аланін.
- D. Глутамін.
- E. Фенілаланін.

3. Хворому призначено аналіз білкових фракцій крові. У зв'язку з тим у лабораторії був використаний метод електрофорезу. Яка властивість білків дає змогу застосовувати даний метод?

- A. Висока в'язкість.
- B. Здатність до набухання.
- C. Оптична активність.
- D. Високий онкотичний тиск.
- E. Наявність електричного заряду.

4. До лікаря звернувся пацієнт зі скаргами на сонячні опіки, зниження гостроти зору. Волосся, шкіра і очі не мають пігментації. Встановлений діагноз – альбінізм. Дефіцит якого ферменту має місце у пацієнта?

- A. Карбоангідраза.
- B. Аргіназа.
- C. Тирозиназа.
- D. Гістидиндекарбоксілаза.
- E. Гексокіназа.



5. З біологічної рідини висолюванням виділили білок, який буде використаний для лікування. Яким методом можна очистити його від низькомолекулярних домішок?

- A. Денатурацією.
- B. Діалізом.
- C. Висолюванням.
- D. Електрофорезом.
- E. Секвенцією.

6. У результаті гідроксилювання триптофану з участю триптофан-5-монооксигенази утворюється...

- A. Гістамін.
- B. Серотонін.
- C. Дофамін.
- D. Меланін.
- E. Адреналін.

7. У піддослідних тварин, що тривалий час перебували на безбілкової дієті, порушилась більшість метаболічних процесів через дефіцит незамінних амінокислот. Яка з наведених амінокислот належить до незамінних?

- A. Фенілаланін.
- B. Пролін.
- C. Аланін.
- D. Гліцин.
- C. Серин.

8. У клініці для парентерального білкового харчування використовують гідролізат білків. Амінокислоти, які входять до складу такого гідролізату, були розділені за допомогою хроматографії на папері на кислі й основні. Яка з наведених амінокислот є кислотою?

- A. Гліцин.
- B. Треонін.
- C. Валін.
- D. Аспаргат.
- E. Лізин.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

9. Біохімічна функція глутатіону в організмі пов'язана з відновленням і детоксикацією органічних пероксидів. При взаємодії глутатіону з гідропероксидами утворюються нешкідливі органічні спирти, що зазнають подальшого окиснення. Яка амінокислота входить до складу глутатіону?

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

10. Для виявлення та кількісного визначення амінокислот у біологічних середовищах застосовують реакцію...

- A. Нінгідрінову.
- B. Ксантопротеїнову.
- C. Сакагучі.
- D. Біуретову.
- E. Фоля.

11. У хворого швидко розвиваються набряки. Зниження вмісту яких білків сироватки крові призводить до їх появи?

- A.  $\alpha_2$ -Глобулінів.
- B.  $\alpha_1$ -Глобулінів.
- C. Альбумінів.
- D.  $\beta$ -Глобулінів.
- E. Фібриногену.

12. У піддослідних тварин, які тривалий час перебували на безбілкової дієті, розвинулось жирове переродження печінки, зокрема через дефіцит метилюючих агентів. Яка амінокислота є донором метильних радикалів?

- A. Фенілаланін.
- B. Метіонін.
- C. Аргінін.
- D. Цистеїн.
- E. Лізин.

13. У клініці для парентерального білкового харчування використовують гідролізат білків. Амінокислоти, які входять до складу такого гідролізату, були розділені за допомогою хроматографії на папері на кислоти й основні. Яка з наведених амінокислот є кислотою?

- A. Серин.
- B. Гліцин.
- C. Треонін.
- D. Лізин.
- E. Аспарат.

14. Трипсин виділяється в просвіт дванадцятипалої кишки в неактивному стані. Яка з перелічених речовин є активатором трипсिनогену?

- A. Ентерокиназа.
- B. Хімотрипсин.
- C. Жовчні кислоти.
- D. Карбоангідраза.
- E. Карбоксиполіпептидаз.

15. У новонародженої дитини на пелюшках виявлені темні плями, що свідчать про утворення гомогейтизинової кислоти. З порушенням обміну якої речовини це пов'язане?

Nappies of a newborn have dark spots that witness of formation of homogentisic acid. Metabolic imbalance of which substance is it connected with?

- A. Cholesterol.
- B. Galactose.
- C. Methionine.
- D. Tyrosine.
- E. Tryptophane.

16. Госпіталізовано хворого з діагнозом карциноїд кишечника. Аналіз виявив підвищену продукцію серотоніну. Відомо, що ця речовина утворюється з амінокислоти триптофану. Який біохімічний механізм лежить в основі даного процесу?

A patient diagnosed with carcinoid of bowels was admitted to the hospital. Analysis revealed high production of serotonin. It is known that this substance is formed of tryptophane amino acid. What biochemical mechanism underlies this process?

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

- A. Deamination.
- B. Decarboxylation.
- C. Microsomal oxidation.
- D. Transamination.
- E. Formation of paired compounds.

17. У дитини 1,5 років спостерігається відставання в розумовому і фізичному розвитку, посвітління шкіри і волосся, зниження вмісту в крові катехоламінів. При додаванні до свіжої сечі декількох крапель 5% розчину трихлороцтового заліза з'являється оливково-зелене забарвлення. Для якої патології обміну амінокислот характерні дані зміїні?

A 1,5-year-old child presents with both mental and physical lag, decolorizing of skin and hair, decrease in catecholamine concentration in blood. When a few drops of 5% solution of trichloroacetic iron had been added to the child's urine it turned olive green. Such alteration are typical for the following pathology of the amino acid metabolism:

- A. Tyrosinosis.
- B. Alkaptonuria.
- C. Phenylketonuria.
- D. Albinism.
- E. Xanthinuria.

18. У новонародженій дитини спостерігаються зниження інтенсивності смоктання, часте блювання, гіпотонія. У сечі та крові значно підвищена концентрація цитруліну. Який метаболічний процес порушений?

A newborn child was found to have reduced intensity of sucking, frequent vomiting, hypotonia. Urine and blood exhibit increased concentration of citrulline. What metabolic process is disturbed?

- A. Gluconeogenesis.
- B. Tricarboxylic acid cycle (TCA).
- C. Glycolysis.
- D. Ornithine cycle.
- E. Cori cycle.

19. В сечі новонародженого визначається цитрулін та високий рівень амоніаку. Вкажіть, утворення якої речовини, найімовірніше, порушене у цього малюка:

A citrulline and a high level of ammonia are determined in the urine of a newborn child. The formation of what substance is the most credible to be disturbed?

- A. Creatinine.
- B. Uric acid.
- C. Ammonia.
- D. Urea.
- E. Creatine.

20. У новонародженої дитини у шлунку відбувається «звурджування» молока, тобто перетворення розчинних білків молока казеїнів у нерозчинні – параказеїни за участю іонів кальцію і ферменту. Який фермент приймає участь у цьому процесі ?

A newborn child suffers from milk curdling in stomach, this means that soluble milk proteins (caseins) transform to insoluble proteins (paracaseins) by means of calcium ions and a certain enzyme. What enzyme takes part in this process?

- A. Secretin.
- B. Pepsin.
- C. Gastrin.
- D. Renin.
- E. Lipase.

21. В лікарню швидкої допомоги доставили дитину 7 років в стані алергічного шоку, який розвинувся після укусу оси. В крові підвищена концентрація гістаміну. В результаті якої реакції утворюється цей амін?

A 7-year-old child was delivered to an emergency ward in the condition of allergic shock caused by a bee sting. High concentration of histamine is observed in the blood. Production of this amine is the result of the following reaction:

- A. Decarboxylation.
- B. Hydroxylation.
- C. Dehydrogenation.
- D. Deamination.
- E. Reduction.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

22. У юнака 19 років явні ознаки депігментації шкіри, обумовленої порушенням синтезу меланіну. Вкажіть порушенням обміну якої амінокислоти це викликано?

The signs of skin depigmentation of a 19-year-old patient are caused by the disorder of melanin synthesis. The disturbance of the metabolism of what amino acid is it caused by?

- A. Lysine.
- B. Tryptophan.
- C. Histidine.
- D. Proline.
- E. Tyrosine.

23. При повторній дії ультрафіолетових променів шкіра темнішає внаслідок синтезу в ній меланіну, що захищає клітини від пошкодження. Основним механізмом включення цього захисту є:

Under the repeated action of ultraviolet rays, skin darkens because of the synthesis of melanin which protects cells from damage. The principal mechanism of this defence reaction is:

- A. Activation of homogentisate oxidase.
- B. Inhibition of tyrosinase.
- C. Activation of tyrosinase.
- D. Inhibition of homogentisate oxidase.
- E. Inhibition of phenylalanine hydroxylase.

24. До лікаря звернувся пацієнт зі скаргами на головокружіння, погіршення пам'яті, періодичні судоми. Встановлено, що причиною таких змін є продукт декарбоксилювання глютамінової кислоти. Назвіть його:

A patient complained about dizziness, memory impairment, periodical convulsions. It was revealed that these changes were caused by a product of decarboxylation of glutamic acid. Name this product:

- A. Pyridoxal phosphate.
- B. GABA.
- C. TDP.
- D. ATP.
- E. THFA.

25. Під час голодування м'язові білки розпадаються до вільних амінокислот. В який процес найбільш вірогідніше будуть втягуватися ці сполуки за таких умов?

During starvation muscle proteins break up into free amino acids. These compounds will be the most probably involved into the following process:

- A. Decarboxylation.
- B. Gluconeogenesis in muscles.
- C. Synthesis of higher fatty acids.
- D. Glycogenolysis.
- E. Gluconeogenesis in liver.

## Практичне заняття № 2

### **ТЕМА: ФЕРМЕНТИ: БУДОВА, НОМЕНКЛАТУРА, КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ**

**Навчальна мета:** дослідити, узагальнити і поглибити знання про ферменти – біологічні каталізатори реакцій обміну речовин, дослідити білкову природу ферментів, що обумовлює їх високу лабільність в залежності від багатьох факторів. Вивчити фізико-хімічні властивості білків-ферментів.

**Знати:** засвоїти принципи організації та загальні властивості ферментів, їх функції, структуру та хімічний склад. Класифікацію та номенклатуру ферментів.

**Вміти:** пояснювати хімічну природу ферментів та їх властивості як біокаталізаторів; трактувати біохімічні закономірності будови та функціонування різних класів ферментів; аналізувати фізико-хімічні властивості білків-ферментів.

Таблиця 1

#### **План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття**

<b>Основні напрями теми</b>	<b>Зміст та послідовність розгляду питань</b>	
<b>Опанування теоретичних питань</b>	<b>Джерело</b>	
1. Ферменти як біологічні каталізатори реакцій обміну речовин.	1.1. Фізико-хімічні властивості білків-ферментів. 1.2. Властивості ферментів як біологічних каталізаторів 1.3. Термодинамічна стабільність білкових молекул ферментів; денатурація.	[1] 23–33, [2] 86–97, [3] 109-121 [5] – №2.
2. Будова ферментних білків. Прості і складні ферменти.	2.1. Апофермент, кофермент (простетична група). Олігомерні білки-ферменти, мультиензимні комплекси. 2.2. Докази білкової природи ферментів	[1] 23–33, [2] 86–97, [3] 109-121 [5] – №2.



3. Міжнародна класифікація та номенклатура ферментів за типом реакцій.	3.1. Пояснити принцип міжнародної класифікації і номенклатури ферментів. 3.2. Назвати шість класів ферментів та пояснити типи реакцій, які каталізуються ними.	[1] 23–33, [2] 86–97, [3] 109-121 [5] – №2.
4. Властивості ферментів.	4.1. Залежність активності ферменту від температури (термолабільність). 4.2. Вплив рН середовища на швидкість ферментативної реакції. 4.3. Специфічність дії ферментів.	[1] 23–33, [2] 86–97, [3] 109-121 [5] – №2.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення фізико-хімічних властивостей білків-ферментів.	1.1. Довести білкову природу ферментів біуретовою реакцією, реакцією Фоля. Пояснити принципи методу. 1.2. Пояснити термолабільність ферментів на прикладі визначення активності амілази слини, яка попередньо нагріта або охолоджена та попередньо не оброблена. 1.3. Вивчити залежність ферменту слини амілази від рН середовища.	

## I. Короткі теоретичні відомості

**Ферменти (ензими)** – біологічні каталізатори білкової природи, які синтезуються в клітинах живих організмів та забезпечують необхідні швидкість і координацію біохімічних реакцій, що становлять обмін речовин (метаболізм).

Розділ біохімії, що вивчає структуру, властивості та механізми дії ферментів, називається *ензимологією*. Прийняті в ензимології позначення:

*E* – фермент, ензим (англ. *enzyme*) – біологічний каталізатор;

*S* – субстрат (англ. *substrate*) – хімічна речовина, сполука, перетворення якої каталізує фермент;

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

*P* – продукт (англ. *product*) – сполука, що утворилася в результаті ферментативної реакції.

**1. Властивості ферментів як біологічних каталізаторів.**

*Ферменти* – специфічні білки, в основі каталітичної дії яких лежать загальні фізико-хімічні та термодинамічні закономірності хімічної кінетики.

**1.1. Властивості ферментів:**

- ферменти значно підвищують швидкість перебігу біохімічних реакцій, але не входять до складу кінцевих продуктів реакції;

- ферменти забезпечують перебіг лише тих біохімічних реакцій, які можливі, виходячи із законів термодинаміки;

- ферменти прискорюють швидкість як прямої, так і зворотної реакції перетворення субстрату, не змінюючи константи рівноваги ( $K_p$ ) реакції;

- протягом реакції фермент певним чином взаємодіє із субстратом, що перетворюється, але до складу кінцевих продуктів реакції не входить. Під час перебігу біохімічної реакції, що каталізується, відбувається циклічний процес, в ході якого фермент та субстрат підлягають ступеневому перетворенню з утворенням продукту реакції та регенерацією ферменту;

- ферменти є високоспецифічними каталізаторами, тобто діють, як правило, на структурно близькі субстрати, що мають певний хімічний зв'язок, структурно подібні радикали або функціональні групи. Проявом високої специфічності ферментів є їх стереоспецифічність, тобто здатність перетворювати тільки певні стереоізомери, наприклад *L*-амінокислоти,

*D*- моносахариди;

- відповідно до білкової природи, каталітична активність ферментів дуже чутлива до змін фізико-хімічних властивостей середовища (рН, температури), які можуть впливати на структурну організацію молекул ферментів, спричиняючи в певних умовах їх денатурацію (див. розділ 4);

- активність ферментів може суттєво змінюватися під впливом певних хімічних сполук, що збільшують (активатори) або зменшують (інгібітори) швидкість реакції, яка каталізується.

**1.2. Докази білкової природи ферментів:**

- денатурують під дією хімічних і фізичних чинників;

- при гідролізі розщеплюються до амінокислот;

- мають амфотерні властивості;
- рухомість під дією електричного поля;
- не проходять (не діалізуються) крізь напівпроникні мембрани;
- осаджуються висолуванням;
- мають високу молекулярну масу;
- характеризуються високою специфічністю;
- прямим доказом є синтез білків-ферментів.

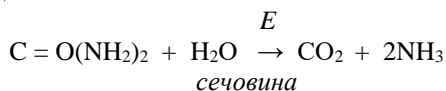
## 2. Номенклатура ферментів.

### 2.1. Систематична номенклатура.

Згідно із систематичною номенклатурою, назва (найменування) ферменту включає в себе: хімічну назву субстрату або субстратів; тип реакції, що каталізується; суфікс *-аза*.

### 2.2. Тривіальна номенклатура.

Тривіальні назви ферментів утворюються на основі хімічної назви субстрату з додаванням суфікса *-аза*. У біохімії існують також загальноприйняті, історично усталені назви ферментів, що не відображають хімічної природи реакції, зокрема, пепсин, трипсин, тромбін, плазмін тощо. Тривіальна назва (або назви) ферменту звичайно наводиться в дужках. Наприклад:



Систематична назва ферменту (*E*) *карбамідамідогідролаза*. Тривіальна назва ферменту: *уреаза* (лат. *urea* – сечовина).

### 2.3. Класифікація ферментів.

В основу класифікації покладений тип каталізованої ферментом реакції.

Таблиця 2

### Класифікація ферментів за типом каталізованої ферментом реакції

Клас	Тип каталізованої реакції
1. Оксидоредуктази	Окисно-відновні реакції: $A_{\text{відн.}} + B_{\text{окисн.}} \rightarrow A_{\text{окисн.}} + B_{\text{відн.}}$
2. Трансферази	Перенос груп атомів від молекули-донора до акцептора: $A-X + B \rightarrow A + B-X$
3. Гідролази	Гідроліз (розрив) зв'язків у присутності води: $A-B + \text{H}_2\text{O} \rightarrow A-H + B-OH$

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

<b>4. Ліази</b>	Розрив зв'язків між атомами C, O, N, S негідролітичним або неокисно-відновним шляхом: $A(X)-B(Y) \rightarrow AX+BY$
<b>5. Ізомерази</b>	Взаємне перетворення ізомерів: $A \rightarrow \text{ізомер } A$
<b>6. Лігази</b>	Утворення нових зв'язків у реакції конденсації двох молекул з використанням енергії АТФ $A + B \xrightarrow[\text{АДФ}]{\text{АТФ}} A-B$

Класи ферментів поділяють на підкласи, а останні – на підпідкласи, в складі яких кожному ферменту відповідає певний номер.

**1-й клас. Оксидоредуктази** – ферменти, що каталізують окисно-відновні реакції різних типів. До оксидоредуктаз належать дегідрогенази – ферменти, що каталізують реакції дегідрування, оксидази, що окислюють субстрати шляхом приєднання кисню, цитохроми – переносники електронів тощо.

**2-й клас. Трансферази** – ферменти, що каталізують реакції міжмолекулярного переносу хімічних груп.

Трансферази поділяють на амінотрансферази, метилтрансферази, ацилтрансферази, фосфотрансферази, глікозилтрансферази – ферменти, що переносять аміні, метильні, ацильні, фосфатні, глікозильні групи, відповідно.

**3-й клас. Гідролази** – ферменти, що каталізують реакції гідролізу, тобто розщеплення субстратів за участю молекули води.

Гідролази здатні розщеплювати естерні, пептидні, глікозидні та інші зв'язки – естерази, пептидази та протеази, лікозидази.

**4-й клас. Ліази** – ферменти, що каталізують реакції розщеплення ковалентних зв'язків між атомами C, O, N, S негідролітичним шляхом. До ліаз належать декарбоксилази – ферменти, що відщеплюють від органічних кислот карбоксильну групу у вигляді CO<sub>2</sub>; альдолази, що розщеплюють карбон-карбонів зв'язки з утворенням альдегідів; дегідратази, які відщеплюють від субстратів молекулу води з утворенням подвійного зв'язку тощо.

**5-й клас. Ізомерази** – ферменти, що каталізують реакції ізомеризації субстратів (рацемізації, епімеризації, тощо) – рацемази, епімерази тощо.

**6-й клас. Лігази** (синтетази) – ферменти, що каталізують реакції синтезу біомолекул, тобто утворення нових хімічних зв'язків за рахунок енергії АТФ.

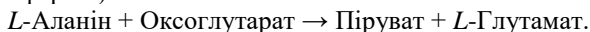
**Код ферменту** (за систематичною класифікацією ферментів – КФ) складається з чотирьох цифр, що позначають: клас – підклас – підпідклас – порядковий номер ферменту в підпідкласі.

Наприклад:

КФ 1.1.1.1. Алкоголь: НАД<sup>+</sup>-оксидоредуктаза (алкогольдегідрогеназа):



КФ 2.6.1.2. Аланін: оксоглутарат-амінотрансфераза (аланінамінотрансфераза):



### 3. Хімічна структура ферментів. Коферменти.

#### 3.1. Будова ферментних білків.

За хімічною структурою ферменти є простими білками або складними білками (тобто такими, що містять у своєму складі крім білкової ще небілкову частину).

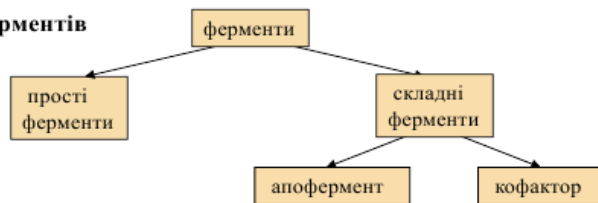
**Прості ферменти** – це поліпептидні ланцюги. При гідролізі вони розщеплюються до амінокислот (наприклад, ферменти пепсин, ліпаза, амілаза тощо).

**Складні ферменти** складаються з білкової частини (*апофермента*) та небілкової частини – *кофактора*. Повна назва складного ферменту – *холофермент*.

Якщо кофактор міцно зв'язаний з білковою частиною та не дисоціює при виділенні фермента, то він називається *протетичною групою* (наприклад, іони металів).

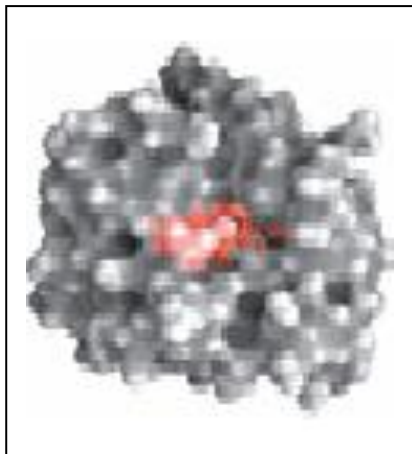
Якщо кофактор легко дисоціює, то він називається *коферментом* (найчастіше це похідні вітамінів). Поза складом холоферменту ані кофактор, ані апофермент не здатні проявляти самостійної каталітичної дії.

#### Структура ферментів



### **3.2. Функціональна організація ферментів.**

Білкова природа ферментів визначає їхні функціональні особливості. Перш за все, ферменти – це макромолекули, які за своїми розмірами суттєво перевищують реагуючі речовини – субстрати. Тому ферменти працюють не всією своєю поверхнею, а лише її частиною – *активним центром ферменту*.



**Активний центр** – це частина молекули ферменту (унікальна комбінація амінокислотних залишків), яка безпосередньо приймає участь у каталізі. Ці амінокислотні залишки знаходяться у різних місцях поліпептидного ланцюгу, але при просторовому укладанні, тобто при формуванні третинної структури, вони зближуються, створюючи активний центр.

Таким чином, активний центр формується на рівні третинної структури, тому денатурація призводить до втрати каталітичної активності ферментів.

До активного центру входять наступні функціональні групи:

- COOH-групи дикарбонових амінокислот і кінцеві;
- аміногрупи лізину та кінцеві;
- фенольна група тирозину;
- OH-групи серину та треоніну;
- SH-група цистеїну тощо.

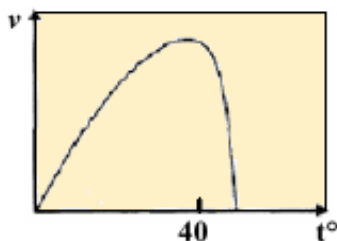
Якщо білок складний, то до складу активного центра входить його небілкова частина. В активному центрі розрізняють:

- контактну (якірну) ділянку – для впізнання та зв'язування субстрата, тобто необхідну для утворення фермент-субстратного комплексу;
- каталітичну ділянку – для безпосередньої хімічної взаємодії із субстратом.



#### 4. Властивості ферментів.

##### 4.1. Залежність активності ферменту від температури (термолабільність).

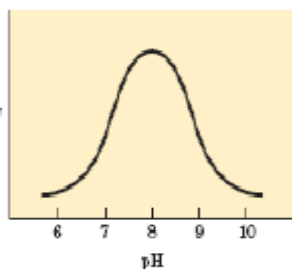


У певному обмеженому інтервалі швидкість реакції зростає при підвищенні температури, тому що збільшується кінетична енергія молекул. При оптимальній температурі (40°C) швидкість ферментативної реакції є максимальною. При подальшому підвищенні температури відбувається денатурація ферменту, та реакція зупиняється.

##### 4.2. Вплив рН середовища на швидкість ферментативної реакції.

Ця залежність визначається наступними чинниками:

- денатурацією ферментів при дуже високих або дуже низьких значеннях рН середовища реакції;
- зміною величин зарядів субстратів або ферментів.



В активному центрі ферментів є групи, здатні до іонізації, тому зміна рН середовища реакції призводить до зміни ступеню іонізації функціональних груп, що може спричинити конформаційні зміни у ферментах і, таким чином, змінити його активність.

##### 4.3. Специфічність дії ферментів.

- *Специфічність шляху перетворення.* Функціональні групи активного центру здатні хімічно перетворювати субстрат у визначений, а не в будь-який, продукт. Наприклад, один і той же самий субстрат (амінокислота гістидин) може перетворюватися у різні продукти (кетокислоту

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

або амін) в залежності від того, який фермент діє (гістидаза або декарбоксилаза):



● **Субстратна специфічність** – здатність ферментів зв’язуватися із визначеними субстратами завдяки унікальній структурі активних центрів, компліментарних саме до цих субстратів.

Розрізняють наступні види субстратної специфічності:

**Абсолютна специфічність** – здатність ферменту каталізувати перетворення лише одного субстрату. Наприклад, аргіназа розщеплює виключно аргінін.

**Відносна специфічність** – здатність ферментів каталізувати однотипні перетворення групи субстратів, подібних за структурою. Наприклад, ліпаза каталізує ліполіз (гідроліз ліпідів), пепсин – протеоліз (гідроліз білків).

## II. Практична частина

### Алгоритм лабораторної роботи

#### *Дослідження білкової природи ферментів та їх фізико-хімічних властивостей*

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, пробірка з газовідвідною трубкою, спиртівка, піпетки, сірники, пробіркотримач, водяна баня, розчин білку-ферменту (пепсину тощо), 10%-й розчин NaOH, 1%-й розчин  $Pb(CH_3COO)_2$ , 5%-й розчин  $CuSO_4$ , 0,5% розчин крохмалю, 0,1% розчину Люголя (розчин йоду в калію йодиді), буферні розчини з рН 3; 7,4 та 14.

#### **1. Якісні реакції на білки-ферменти.**

##### **Дослід 1.1. Біуретова реакція на білки-ферменти:**

**Принцип методу:** іони купруму ( $Cu^{2+}$ ) у лужному середовищі утворюють з пептидними групами комплексну сполуку синьо-фіолетового кольору.



**Порядок виконання роботи:** у пробірку налити 0,5 мл досліджуваного розчину та 0,5 мл біуретового реактиву. Розвивається синьо-фіолетове забарвлення.

**Дослід 1.2. Реакція Фоля.**

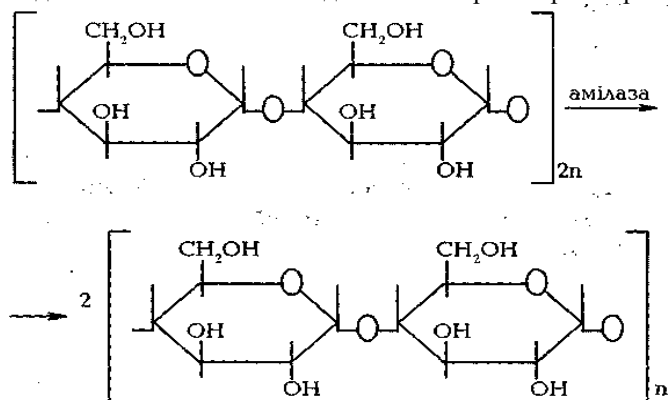
**Принцип методу:** при нагріванні розчину білку-ферменту, в якому є залишки сульфурвмісних амінокислот (цистеїн) з розчинами луку та солі свинцю, сульфур утворює чорний осад PbS.

**Порядок виконання роботи:** у пробірку налити 0,5 мл досліджуваного розчину, додати 1 мл реактиву Фоля. Нагрівати на водяній бані до утворення чорного осаду.

**2. Вивчення термолабільності ферментів.**

**Дослід 2.1. Дослідження гідролізу крохмалю під дією амілази слини.**

**Принцип методу.** Метод засновано на здатності амілази каталізувати гідроліз крохмалю через стадії утворення декстринів, мальтози і, певною мірою, глюкози. Крохмаль у разі взаємодії з йодом набуває синього забарвлення. Декстрин у разі взаємодії з йодом – фіолетового, червоно-бурого або оранжевого забарвлення. Мальтоза з йодом забарвлення не дає і її можна виявити за допомогою проби Троммера.



**Порядок виконання роботи:** Для одержання розведеної слини ротову порожнину злегка прополіскують водою, набирають нову порцію дистильованої води і прополіскують нею рот протягом 1...2 хв. Зібрану в пробірку рідину використовують для аналізу.

2 мл розведеної слини кип'ятити 5 хвилин.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

У 3 пробірки налити по 10 крапель 1% розчину крохмалю. У першу пробірку додати 10 крапель води (контроль), у другу – 10 крапель охолодженної прокип'яченої слини, у третю – 10 крапель некип'яченої розведеної слини.

Усі пробірки помістити у водяну баню або термостат при температурі 38°C на 10 хвилин. Після цього виконати якісні реакції на крохмаль і продукти його гідролізу (глюкозу та мальтозу).

**Реакція на крохмаль:** До 5 крапель досліджуваного розчину додати 1 краплю розчину Люголя (водний розчин йоду в калію йодиді). В присутності крохмалю з'являється синє забарвлення.

**Реакція надекстрин і глюкозу:** Для проведення проби Троммера до вмісту останньої пробірки додають однаковий об'єм 10% розчину натрію гідроксиду і 5...7 крапель 5% розчину купрум(II) сульфату. Вміст пробірки перемішують до зникнення помутніння. Верхню частину пробірки обережно нагрівають на відкритому вогні до кипіння. Реакція Троммера повинна бути позитивною. Спостерігають за появою жовтого або червоного осаду (в присутності глюкози чи мальтози випадає жовтий осад купрум(II) гідроксиду або червоний осад купрум(II) оксиду).

**3. Вивчення залежності активності ферментів від рН середовища.**

**Порядок виконання роботи:** В 3 пробірки налити по 1 мл буферних розчинів з рН 3; 7,4 та 14. В кожную пробірку відміряти по 1 мл розведеної слини, по 1 мл 1% розчину крохмалю, перемішати та інкубувати 10 хв. при температурі 38°C. Після цього під контролем індикаторного паперу нейтралізувати вміст пробірки з рН 3 – розчином лугу, а вміст пробірки з рН 14 – розчином 0,1н HCl.

Результат досліду виявити за допомогою розчину Люголя, додаючи його по 1...2 кап. в кожную пробірку, розмішати, відмитити забарвлення і зробити висновки.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання.**

1. Функції білків-ферментів.
2. Хімічна природа ферментів та властивості їх як біокаталізаторів.
3. Структурна організація ферментів.

4. Будова простих і складних ферментів. Простетичні групи складних ферментів, вітаміни як попередники в біосинтезі коферментів.

5. Загальні властивості та специфічність дії ферментів.

### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** Трипсин – фермент, що часто використовується у препаративній біохімії для очищення білкових препаратів у ході аналізу. Поясніть, чому молекули трипсину не атакують одна одну, адже трипсин відноситься до протеолітичних ферментів, що гідролізують пептидні зв'язки, а сам трипсин – білок?

**Завдання 2.** Експериментальні дані свідчать, що у деяких випадках за повного насичення ферменту субстратом теплова денатурація ферменту настає за більш високих температур. Чим пояснюється протективна дія високих концентрацій субстрату проти теплової денатурації?

**Завдання 3.** В окрему групу металоферментів виділено ензими, що містять іони металів як простетичну групу. Прикладами таких ферментів є цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза, апофермент яких пов'язаний з гемовим залізом,  $Zn^{2+}$  містить карбоангідразу і багато інших ферментів. Поясніть, чому в ролі кофактора найчастіше виступають перехідні метали?

### **3.3. Відповісти на тестові питання**

1. Який вітамінний препарат доцільно призначити пацієнту зі скаргами на зниження гостроти зору в сутінках, сухість шкіри, часті застудні захворювання, ламкість волосся?

- A. Ергокальциферол
- B. Пантотенова кислота
- C. Тіаміну хлорид
- D. Ретинолу ацетат
- E. Нікотинова кислота

2. У хворого з гіпохромною анемією січється та випадає волосся, відзначається підвищена ламкість піттів, порушений смак. Якою є причина розвитку зазначених симптомів?

- A. Дефіцит залізовмісних ферментів
- B. Дефіцит вітаміну  $B_{12}$
- C. Зниження продукції паратирину
- D. Дефіцит вітаміну А
- E. Зниження продукції тиреоїдних гормонів

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

3. Вагітній жінці, що мала в анамнезі декілька викиднів, призначена терапія, яка містить вітамінні препарати. Укажіть вітамін, який сприяє виношуванню вагітності:

- A. Рутин
- B. Фолієва кислота
- C. Діанокобаламін
- D. Піридоксальфосфат
- E.  $\alpha$ -Токоферол

4. Під час патронажу лікар виявив у дитини симетричну шорсткість шкір, діарею, порушення нервової діяльності. Нестача яких харчових факторів є причиною такого стану?

- A. Лізин, аскорбінова кислота
- B. Нікотинова кислота, триптофан
- C. Треонін, пантотенова кислота
- D. Метіонін, ліпоєва кислота
- E. Фенілачанін, пангамова кислота

5. У хворого (37 років) на фоні тривалого застосування антибіотиків спостерігається підвищена кровоточивість при невеликих пошкодженнях. У крові – зниження активності II, VII, X факторів згортання крові: подовження часу згортання крові. Нестачею якого вітаміну обумовлені ці зміни?

- A. Вітамін C
- B. Вітамін A
- C. Вітамін K
- D. Вітамін B
- E. Вітамін E

6. У дитини першого року життя під час профілактичного огляду виявлено порушення мінералізації кісток, викривлення кісток нижніх кінцівок і затримку мінералізації кісток черепа. Нестача якого вітаміну може бути причиною цього?

- A. Фолієва кислота
- B. Рибофлавін
- C. Токоферол
- D. Кальциферол
- E. Кобаламін

7. Хворій, що перенесла мастектомію в зв'язку з раком молочної залози, був призначений курс променевої терапії. Який з перерахованих вітамінних препаратів має виражену радіопротекторну дію, зумовлену антиоксидантною активністю?

- A. Токоферолу ацетат
- B. Ергокальциферол
- C. Тіаміну хлорид
- D. Рибофлавін
- E. Фолієва кислота

8. До відділення реанімації надійшов чоловік 47-ми років з діагнозом інфаркт міокарду. Яка з фракцій лактатдегідрогенази (ЛДГ) буде переважати в сироватці крові протягом перших двох діб?

- A. ЛДГ<sub>5</sub>
- B. ЛДГ<sub>2</sub>
- C. ЛДГ<sub>3</sub>
- D. ЛДГ<sub>4</sub>
- E. ЛДГ<sub>1</sub>

9. Більша частина учасників експедиції Магеллана до Америки загинула від авітамінозу. Це захворювання проявлялося загальною слабкістю, підшкірними крововиливами, випадінням зубів, кровотечею з ясен. Як називається цей авітаміноз?

- A. Рахіт
- B. Пелагра
- C. Скорбут (цинга)
- D. Поліневрит (бері-бері)
- E. Анемія Бірмера

10. У жінки, яка тривалий час знаходилася на дієті з використанням очищеного рису, виявлено поліневрит (хвороба Бері-Бері). Відсутність якого вітаміну в раціоні призводить до розвитку цього захворювання?

- A. Аскорбінова кислота
- B. Тіамін
- C. Піридоксин
- D. Фолієва кислота
- E. Рибофлавін

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

11. У медичній практиці для профілактики алкоголізму широко використовують дисульфірам, який є інгібітором альдегіддегідрогенази. Підвищення в крові якого метаболіту викликає відразу до алкоголю?

- A. Пропіоновий альдегід
- B. Етанол
- C. Малоновий альдегід
- D. Ацетальдегід
- E. Метанол

12. При дослідженні сироватки крові хворого виявлене підвищення рівня аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ). Які зміни на клітинному рівні можуть призвести до подібної ситуації?

- A. Руйнування клітин
- B. Порушення функції енергозабезпечення клітин
- C. Порушення ферментних систем клітин
- D. Руйнування генетичного апарату клітин
- E. Порушення міжклітинних взаємовідношень

13. У хворого через 12 годин після гострого нападу за грудного болю знайдено різке підвищення активності АсАТ у сироватці крові. Вкажіть патологію, для якої характерне це зміщення:

- A. Нецукровий діабет
- B. Вірусний гепатит
- C. Колагеноз
- D. Цукровий діабет
- E. Інфаркт міокарда

14. У хворого після видалення жовчного міхура утруднені процеси всмоктування кальцію через стінку кишечника. Призначення якого вітаміну буде стимулювати цей процес?

- A. С
- B. РР
- C. Д<sub>3</sub>
- D. В<sub>12</sub>
- E. К

15. У чоловіка, який тривалий час не вживав з їжею жирів, але отримував достатню кількість вуглеводів і білків, виявлено дерматит, погане загоювання ран, погіршення зору. Дефіцит яких компонентів є причиною порушення обміну речовин?

- A. Лінолева кислота, вітаміни А, Е, К
- B. Пальмітинова кислота
- C. Вітаміни РР, Н
- D. Мінеральні солі
- E. Олеїнова кислота

16. З урахуванням клінічної картини хворому призначено піридоксальфосфат. Для корекції яких процесів рекомендований цей препарат?

- A. Синтез пуринових та піримідинових основ
- B. Окисне декарбоксілювання кетокислот
- C. Дезамінування пуринових нуклеотидів
- D. Трансамінування і декарбоксілювання амінокислот
- E. Синтез білка

17. У хворого спостерігається порушення зору – гемералопія («куряча сліпота»). ЯКИЙ вітамінний препарат треба вживати хворому, щоб відновити зір?

- A. Вікасол
- B. Ретинолу ацетат
- C. Піридоксин
- D. Тіаміну хлорид
- E. Токоферолу ацетат

18. З сироватки крові людини виділили п'ять ізоферментних форм лактатдегідрогенази і вивчили їх її властивості. Яка властивість доводить, що виділені ізоферментні форми одного і того ж ферменту?

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

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

19. На прийом до лікаря звернувся хворий з симетричним дерматитом відкритих ділянок шкіри. З бесіди з пацієнтом встановлено, що він харчується, в основному, крупами і вживає мало м'яса, молока та яєць. Дефіцит якого вітаміну є провідним у цього пацієнта?

- A. Біотин
- B. Кальциферол
- C. Фолієва кислота
- D. Нікотинамід
- E. Токоферол

20. Внаслідок дефіциту вітаміну B<sub>1</sub> порушується окисне декарбоксілювання  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти. Синтез якого з наведених коферментів порушується при цьому?

- A. Нікотинамідаденіндинуклеотид
- B. Тіамінпірофосфат
- C. Флавінаденіндштуклеотид
- D. Ліпоева кислота
- E. Коензим А

21. Дитина 3-х років із симптомами стоматиту, гінгівіту, дерматиту відкритих ділянок шкіри була госпіталізована. При обстеженні встановлено спадкове порушення транспорту нейтральних амінокислот у кишечнику. Нестача якого вітаміну зумовила дані симптоми?

- A. Біотин
- B. Пантотенова кислота
- C. Вітамін А
- D. Кобаламін
- E. Ніацин

22. Виділяють декілька груп молекулярних механізмів, які мають важливе значення в патогенезі ушкодження клітин, що сприяє розвитку патології. Які процеси забезпечують протеїнові механізми ушкодження?

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



23. У хворого в крові збільшена концентрація пірувату. Значна його кількість екскретується з сечею. Дефіцит якого вітаміну має місце у хворого?

- A. B<sub>2</sub>
- B. E
- C. B<sub>3</sub>
- D. B<sub>6</sub>,
- E. B<sub>1</sub>

24. Людина захворіла на пелагру. При опитуванні стало відомо, що впродовж тривалого часу вона харчувалася переважно кукурудзою, мало вживала м'яса. Дефіцит якої речовини у кукурудзі спричинив розвиток хвороби?

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

25. У хворого з частими кровотечами з внутрішніх органів і слизових оболонок виявлені пролін і лізин у складі колагенових волокон. Через відсутність якого вітаміну порушено їх гідроксилування?

- A. Вітамін С
- B. Вітамін К
- C. Вітамін А
- D. Тіамін
- E. Вітамін Е

## Практичне заняття № 3

### **ТЕМА: ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ. ОДИНИЦІ ВИМІРУ КАТАЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ. ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГУЛЯЦІЇ ФЕРМЕНТАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ.**

**Навчальна мета:** засвоїти принципи визначення активності ферментів у біологічних рідинах та основні принципи регуляції метаболічних шляхів; на прикладі амілази та холінестерази вивчити вплив активаторів та інгібіторів на активність ферментів.

**Знати:** принципи та значення визначення активності ферментів у біологічному матеріалі для діагностики різних хвороб.

**Вміти:** аналізувати механізми регуляції основних метаболічних процесів; пояснювати застосування інгібіторів та активаторів ферментів при порушеннях обміну речовин; аналізувати вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази та холінестерази.

*Таблиця 1*

#### **План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття**

Основні напрями теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань	Джерело	
1. Методи визначення активності ферментів.	1.1. Принципи методів визначення активності ферментів: а) за кількістю продукту, який утворюється під дією ферменту за одиницю часу; б) за кількістю витраченого субстрату за одиницю часу; в) спектрофотометричні методи визначення активності ферментів та візуалізація результатів ферментативної реакції. 1.2. Одиниці виміру активності та кількості ферментів: а) міжнародні одиниці;	[1] 38–55, [2] 98–114, [3] 136–156 [5] – №2.

	б) катал; в) питома активність ферменту.	
2. Регуляція ферментативних процесів.	2.1. Регуляція активності ферментів шляхом зміни каталітичної активності ферменту: а) алостерична регуляція активності ферментів; б) ковалентна модифікація ферментів; в) активація ферментів шляхом обмеженого протеолізу; г) дія регуляторних білків-ефекторів (кальмодуліну, протеїназ, протеїназних інгібіторів, циклічних нуклеотидів). 2.2. Регуляція активності ферментів шляхом зміни кількості ферменту.	[1] 38–55, [2] 98–114, [3] 136-156 [5] – №2.
3. Інгібітори, активатори ферментів.	3.1. Зворотне і незворотне інгібування ферментів. 3.2. Фізіологічно активні сполуки та ксенобіотики як зворотні (конкурентні та неконкурентні) та незворотні інгібітори ферментів.	[1] 38–55, [2] 98–114, [3] 136-156 [5] – №2.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення визначення активності холінестерази.	1.1. Визначення активності холінестерази.	

## **I. Короткі теоретичні відомості**

### **1. Методи визначення активності ферментів.**

**1.1. Принципи методів визначення активності ферментів у біологічному матеріалі.**

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

Унікальна властивість ферментів прискорювати хімічні реакції може бути використана для кількісного визначення вмісту цих біокатализаторів в біологічному матеріалі (тканинному екстракті, сироватці крові тощо). При правильно підібраних експериментальних умовах майже завжди існує пропорційність між кількістю ферменту і швидкістю реакції, яку він каталізує. Тому по активності ферменту можна судити про кількісний вміст його в досліджуваній пробі.

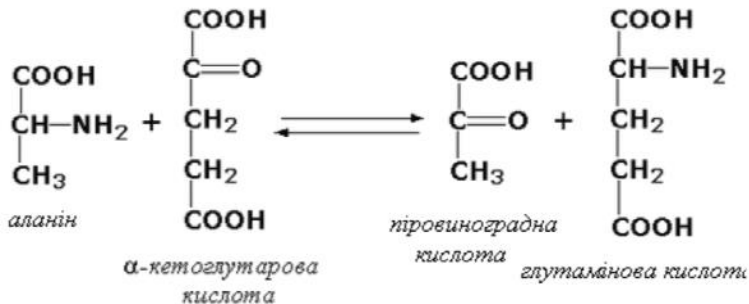
Вимірювання ферментативної активності ґрунтується на порівнянні швидкості хімічної реакції в присутності активного біокатализатора з швидкістю реакції в контрольному розчині, в якому фермент відсутній або інактивований.

Досліджуваний матеріал поміщають в інкубаційне середовище, де створені оптимальні температура, рН середовища, концентрації активаторів та субстратів. Одночасно здійснюють постановку контрольної проби, в яку фермент не додають. Через деякий час реакцію зупиняють шляхом додавання різних реагентів (змінюють рН середовища, що викликають денатурацію білків і т.д.) і проводять аналіз проб.

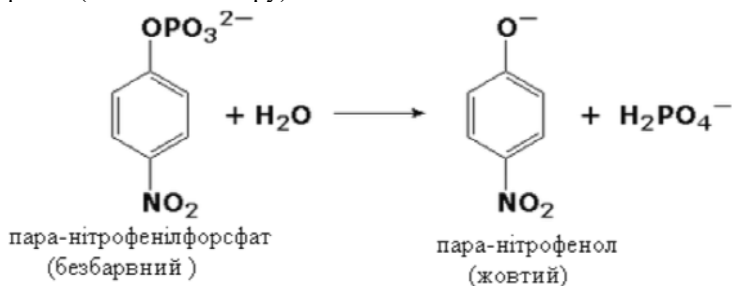
Для того, щоб визначити швидкість ферментативної реакції, необхідно знати:

- різницю концентрацій субстрату або продукту реакції до і після інкубації;
- час інкубації;
- кількість матеріалу, яка взята для аналізу.

Найбільш часто активність ферменту оцінюють за кількістю продукту, який утворився в результаті реакції. Так, наприклад, активність аланінамінотрансферази, що каталізує реакцію дезамінування аланіну, визначають по кількості утвореного пірувату:



Якщо досліджуваний біокатализатор має низьку специфічну дію, то можна підібрати такий субстрат, в результаті реакції з яким утворюється забарвлений продукт. Прикладом може служити визначення лужної фосфатази – ферменту, широко поширеного в тканинах людини, його активність у плазмі крові істотно змінюється при захворюваннях печінки і кісткової системи. Цей фермент в лужному середовищі гідролізує велику групу фосфатних естерів, як природних, так і синтетичних. Одним з синтетичних субстратів є паранітрофенілфосфат (безбарвний), який у лужному середовищі розщеплюється на ортофосфат і паранітрофенол (жовтого кольору).



За ходом реакції можна спостерігати, вимірюючи поступово наростаючу інтенсивність забарвлення розчину. Для ферментів, що володіють високою специфічністю дії, такий підбір субстратів, як правило, неможливий.

### 1.2. Методи вимірювання активності ферментів

Існує велика кількість методів вимірювання активності ферментів, що розрізняються по техніці виконання, специфічності, чутливості. Найчастіше для визначення застосовуються фотоелектроколориметричні методи. В основі цих методів лежать кольорові реакції з одним з продуктів дії ферментів.

*Спектрофотометричні методи* засновані на зміні ультрафіолетового спектра хімічних речовин, які беруть участь у реакції. Більшість сполук поглинає ультрафіолетові промені, причому поглинаються довжини хвиль характерні для присутніх в молекулах цих речовин певних груп атомів.

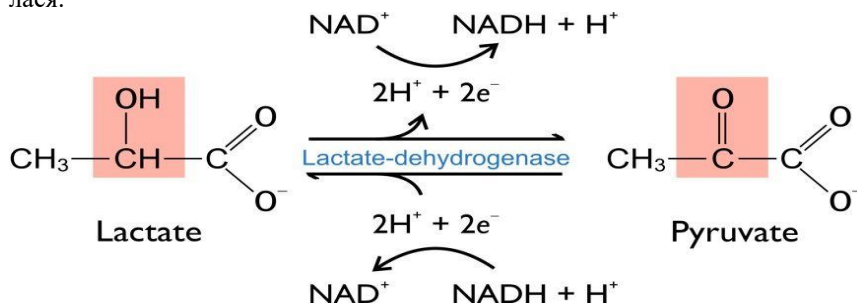
Ферментативні реакції викликають внутрішньомолекулярні перегрупування, в результаті яких змінюється ультрафіолетовий спектр. Ці зміни можна зареєструвати на спектрофотометрі.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

Спектрофотометричними методами, наприклад, визначають активність окисно-відновних ферментів, що містять як коферменти НАД або НАДФ. Ці коферменти можуть діяти як акцептори або донори атомів гідрогену і, таким чином, або відновлюються, або окиснюються в процесах метаболізму. Відновлені форми цих коферментів мають ультрафіолетовий спектр з максимумом поглинання при 340 нм, окиснені форми цього максимуму не мають.

Так, при дії лактатдегідрогенази на лактат відбувається перенесення гідрогену на НАД<sup>+</sup>, що призводить до збільшення поглинання НАДН<sup>+</sup>+Н при 340 нм. Величина цього поглинання в оптичних одиницях пропорційна кількості відновленої форми коферменту, яка утворилася.



По зміні вмісту відновленої форми коферменту можна визначити активність ферменту.

### 1.3. Одиниці виміру активності ферментів

Одиниці активності ферментів – умовні величини, що базуються на лінійній залежності швидкості ферментативної реакції від кількості ферменту (або кількості його молекул, що перебувають у каталітично активному стані).

- У біохімічній практиці загальноприйнятими є одиниці активності ферментів:

Одиницею ферменту (*U*, англ. – *unit*) є така його кількість, яка каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хв.:

$$1 U = 1 \text{ мкмоль/хв.}$$

У медичній ензимології активність ферменту часто виражають в одиницях (*U*) на 1 л біологічної рідини, що досліджується, – сироватки крові, слини, сечі тощо (*U/л*).

- У системі СІ (SI) активність ферменту виражають в *каталах* (кат).

1 катал – така кількість ферменту, яка каталізує перетворення 1 моля субстрату за 1 с:

1 кат = 1 моль/с.

Активність в 1 катал, яка відповідає швидкості реакції 1 моль/с, для практичного застосування виявляється надто великою. Тому використовують її похідні: мікрокатал (мккат), нанокатал (нкат), пікокатал (пкат), яким відповідають швидкості реакцій у мікромолях, наномолях і пікомолях за секунду.

#### ***1.4. Клінічні методи оцінювання активності ферментів***

Методи визначення активності ферментів, які широко використовують у клінічних лабораторіях, можна розподілити на дві основні групи:

а) методи, що ґрунтуються на інкубації препарату ферменту (здебільшого сироватки крові) із субстратом у відповідному буфері впродовж певного часу, після закінчення якого ферментативну реакцію зупиняють, а продукти, що утворилися, визначають за допомогою якісних реакцій;

б) методи, в яких безперервно або періодично під час перебігу ферментативної реакції визначають концентрацію використаного субстрату, коферменту чи утвореного продукту.

Методи першого типу – це дослідження шляхом вимірювання за двома точками. Методи другого типу часто, проте не зовсім коректно, називають кінетичними. Усі вимірювання каталітичної активності залежать від кінетики, тому такі методи краще класифікувати як методи безперервної реєстрації.

#### ***1.5. Значення визначення активності ферментів у біологічних рідинах***

Визначення активностей ферментів посідає важливе місце в лабораторній діагностиці.

При деяких захворюваннях підвищення активності ферментів зумовлене виходом ферментів у кровообіг з ушкоджених тканин. Встановлено, що активність ферментів в ураженому органі знижена, а в сироватці крові активність цих самих ферментів підвищена.

Розрізняють дві основні причини гіперферментемій за різних патологій:

– вихід ферментів у кровообіг з ушкоджених тканин на фоні посиленого біосинтезу ензимів (синтез ферментів спричинений зниженням їх кількості в клітинах унаслідок виходу ферментів з уражених тканин);

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

– вихід ферментів у кровообіг з клітин інших органів і тканин, які безпосередньо не залучені до патологічного процесу.

Таке явище є результатом загальної реакції організму на больове подразнення, яке супроводжується порушенням процесів окисного фосфорилювання, зміною проникності клітинних мембран та виходом ферментів у кровообіг.

● **Лактатдегідрогеназа (ЛДГ)** – фермент, що бере участь у гліколітичному розщепленні глюкози, належить до класу оксидоредуктаз. Коферментом ЛДГ є нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД), до його складу входить вітамін РР, який і забезпечує зворотне окисно-відновне перетворення субстрату під час ферментативної реакції.

Оскільки ЛДГ міститься не тільки у сироватці, а й значною мірою в еритроцитах, то сироватка крові має бути без слідів гемолізу.

Підвищення загальної активності ЛДГ у сироватці крові спричинене виходом ферменту з цитоплазми в кров у результаті ушкодження мембран клітин під час різних патологічних процесів.

Значне підвищення активності ЛДГ спостерігається при інфаркті міокарда, гострому вірусному гепатиті, анемії, лейкозі, інфекційному мононуклеозі, нефропатії, масивному ураженні скелетних м'язів. Помірне підвищення спостерігається при хронічних ураженнях печінки, цирозі в стадії загострення, панкреатиті, пневмонії, злоякісних новоутвореннях тощо. У разі визначення ізоферментів спостерігається збільшення вмісту ЛДГ<sub>1</sub> при інфаркті міокарда, ЛДГ<sub>2</sub> – при гострому лейкозі та інфаркті міокарда, ЛДГ<sub>3</sub> – при багатьох злоякісних захворюваннях легенів, ЛДГ<sub>4</sub>, ЛДГ<sub>5</sub> – при паренхіматозних ураженнях печінки та гострих захворюваннях нирок.

● **γ-Глутамілтранспептидаза (ГГТП)** каталізує перенесення глутамілового залишку глутамінової кислоти на акцепторний пептид або на γ-амінокислоту.

Зміна активності ГГТП у сироватці крові має велике значення в діагностиці захворювань печінки та гепатобіліарної системи, оскільки фермент синтезується здебільшого в ендотелії жовчних проток і належить до екскреторних ферментів печінки. У нормі в крові виявляється 2 ізоферменти ГГТП, а в умовах холестазу виділяють 5 ізоформ.

ГГТП більш чутлива до порушень у клітинах печінки, ніж АлАТ і АсАТ, ЛФ та ін. Значне підвищення активності ГГТП спостерігається при алкогольному і постгепатитному цирозі, внутрішньопечінковій та позапечінковій холестатичній жовтяниці (холангіт, пухлини печінки



навіть без ознак жовтяниці). Помірне підвищення спостерігається при гострому гепатиті, пролонгованому і надмірному вживанні алкоголю, захворюваннях підшлункової залози, діабеті, ураженні паренхіми нирок, отруєннях гепатотропними отрутами.

● **Аланінамінотрансфераза (АлАТ)** та **аспартатамінотрансфераза (АсАТ)** належать до класу *амінотрансфераз* – ферментів, що каталізують перенесення аміногруп від  $\alpha$ -амінокислот до кетокислот. Коферментом АсАТ і АлАТ є піридоксальфосфат (активна форма вітаміну В<sub>6</sub>). АлЛТ і АсАТ дуже поширені в органах і тканинах людини. Найвищий вміст АсАТ визначається в серцевому м'язі, потім послідовно зменшується в такому порядку: печінка, скелетні м'язи, головний мозок, нирки, сім'яники. Найвищий вміст АлАТ виявлено в печінці, підшлунковій залозі, серці та скелетних м'язах.

У клітинах амінотрансферази локалізуються переважно в цитозолі. Підвищення активності АлАТ і АсАТ у сироватці крові є наслідком патологічних змін клітинних мембран, а саме – підвищеної їх проникності з подальшим виходом амінотрансфераз у позаклітинний простір.

Ступінь *гіперамінотрансфераземії* є відображенням тяжкості та поширеності патологічного процесу. Значне підвищення активності АсАТ спостерігається у випадках ураження серцевого м'яза (у 10...100 разів), вірусного гепатиту, токсичного некрозу печінки, недостатності кровообігу з шоком і гіпоксією. Підвищення активності АсАТ починається здебільшого через 6...12 год після виникнення інфаркту міокарда і досягає максимуму між 24...48 год, потім поступово знижується і повертається до норми через 5...6 діб.

Помірне підвищення активності АсАТ спостерігається при цирозі печінки, обтураційній жовтяниці, злоякісних ураженнях печінки, метастазах у печінку, деструкції скелетних м'язів (травма, хірургічне втручання), панкреатиті, дифузному ураженні ниркової паренхіми, пневмонії, гемолітичній анемії тощо.

Значне підвищення активності АлАТ спостерігається у випадках вірусного гепатиту (у 10...100 разів), гострого токсичного гепатиту, недостатності кровообігу з шоком та гіпоксією.

Підвищення активності АлАТ при інфекційному гепатиті досягає максимуму на 6...10-й день захворювання і поступово повертається до норми на 5...8-й тиждень. Слід зазначити, що активність АлАТ підвищується вже в інкубаційний період захворювання, що має особливо велике діагностичне значення.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

Помірне підвищення активності АлАТ спостерігається при цирозі печінки, хронічному гепатиті в стадії загострення, обтураційній жовтяниці, деструктивних процесах у нирках, легенях, м'язах, підшлунковій залозі, при лейкозах і колагенозах.

● **Креатинкіназа (КК)** – фермент, що здійснює зворотну реакцію перетворення креатину на креатинфосфат з використанням фосфатного залишку АТФ і в такий спосіб забезпечує м'язи резервом енергії у вигляді високоенергетичної фосфатної групи креатинфосфату. КК належить до класу трансфераз. Міститься цей фермент майже винятково у м'язах: у серцевому м'язі, скелетних і гладких м'язах, а також у головному мозку.

Фермент активується йонами Магнію. У лужному середовищі (рН  $\approx$  9,0) рівновага зміщується в бік утворення АТФ. Гіперферментемія зумовлена виходом КК у кров унаслідок запальних або деструктивних процесів у тканинах, що містять цей ензим. У нормі в сироватці крові визначаються тільки сліди ферменту. Фізіологічне підвищення активності КК у сироватці крові спостерігається у новонароджених, у породіль у перші дні після пологів, при фізичному навантаженні.

Значне підвищення спостерігається при інфаркті міокарда, дистрофії м'язів, травматичному ушкодженні м'язів, шоку і недостатності кровообігу. Помірне підвищення спостерігається при обмеженому ушкодженні скелетних м'язів, судамах, гіпотиреозі, розладі мозкового кровообігу, травмах мозку, гострих психічних станах.

● **Лужна фосфатаза (ЛФ)** міститься в тканинах організму людини у значній кількості, особливо багато її в слизовій оболонці кишок, остеоцитах, мікросомах клітин ендотелію жовчних проток печінки, проксимальних відділах звивистих каналців нирок, плаценті та лактуючій грудній залозі. Активатором ЛФ є йони Магнію, цистеїн і глутатіон, а інгібітором – глутамінова кислота. Фізіологічною роллю ЛФ є дифосфорилування хімічних сполук з високою активністю за високого рН. Відіграє важливу роль в метаболічних процесах, особливо у печінці, а також забезпечує зростання скелету.

Підвищення активності ЛФ спостерігається здебільшого при кісткових захворюваннях, які пов'язані з процесами проліферації остеобластів, та захворюваннях, супроводжуваних явищами холестазу.

Дослідження активності ЛФ має особливе значення в дитячому віці, оскільки вона *підвищується* при захворюванні на рахіт (до появи клінічних симптомів захворювання). Активність ЛФ залишається

підвищеною впродовж усього періоду захворювання. Підвищення активності фосфатази в цьому випадку слід розглядати як компенсаторний механізм забезпечення потреб організму в неорганічних фосфатах.

Підвищення активності ЛФ спостерігається також при розпаді кісткової тканини, переважанні остеобластичних процесів, метастазах пухлин у кістки, метастазах пухлин у печінку, жовтій атрофії печінки, обтураційній жовтянці, захворюваннях м'язів. Дуже висока активність ЛФ у сироватці крові може з'являтися унаслідок ушкодження плаценти під час вагітності.

Зменшення активності ЛФ (*гіпофосфатаземія*) спостерігається при зниженні остеобластичних процесів (гіпотиреоз, гіповітаміноз С, старечий остеопороз).

● **Кисла фосфатаза (КФ)** міститься в багатьох органах і тканинах, особливо багато її в лізосомах клітин простати, у печінці, нирках, кістках, еритроцитах, тромбоцитах. КФ є сумішшю ізоферментів, які різняться оптимумом рН, електрофоретичною рухливістю, відношенням до інгібіторів. Фізіологічною роллю КФ є дифосфорилування хімічних сполук при оптимумі рН $\approx$ 5,0.

Міститься фермент переважно в передміхуровій залозі та в еритроцитах. Активність КФ у сироватці крові людини невисока. Значне підвищення активності КФ спостерігається при карциномі простати в стадії метастазування. Підвищення активності КФ за нормального рівня ЛФ свідчить про новоутворення в залозі.

Помірне підвищення активності КФ спостерігається при гострому затриманні сечі, хворобі Роше, тромбоцитопенії, простатиті, гемолітичній хворобі, поліцитемії, мієломній хворобі та внаслідок пальпації передміхурової залози, цистоскопії, що сприяє виходу ферменту із залози у кров.

● ***а-Амілаза*** належить до класу гідролаз і здійснює гідроліз  $\alpha$ -1,4-глікозидних зв'язків у полісахаридах, які містять три або більше залишків глюкози. Діє на крохмаль, глікоген, олігосахариди.

Амілаза утворюється переважно в підшлунковій залозі, у меншій кількості – у слинних залозах. рН-Оптимум дії  $\alpha$ -амілази становить 6,8...7,2. Активаторами дії  $\alpha$ -амілази є йони Хлору, стабілізаторами структури ензиму – йони Кальцію.

Визначення показника широко застосовують для діагностики захворювань підшлункової залози. Для *гострого панкреатиту* характерним є різке підвищення (в 10...30 разів) амілазної активності. Однак

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

гіперамілаземія є раннім і швидкоплинним симптомом гострого панкреатиту. Швидка гіперамілаземія при гострих панкреатитах супроводжується значним збільшенням виділення амілази із сечею, хоча слід пам'ятати, що на цей показник впливає концентраційна функція нирок.

Кількість амілази в крові може збільшуватись у випадках виразки шлунка або дванадцятипалої кишки та в разі переходу пухлинної інфільтрації з сусідніх органів на підшлункову залозу. Однак при цих захворюваннях гіперамілаземія не досягає таких високих значень, як при гострому панкреатиті.

Помірне підвищення активності амілази в сироватці крові спостерігається при синдромі гострого живота (пептичні виразки, печінкові коліки, непрохідність кишок, гострий апендицит, перитоніт), гострій алкогольній інтоксикації, уремії, опіках, захворюваннях слинних залоз (епідемічний паротит, камені в слинній залозі або її протоці), при стоматитах, невралгії лицевого нерва, паркінсонізмі.

Зменшення активності  $\alpha$ -амілази спостерігається при психічних захворюваннях, у стані збудження або депресії.

### **2. Регуляція активності ферментів**

Чинники, що впливають на активність ферментів:

- температура;
- рН середовища;
- концентрація ферменту;
- концентрація субстрату;
- наявність активаторів або інгібіторів.

Таким чином, ферменти належать до каталізаторів з регульованою активністю, що дуже важливо для підтримки гомеостазу.

#### **2.1. Аlostерична регуляція**

Багато ферментів належать до аlostеричних, тобто до регуляторних. Крім активного центру, вони мають *алостеричний центр*, який знаходиться у іншому місці молекули ферменту. Такі ферменти, як правило, складаються з декількох субодиниць, тобто належать до білків із четвертинною структурою. В одній із субодиниць міститься активний центр, а в іншій – аlostеричний центр, до якого приєднуються низькомолекулярні сполуки ефектори.

Ефектори можуть бути активаторами або інгібіторами реакцій.

#### **2.2. Активація кофакторами**

Наявність кофакторів – необхідна умова активності складних ферментів. Функції кофакторів найчастіше всього виконують активні

форми вітамінів або іони двох-, іноді одновалентних металів. Чверть відомих ферментів потребує металів для своєї активності. Наприклад, амілаза слини активується іонами натрію.

Активація металами здійснюється за різними механізмами:

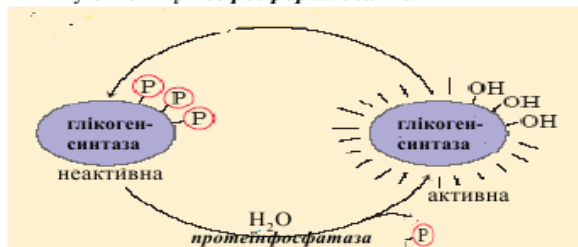
- іони металів приймають участь у формуванні та стабілізації активного центру;
- іони металів виконують роль простетичних груп;
- іони металів полегшують зв'язування субстрату з активним центром ферменту.

### 2.3. Фосфорилування дефосфорилування ферментів

Деякі ферменти активуються при фосфорилуванні (введені негативно зарядженої фосфатної групи) під дією ферменту протеїнкінази, наприклад:



Інші ферменти активуються при дефосфорилуванні:



### 3. Інгібування ферментів

Дослідження інгібування має дуже важливе значення для порозуміння механізмів дії багатьох ферментів, а також ферментативного каталізу. Воно допомагає вивчати метаболічні процеси. Інгібітори активності ферментів використовуються в фармакології, інших галузях промисловості.

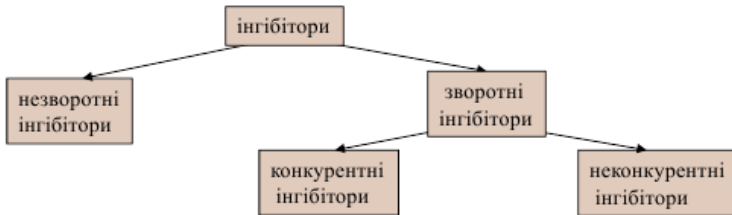
Інгібітори характеризуються міцністю зв'язування із субстратом (встановлюється за допомогою діалізу), тому вони розподіляються на дві групи:

1. Незворотні інгібітори – сполуки, що специфічно зв'язують функціональні групи ферментів, утворюючи з ними міцні ковалентні зв'язки.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

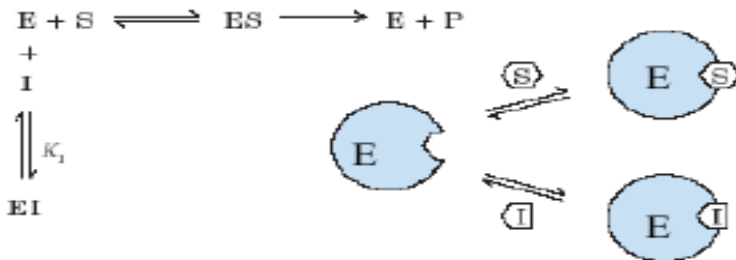
---

2. Зворотні інгібітори – утворюють неміцні, нековалентні зв'язки з ферментами та можуть дисоціювати від ферментів.



• **Конкурентне інгібування**

Субстрат і інгібітор подібні за хімічною структурою та конкурують за активний центр ферменту. Усунути можна високими концентраціями субстрату.



Дія багатьох лікарських засобів базується на конкурентному інгібуванні.

Наприклад, для лікування подагри, спричиненої накопиченням сечової кислоти, використовується конкурентний інгібітор ксантиноксидази алопуринол, який є структурним аналогом ксантину – проміжного продукту у процесі утворення сечової кислоти:



• **Неконкурентне інгібування**

Інгібітор (I) не має структурної подібності з субстратом (S), тобто спорідненості до активного центру ферменту, тому зв'язування

інгібітору з ферментом часто відбувається не в активному центрі, а в іншому місці молекули субстрату. При цьому може утворюватися потрійний комплекс ESI. Усунути неконкурентне інгібування високими концентраціями субстрату неможливо, для цього потрібні речовини, що зв'язують інгібітор.

Іноді при тривалій дії неконкурентного інгібітору та утворенні міцних зв'язків із ферментом таке інгібування стає *незворотним*. Незворотні інгібітори часто бувають токсичними.

Наприклад, цианіди, міцно зв'язуючись із ферумом, що входить до цитохромоксидази, блокують дихальний ланцюг, що призводить до клітинної смерті.

Іони важких металів також дуже токсичні, тому що вони блокують SH-групи у активному центрі ферментів, при цьому субстрат може зв'язуватися з активним центром ферменту, але продукти реакції не утворюються.

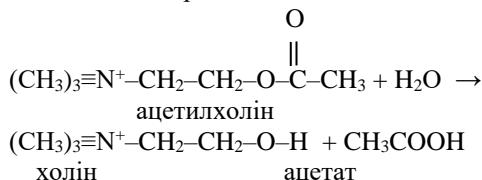
## II. Практична частина

### Алгоритм лабораторної роботи

*Дослідження активності холінестерази у різних зразках сироватки крові та впливу на неї інгібітора (фосфаколу).*

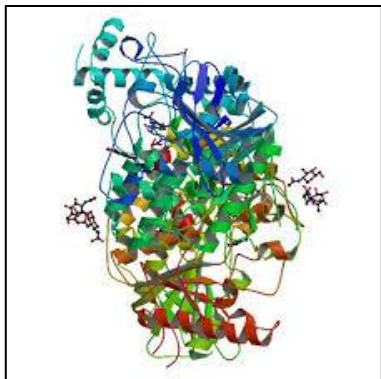
*Прилади та реактиви:* штатив з пробірками, піпетки, бюретка на 25 мл, водяна баня. 0,5% розчин фосфаколу, 2%-й розчин ацетилхоліну, NaOH 0,01 М, розчин фенолфталеїну, три зразка сироватки крові.

*Принцип методу.* Холінестераза (КФ 3.1.1.1) каталізує реакцію гідролізу нейромедіатора ацетилхоліну з утворенням холіну та оцтової кислоти згідно рівняння:



**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---



В крові людини міститься два види *холінестерази*. В сироватці міститься неспецифічна *псевдохолінестераза*, яка розщеплює не лише ацетилхолін, але й інші естери холіну. В еритроцитах міститься специфічна, істинна *ацетилхолінестераза*, яка розщеплює лише ацетилхолін.

Фосфорорганічні сполуки (ФОС, фосфакол) є незворотними інгібіторами холінестерази та ацетилхолінестерази, оскільки ковалентно зв'язуються з активним центром ферменту і гальмують його активність.

Механізм гальмівної дії полягає у зв'язуванні з ОН-групою серину в активному центрі ферменту.

Метод виявлення та кількісного визначення холінестерази ґрунтується на титруванні лугом оцтової кислоти, що вивільнилась в процесі гідролізу ацетилхоліну. Кількість лугу, що пішла на титрування, є мірою активності ферменту.

**Порядок виконання роботи.** Беруть три пари пробірок. У пробірки №№1 та 1а відміряють 2 мл сироватки крові № 1, у пробірки №№2 та 2а – 2 мл сироватки крові № 2, у пробірки №№3 та 3а – 2 мл сироватки крові № 3. До пробірок №№1а, 2а та 3а додають по 5 крапель 0,5% розчину фосфаколу. Всі пробірки інкубують при кімнатній температурі 5 хвилин.

Потім у кожному з шістьох пробірок з досліджуваними сироватками додають по 5 мл 2%-го розчину ацетилхоліну та інкубують при 37°C 10 хвилин.

Після цього послідовно до кожної з пробірок додають по 2 краплі фенолфталеїну і титрують (ретельно перемішуючі) вміст пробірок 0,01 М розчином NaOH до слабкорозового забарвлення.

Кількість лугу, що пішла на титрування, є мірою активності ферменту.

Заповнити таблицю: і скласти схему реакцію гідролізу ацетилхоліну.



Таблиця 2

**Результати дослідження активності ферменту**

Досліджувана сироватка	Кількість 0,01 М NaOH, що пішла на титрування, в мл	Активність холінестерази (за калібровальним графіком)	Висновок
№ 1			
№ 1а			
№ 2			
№ 2а			
№ 3			
№ 3а			

Таблиця 3

**Клініко-діагностичне значення показників активності ферменту**

Показники активності холінестерази в нормі	
для чоловіків: 5800...14600 Од/л;	для жінок: 5860...11800 Од/л.
Відхилення від норми	
Підвищення	Зниження
<ul style="list-style-type: none"> <li>● гіперліпопротеїнемія IV типу;</li> <li>● нефроз;</li> <li>● ожиріння, у тому числі й при цукровому діабеті;</li> <li>● ексудативна ентеропатія;</li> <li>● алкоголізм, психічні захворювання;</li> <li>● початок вагітності.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● печіночна патологія: цироз, гепатит, метастатичний рак печінки, застійна печінка при серцевій недостатності;</li> <li>● інфаркт міокарда;</li> <li>● онкологічні захворювання;</li> <li>● плазмаферез;</li> <li>● пізній строк вагітності;</li> <li>● гіпоальбумінемія;</li> <li>● стан після хірургічного втручання;</li> <li>● застосування деяких лікарських препаратів.</li> </ul>

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Фермент синтезується в печінці. Особливо багаті їм нервова й м'язова тканини. Холінестераза бере участь у транспорті іонів через мембрани кліток крові й скелетних м'язів, а також в регуляції збудливості й скоротності гладкої мускулатури й міокарда. Визначення активності холінестерази в сироватці крові використовується в медичній діагностиці для оцінки ризику виникнення можливих патологічних станів.

Фізіологічно активні сполуки, що є інгібіторами ацетилхолінестерази, мають важливе фармакологічне та токсикологічне значення, оскільки спричиняють значне підвищення концентрації нейромедіатора як в структурах центральної нервової системи, так і в організмі в цілому.

Зворотні інгібітори ацетилхолінестерази застосовуються в медицині з метою збільшення активності холінергічної імпульсації, порушеної при певних неврологічних захворюваннях, таких як атонія кишківника, сечового міхура. Із зазначеною метою застосовуються препарати: прозерин, фізостигмін, галантамін.

Незворотні інгібітори ацетилхолінестерази є потужними нервовими отрутами, які спричиняють різке збудження нервової системи із судомами, порушенням функції серцево-судинної, гастро-інтестинальної та інших фізіологічних систем організму. Найбільш поширеними незворотними інгібіторами є фосфорорганічні сполуки – ФОС. В сільському господарстві для боротьби зі шкідливими комахами використовують: хлорофос, дихлофос, метафос, карбофос, тощо. Нервово-паралітичними отрутами, що використовуються як бойові отруйні речовини є табун, зарин, зоман тощо.

Висока чутливість холінестерази до дії фосфорорганічних сполук робить її специфічним біохімічним маркером для виявлення впливу цих отрут на організм людини.

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання.**

1. Поясніть механізм перетворення субстрату за умов каталітичної дії ферменту.
2. Що таке активатори? Які речовини можуть бути активаторами ферментів?
3. Назвіть активатори та інгібітори для амілази слини.

4. Що таке незворотні інгібітори? Куди вони приєднуються у молекулі ферменту?

5. Які речовини можуть виступати активаторами та інгібіторами холінестерази?

### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** Для лікування гнійної ангіни хворому було призначено сульфадиметоксин (системний сульфаніламідний препарат тривалої дії). Поясніть, в чому полягає механізм його протимікробної дії.

**Завдання 2.** Після проведення клінічних досліджень пацієнту було поставлено діагноз – панкреатит. Разом із іншими лікарськими засобами йому було призначено інгібітор протеолітичних ферментів контрикал. Обґрунтуйте доцільність даного призначення.

**Завдання 3.** Хворий скаржиться на слабкість, нездужання, поганий апетит, нудоту, біль у правому підребер'ї та у суглобах. Біохімічні дослідження показали, що у крові підвищена активність аланінамінотрансферази та ЛДГ<sub>4,5</sub>. Яке захворювання можна припустити за відсутності жовтяниці?

### **3.3. Відповісти на тестові питання**

1. Під час операції у хворого після введення препарату, який викликає розслаблення м'язів, спостерігається тривала зупинка дихання (більше 5 хв). Недостатність якого з вказаних ферментів спостерігалась?

- A. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа
- B. Ацетилхолінестераза
- C. Моноамінооксидаза
- D. Ацетилтрансфераза
- E. Каталаза

2. У хворого зі скаргами на болі у ділянці серця за визначенням активності ферментів сироватки крові діагностовано інфаркт міокарда. Вкажіть, активність яких ферментів використовували?

- A. Трипсину, лізоциму, цитратсинтази
- B. Амілази, ліпази, фосфатази
- C. Пептидази, аргінази, глюкокінази
- D. ЛДГ, креатинкінази, трансамінази
- E. Альдолази, сукцинатдегідрогенази, гексокінази

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

3. У клінічній практиці застосовують для лікування туберкульозу препарат ізоніазид – антивітамін, який здатний проникати у туберкульозну паличку. Туберкулостатичний ефект обумовлений порушенням процесів реплікації, окисно-відновних реакцій завдяки утворенню несправжнього коферменту з:

- A. ТДФ
- B. ФАД
- C. ФМН
- D. НАД
- E. КоQ

4. У відділення реанімації надійшов чоловік 47-ми років з діагнозом інфаркт міокарда. Яка з фракцій лактатдегідрогенази (ЛДГ) буде переважати в сироватці крові впродовж перших двох діб захворювання

- A. ЛДГ<sub>1</sub>
- B. ЛДГ<sub>2</sub>
- C. ЛДГ<sub>3</sub>
- D. ЛДГ<sub>4</sub>
- E. ЛДГ<sub>5</sub>

5. Під час дослідження секреторної функції шлунка виявлено зменшення концентрації соляної кислоти в шлунковому соці. Активність якого ферменту при цьому буде знижуватись?

- A. Гексокінази
- B. Ліпази
- C. Пепсину
- D. Амілази
- E. Карбоксипептидази

6. У дієтології при непереносимості молока дітьми використовують молоко, в якому ферментативним шляхом зменшено вміст лактози. Який фермент використовують з цією метою?

- A.  $\alpha$ -Амілазу
- B.  $\beta$ -Галактозидазу
- C.  $\beta$ -Глюкозидазу
- D.  $\beta$ -Амілазу
- E.  $\alpha$ -Глюкозидазу

7. Біохімічний аналіз сироватки крові пацієнта з гепатолентикулярною дегенерацією (хвороба Вільсона-Коновалова) виявив зниження вмісту церулоплазміну. Концентрація яких іонів буде підвищена в сироватці крові цього пацієнта?

- A. Фосфору
- B. Кальцію
- C. Купруму
- D. Калію
- E. Натрію

8. До лікаря акушера-гінеколога звернулась вагітна жінка, у якої діагностували мегалобластну анемію. Який з нижченаведених засобів доцільно призначити?

- A. Ціанокобаламін
- B. Пентоксил
- C. Метилурацил
- D. Глауцин
- E. Стрептокіназа

9. Після видалення 2/3 шлунка у крові зменшилась кількість еритроцитів, зріс їх об'єм, знизився рівень гемоглобіну. Дефіцит якого вітаміну приводить до таких змін картини крові?

- A. P
- B. C
- C. P
- D. B<sub>6</sub>
- E. B<sub>12</sub>

10. Ціаніди блокують дію цитохромоксидази, сполучаючись з іонами заліза, які входять до активного центру ферменту. Який вид гальмування (інгібування) має місце?

- A. Конкурентне
- B. Алостеричне
- C. Зворотне
- D. Безконкурентне
- E. Неконкурентне

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.*  
*Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,*  
*ліпідів та його регуляція*

---

11. Препарати меркурію, арсену, вісмуту є інгібіторами ферментів, що мають тіолові групи (SH-групи) в активних центрах. Яку амінокислоту використовують для реактивації цих ферментів?

- A. Гліцин
- B. Цистеїн
- C. Валін
- D. Глутамат
- E. Серін

12. Ізоферменти широко використовують в діагностиці захворювань. Так, при інфаркті міокарду аналізують ізоферментний склад:

- A. Аланінамінотрансферази
- B. Аспартатамінотрансферази
- C. Лактатдегідрогенази
- D. Малатдегідрогенази
- E. Протеїнкінази

13. При малярії призначають препарати – структурні аналоги вітаміну B<sub>2</sub> (рибофлавіну). Порушення синтезу яких ферментів в плазмодії викликають ці препарати?

- A. Пептидаз
- B. Цитохромоксидази
- C. ФАД-залежних дегідрогеназ
- D. НАД-залежних дегідрогеназ
- E. Амінотрансфераз

14. В лікарню потрапила робітниця хімічного підприємства з ознаками отруєння. У волоссі жінки знайдено підвищену концентрацію арсенату, який блокує ліпоєву кислоту. Вкажіть, порушення якого процесу є вірогідною причиною отруєння?

- A. Окисного декарбоксилювання ПБК
- B. Мікросомального окиснення
- C. Відновлення метгемоглобіну
- D. Відновлення органічних пероксидів
- E. Знешкодження супероксидних іонів

15. Злоякісна гіперхромна анемія – хвороба Бірмера – виникає внаслідок дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>. Який біоелемент входить до складу цього вітаміну?

- A. Цинк
- B. Молібден
- C. Кобальт
- D. Ферум
- E. Магній

16. У хворого спостерігається гемералопія (куряча сліпота). Яка із перерахованих речовин буде мати лікувальну дію?

A patient suffers from hemeralopia. Which of the suggested substances will have curable effect?

- A. Creatine
- B. Keratin
- C. Carotene
- D. Carnitine
- E. Carnosine

17. У хворого в наслідок неповноцінного харчування з'явилася діарея, деменція і дерматит. Нестачею якого вітаміну зумовлений даний стан?

A patient suffers diarrhea, dementia and dermatitis. The absence of which vitamin is the cause of such clinical state?

- A. Ascorbic acid
- B. Thiamine
- C. Riboflavin
- D. Nicotinamide
- E. Cobalamin

18. У хворого виявлена болючість по ходу крупних нервових стволів та підвищений вміст пірувату в крові. Недостатність якого вітаміну може викликати такі зміни

Pain along large nervous stems and increased amount of pyruvate in the blood were revealed in the patient. Insufficiency of what vitamin can cause such change?

- A. Biotin
- B. В<sub>2</sub>

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---

- C. PP
- D. Pantothenic acid
- E. B<sub>1</sub>

19. У хворого в крові збільшена концентрація пірувату, значна кількість екскретується з сечею. Який авітаміноз спостерігається у хворого?

Concentration of pyruvate is increased in the patient's blood, the most of which is excreted with urine. What avitaminosis is observed in the patient?

- A. Avitaminosis E
- B. Avitaminosis B<sub>1</sub>
- C. Avitaminosis B<sub>3</sub>
- D. Avitaminosis B<sub>6</sub>
- E. Avitaminosis B<sub>2</sub>

20. Хвора звернулася до травм пункту з приводу нагноєння різаної рани. Лікар для очищення рани від гнійних виділень, промив її 3% розчином гідроген пероксиду. При цьому піна не утворилася. З чим пов'язана відсутність дії препарату?

Patient with abscess of the cut wound applied to the traumatological department. Doctor for the cleaning of the wound from the pus washed it with 3% hydrogen peroxide. Foam was absent. What caused the absence of the drug activity?

- A. Низька концентрація H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- B. Наявність у рані гнійного вмісту
- C. Спадкова недостатність каталази
- D. Спадкова недостатність фосфатдегідрогенази еритроцитів
- E. Неглибока рана

21. У хворого діагностовано мегалобластичну анемію. Вкажіть сполуку, недостатня кількість якої може приводити до розвитку цієї хвороби.

A patient was diagnosed with megaloblastic anemia. The lack of which substance in the human organism can cause this disease?

- A. Magnesium
- B. Glycine.
- C. Copper
- D. Cholecalciferol
- E. Cobalamine



22. У 2-річної дитини кишечний дисбактеріоз, на фоні якого проявився геморагічний синдром. Найбільш імовірною причиною геморагій у цієї дитини є:

A 2-year-old child developed intestinal dysbacteriosis with a hemorrhage syndrome. The most probable cause of this syndrome is:

- A. Vitamin PP deficiency
- B. Activation of tissue thromboplastin
- C. Vitamin K deficiency
- D. Fibrinogen deficiency
- E. Hypocalcemia

23. Посилення пероксидного окиснення ліпідів і біополімерів є одним із основних механізмів пошкодження структури та функції клітинних мембран і загибелі клітин. Причиною цього є:

Activation of lipid peroxidation of membranes is one of the basic mechanisms of membrane structure and functions damage as well as the death of a cell. The cause of this pathology is:

- A. Vitamin E deficiency
- B. Vitamin B<sub>1</sub> deficiency
- C. Vitamin B<sub>2</sub> hypervitaminosis
- D. Vitamin B<sub>6</sub> deficiency
- E. Vitamin B<sub>12</sub> hypervitaminosis

24. In human saliva there is an enzyme that renders potent bactericidal action due to the ability to destroy peptidoglycans of the bacterial wall. Name this enzyme.

- A.  $\alpha$ -Amylase
- B. Lysozyme
- C. Trypsin
- D. Phosphatase
- E. Ribonuclease

25. У клінічній практиці для лікування туберкульозу застосовують препарат ізоніазид – антивітамін, який здатний проникати у туберкульозну паличку. Туберкулостатичний ефект обумовлений порушенням процесів реплікації, окисно-відновних реакцій, завдяки утворенню несправжнього коферменту:

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---

In clinical practice tuberculosis is treated with isoniazid preparation – that is an antitubercular drug able to penetrate into the tuberculosis bacillus. Tuberculostatic effect is induced by the interference with replication processes and oxidation-reduction reactions due to the synthesis of pseudocoenzyme:

- A. FAD
- B. NAD
- C. FMN
- D. IDP
- E. CoQ

## Практичне заняття № 4

### ТЕМА: ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ ТА КІНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛІЗУ.

**Навчальна мета:** опанування складної будови та функціональної організації ферментів, що є ключем до розуміння характерних властивостей ферментів – високої специфічності та швидкості каталізу; засвоєння механізму дії ферментів та кінетики ферментативного каталізу, що лежить в основі розуміння метаболічних процесів у клітинах, тканинах та органах організму, що важливо для засвоєння перебігу хімічних перетворень і застосування ферментних препаратів, їх інгібіторів у фармації.

**Знати:** основні положення кінетики ферментативного каталізу: залежність швидкості реакції від температури, рН середовища, концентрації субстрату та ферменту; утворення фермент-субстратного комплексу та процес перетворення субстрату; рівняння Міхаеліса-Ментен; смислове значення величини  $K_m$  (спорідненість ферменту до субстрату).

**Вміти:** пояснювати механізм дії ферментів на основі спорідненості ферменту до субстрату та процесів, що перебігають у фермент-субстратному комплексі, аналізувати та трактувати кінетику ферментативних реакцій.

Таблиця 1

#### План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття

Основні напрямки теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань		Джерело
1. Механізми дії ферментів.	1.1. Термодинамічні закономірності ферментативного каталізу. 1.2. Активні центри ферментів. Відмінності будови активних центрів у простих та складних ферментів. 1.3. Ферментативне перетворення субстратів за каталітичної дії	[1] 34–55, [2] 98–114, [3] 122–156 [5] – №3.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

	ферменту на прикладі дії хімотрипсину та ацетилхолінестерази. Послідовність етапів каталітичного процесу.	
2. Кінетика ферментативних реакцій.	2.1. Залежність швидкості реакцій від концентрації ферменту, субстрату, рН та температури. 2.2. Константа Міхаеліса-Ментен, її смислове значення.	[1] 34–55, [2] 98–114, [3] 122–156 [5] – №3.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення визначення амілази слини.	1.1. Кількісне визначення активності амілази слини за Вольгемутом.	

## **I. Короткі теоретичні відомості**

### **1. Термодинамічні закономірності ферментативного каталізу.**

Ферменти збільшують швидкості біохімічних реакцій у 108...1020 разів; при відсутності ферменту будь-яка метаболічна реакція практично не відбувається.

- Різниця між вільною енергією вихідних речовин і продуктів реакції визначає ймовірність перебігу цієї реакції.

- Якщо вона вище у вихідних речовин, то можливий самовільний перебіг реакції (екзергонічна реакція), якщо навпаки, реакція стає енергетично неможливою (ендергонічна реакція).

- Швидкість екзергонічних реакцій залежить від енергетичного бар'єру, тобто енергії активації. Це та додаткова кількість енергії, яка необхідна для переходу молекул (субстратів S) у перехідний (активований) стан (S\*), який передуює їх перетворенню в продукти реакції.

Каталізатор (фермент) не впливає на вільну енергію вихідних речовин і продуктів, але він впливає на енергетичний профіль, тобто у присутності каталізатора реакція перебігає через низький енергетичний бар'єр.

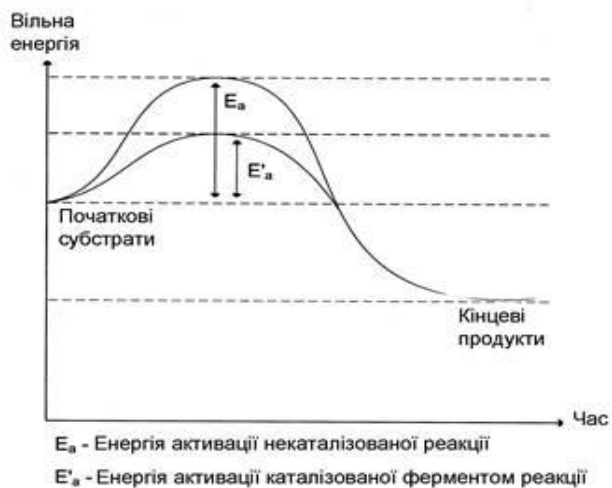
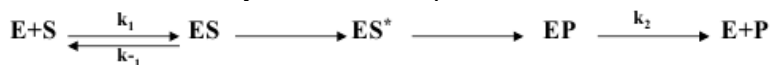


Рис.1. Термодинаміка перебігу екзергонічних реакцій.

• Таким чином, згідно наведеної вище схеми, ферменти суттєво зменшують *енергію активації реакції*, в результаті чого швидкість ферментативної реакції суттєво підвищується на відміну від неферментативної реакції.

## 2. Механізм дії ферментів

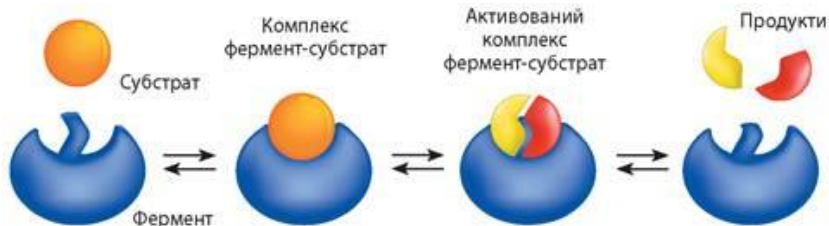
Згідно положень, які викладені у роботах Міхаеліса і Ментен, процес ферментативного каталізу складається з трьох стадій:



де  $k_1$  – константа швидкості утворення ферментосубстратного комплексу;  $k_{-1}$  – константа швидкості зворотної реакції, розпаду ферментосубстратного комплексу;  $k_2$  – константа швидкості утворення продукту реакції.

1. Дифузія субстрату до ферменту та утворення  $ES$  (ферментосубстратного) комплексу. Це швидка та зворотна стадія. Протягом цієї стадії реалізується точна просторова, геометрична та електростатична відповідність (комплементарність) між активним центром ферменту та субстратом. (рис. 2).

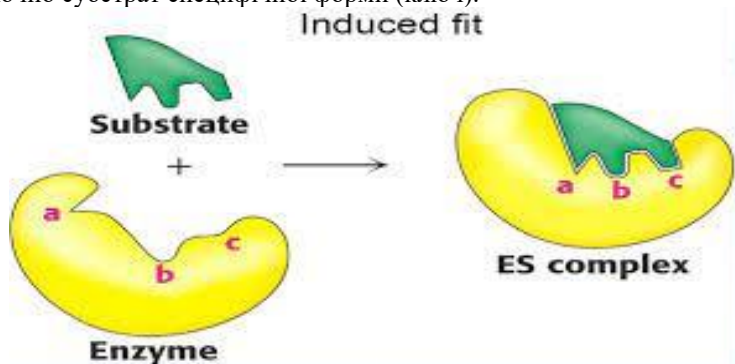
**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**



**Рис. 2.** Схема механізму ферментативної дії.

В основі *специфічності* дії ферменту лежить чітка відповідність структури субстрату активному центру ферменту, що забезпечує утворення фермент-субстратного комплексу ES.

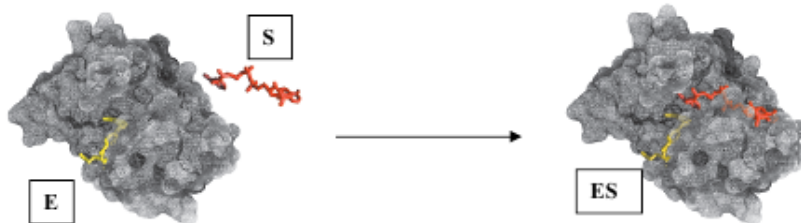
Перша модель активного центру (рис. 3.), запропонована Е. Фішером, трактувала взаємодію ферменту із субстратом як «ключ – замок», тобто жорстку матрицю: активний центр (замок) здатний прийняти виключно субстрат специфічної форми (ключ).



**Рис. 3.** Схема механізму специфічної ферментативної дії із жорсткою відповідністю структури субстрату структурі активного центру.

Але у молекулі білку-ферменту жорсткі ділянки чергуються з гнучкими, тому кращою є теорія індукованої відповідності, котра була пізніше запропонована Д. Кошландом. Ця теорія припускає гнучкість каталітичного центру (рис. 4). Субстрат індукує конформаційні зміни

активного центру ферменту, прибудовуючи його до своєї структури. Фермент, у свою чергу, також може спричинити перебудову субстрату до себе.



**Рис. 4.** Схема механізму ферментативної дії із індукованою відповідністю структури субстрату структурі активного центру.

2. Перетворення первинного ES комплексу у активований  $ES^*$ . Ця стадія відбувається повільно, при цьому за допомогою функціональних груп ферменту зв'язки субстрату розхитуються та зменшується енергія активації реакції.

3. Відокремлення продуктів реакції від активного центру та їхня дифузія у середовище. Фермент не входить до складу кінцевих продуктів реакції.

Ефективність ферментативного каталізу пояснюється наступними молекулярними ефектами:

1. *Орієнтацією реагентів*: субстрат з'єднується із ферментом як мінімум у трьох місцях (тричоткова фіксація), що забезпечує високу вибірковість (комплементарність) зв'язування та орієнтацію субстрату. Це призводить до збільшення швидкості реакції у сотні та тисячі разів, що неможливо при безладних взаємодіях.

2. *Напруженням і деформацією*: при зв'язуванні з активним центром молекула субстрату деформується, напружується, місця деформації розриваються більш легко.

3. *Кислотно-основним каталізом*: ферменти як білки мають у активному центрі кислотні та основні групи, тому вони можуть бути донорами або акцепторами протонів, що відрізняє ферменти від неорганічних каталізаторів. Це полегшує перебудову та розрив зв'язків у субстраті.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

4. *Ковалентним каталізом*: до активного центру ферментів можуть входити групи, здатні утворювати ковалентні зв'язки з субстратом із наступним формуванням несталіх *ES* комплексів та швидким вивільненням продуктів реакції.

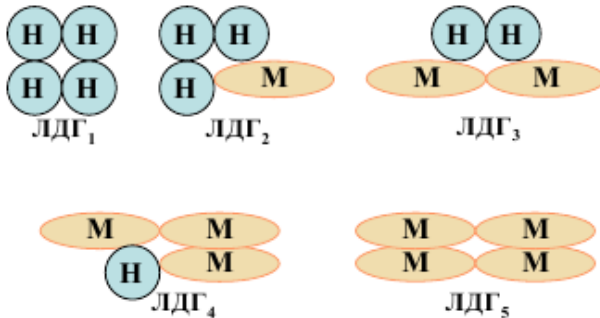
Як правило, для ферментів притаманно поєднання усіх цих механізмів, що забезпечує їхню високу активність та специфічність.

### 3. Ізоферменти

Множинні форми ферментів – це група ферментних білків, які відрізняються між собою фізико-хімічними властивостями, спорідненістю до субстрату, але вони каталізують одну й ту ж саму реакцію.

Серед множинних форм ферментів виділяють ізоферменти, у котрих фізико-хімічні відмінності мають генетичне походження. Вміст окремих ізоферментів у різних клітинах і навіть органах неоднаковий, що дозволяє використовувати визначення їхньої активності для диференціальної діагностики вражень різних органів і тканин.

Наприклад, лактатдегідрогеназа (ЛДГ), складний фермент із четвертинною структурою, складається з чотирьох субодиниць двох типів: Н і М. Комбінація цих субодиниць (поліпептидних ланцюгів) дає п'ять ізоферментних форм ферменту. Ці ізоферменти характеризуються неоднаковою швидкістю руху в електричному полі, тому для їхнього розділення використовується електрофорез. Ферменти органоспецифічні, тобто локалізовані у різних органах: ЛДГ<sub>1</sub> – переважно у серцевому м'язі, ЛДГ<sub>5</sub> – у скелетних м'язах. У крові їхній вміст у нормі мінімальний.



При деструкції органа (інфаркті міокарда) концентрація ЛДГ<sub>1</sub> у крові суттєво підвищується. Такі ферменти або їхні ізоферментні форми називаються *індикаторними*.



#### 4. Кінетика ферментативних реакцій.

Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату виражається наступним рівнянням Міхаеліса-Ментен:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}.$$

$V_{\max}$  і  $K_m$  – кінетичні характеристики ефективності дії ферменту.

$V_{\max}$  – характеристика каталітичної активності ферменту й має розмірність швидкості ферментативної реакції моль/л, тобто визначає максимальну можливість утворення продукту за даної концентрації ферменту й за умов надлишку субстрату.

$K_m$  характеризує спорідненість даного ферменту до даного субстрату і є величиною постійною, яка не залежить від концентрації ферменту. Чим менша  $K_m$ , тим більшою є спорідненість ферменту до даного субстрату, тим вища початкова швидкість реакції і навпаки, чим більша  $K_m$ , тим менша початкова швидкість реакції, тим менша спорідненість ферменту до субстрату.

##### 4.1. Залежність швидкості ферментативних реакцій від концентрації субстрату і ферменту

Графічно залежність швидкості реакції від концентрації субстрату описується гіперболою.

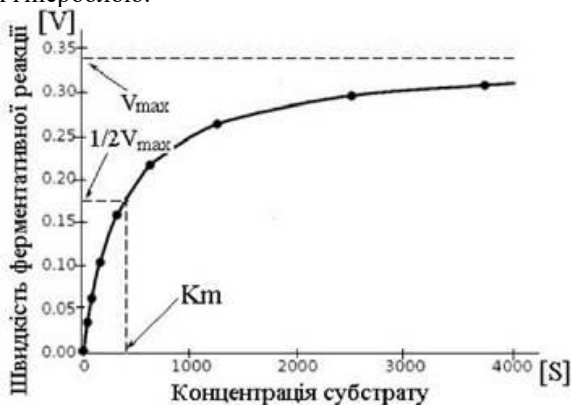


Рис. 5. Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

За низьких концентрацій субстрату, коли всі його молекули можуть зв'язатися з активними центрами ферменту, концентрація субстрату і швидкість ферментативного процесу прямо пропорційні (рис. 5). Після того, як усі активні центри будуть зайняті, подальше збільшення кількості субстрату вже не впливатиме на концентрацію проміжного комплексу  $ES$  і швидкість ферментативної реакції досягне максимального значення. Це відбудеться за умови, що вся наявна кількість ферменту буде зв'язана із субстратом у проміжний комплекс  $ES$ .

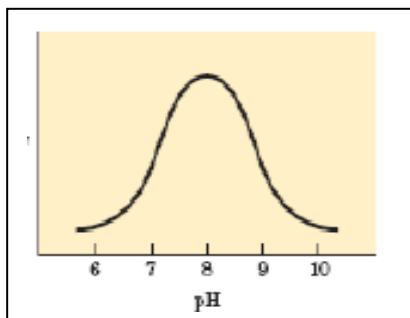
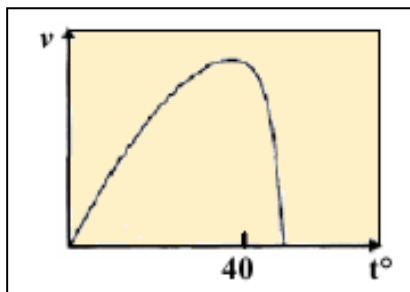


**Рис. 6.** Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації ферменту

Зі збільшенням концентрації ферменту швидкість ферментативної реакції зростає прямо пропорційно (рис. 6) за наявності субстрату. Однак надмірне збільшення концентрації  $E$  призводить до того, що субстрату стає менше, ніж ферменту, і це виявляється зменшенням зростання швидкості реакції.

#### **4.2. Залежність активності ферменту від температури (термолабільність)**

У певному обмеженому інтервалі швидкість реакції зростає при підвищенні температури, тому що збільшується кінетична енергія молекул. Температура, за якої активність ферменту максимальна, називається *температурним оптимумом*. Для більшості ферментів людини температурний оптимум становить 37...40 °С. При подальшому підвищенні



температури відбувається денатурація ферменту, та реакція зупиняється

Низькі температури також впливають на активність ферментів – перебіг ферментативних процесів сповільнюється, але структура не руйнується .

#### **4.3. Вплив pH середовища на швидкість ферментативної реакції**

Ця залежність визначається наступними чинниками:

- денатурацією ферментів при дуже високих або дуже низьких значеннях pH середовища реакції;
- зміною величин зарядів субстратів або ферментів.

В активному центрі ферментів є групи, здатні до іонізації, тому

зміна pH середовища реакції призводить до зміни ступіню іонізації функціональних груп, що може спричинити конформаційні зміни у ферментах і, таким чином, змінити його активність.

Згідно рисунку швидкість ферментативних реакцій зі збільшенням pH різко зростає і, досягнувши певного максимуму, знову різко спадає. Значення pH, за якого активність ферменту максимальна, називається *pH-оптимумом* ферменту. Для більшості ферментів таке значення pH перебуває в межах 6...8, а pH-оптимум внутрішньоклітинних ферментів становить 7 .

## **II. Практична частина**

### **Алгоритм лабораторної роботи**

#### **Кількісне визначення активності амілази за Вольгемуттом:**

**Принцип методу.** Метод Вольгемута ґрунтується на здатності амілази розщеплювати (гідролізувати) крохмаль. В ході роботи знаходять таке розведення слини, яке розщеплює 2 мг крохмалю (в 2 мл 0,1% розчину крохмалю) за 30 хвилин при  $t = 38^{\circ}\text{C}$ . За отриманими даними

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

розраховують кількість крохмалю, що розщеплюється 1 мл нерозведеної слини.

*В нормі активність амілази слини – 160-320 ум. од.*

**Прилади та реактиви:** штатив з мірними пробірками, піпетки, бюретка на 25 мл, водяна баня, слина, 0,1% р-н крохмалю, вода дистильована, розчин Люголя (0,1% розчин I<sub>2</sub> в 0,2 % розчині KI), NaOH 0,01 M, розчин фенолфталеїну, три зразки сироватки крові.

**Порядок виконання роботи.**

1. У мірну пробірку набирають 1 мл нерозведеної слини і додають 9 мл води (тобто, розводять слину в 10 разів).

2. В 10 пробірок наливають по 1 мл води.

3. В першу із десятих пробірок з водою додають 1 мл розведеної слини із мірної пробірки (див. п. 1), перемішують.

4. Із цієї пробірки набирають піпеткою 1 мл суміші і переносять її в другу пробірку, перемішують.

5. Із другої – таким же чином у 3-у і т. д., до 10-ї пробірки. Із 10-ї пробірки 1 мл суміші виливають.

6. У всі десять пробірок із сумішами додають по 1 мл води та по 2 мл 0,1% розчину крохмалю, перемішують.

7. Пробірки переносять до водяної бані, де залишають на 30 хвилин при  $t = 38^{\circ}\text{C}$ .

8. Через 30 хвилин пробірки виймають і до кожної додають по 2 краплі розчину Люголя, перемішують.

9. Рідина в пробірках (в залежності від вмісту слини та активності амілази) забарвлюється в жовтуватий, рожевий або фіолетовий кольори. Відмічають останню пробірку з жовтим кольором, де гідроліз крохмалю пройшов повністю і проводять розрахунок.

**Розрахунок:**

Відмічають пробірку, де гідроліз крохмалю пройшов повністю. Наприклад, жовтий колір з'явився у 4-й пробірці, де слина розведена в 160 разів. Відповідно, 1/160 мл слини розщеплює 2 мл 0,1% розчину крохмалю, а 1 мл нерозведеної слини буде розщеплювати X мл 0,1% розчину крохмалю:

1/160 мл – 2 мл

1 мл – X мл

$$X = \frac{2 \times 1 \times 160}{1} = 320 \text{ мл } 0,1\% \text{ розчину крохмалю.}$$

Таким чином, амілазна активність слини дорівнює 320 ум. од.

***Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.***

***Значення для фармації та клінічної діагностики.*** Амілаза гідролізує крохмаль і декстрини. В організмі вона переважно синтезується в слинних і підшлунковій залозах, хоч її активність реєструється і в печінці, нирках, кишках, легенях, а також у сечі та сироватці крові.

Підвищення активності амілази спостерігають при панкреатиті, перитоніті, тромбозі судин, унаслідок введення в організм морфіну, кодеїну, АКТГ та кортизолу тощо.

При гострих панкреатитах активність амілази сечі та сироватки крові зростає в 10...30 разів, особливо протягом першої доби захворювання, потім поступово повертається до норми.

Підвищення активності амілази слинних залоз спостерігають при нирковій недостатності, стоматиті, невралгії лицевого нерва, паркінсонізмі.

Зниження активності амілази спостерігають при психічних захворюваннях, які супроводжуються збудженням або депресією, при анацидних порушеннях.

### **III. Питання для самопідготовки**

#### ***3.1. Розкрити питання.***

1. Охарактеризувати складність будови та функціональної організації ферментів.

2. Навести основні положення кінетики ферментативного каталізу: залежність швидкості реакції від температури, рН середовища, концентрації субстрату та ферменту.

3. Згідно положень, які викладені у роботах Міхаеліса і Ментена, пояснити механізм дії ферментів на основі спорідненості ферменту до субстрату та процесів, що перебігають у фермент-субстратному комплексі.

4. Що таке ізоферменти? Дати пояснення на прикладі лактатдегідрогенази (ЛДГ). В чому полягає їхня органоспецифічність та клініко-діагностичне значення визначення активності?

5. Розкрити клініко-діагностичне значення визначення активності  $\alpha$ -амілаза.

#### ***3.2. Розв'язати ситуаційні завдання***

***Завдання 1.*** При скаргах пацієнтів на болі у області серця або печінки – поряд з іншими біохімічними показниками досліджують

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

активність ізоферментів ЛДГ (лактатдегідрогенази). Поясніть, чому? До якого класу належить цей фермент?

**Завдання 2.** Кокарбоксилаза (тіамінпірофосфат) є складовою небілковою частиною (коферментом) ферментів, що регулюють обмінні процеси. В організмі утворюється з тіаміну внаслідок його фосфорилування, де бере участь у побудові низки ферментів, які каталізують важливі біохімічні процеси. Особливо важливу роль відіграє у вуглеводневому обміні, зокрема в окиснювальному декарбоксилуванні кетокислот (пірвіноградної,  $\alpha$ -кетоглютарової), а також у пентозофосфатному шляху розпаду глюкози. За типом названої реакції визначте клас, до якого належать ферменти, до складу яких входить тіаміндифосфат. Який вітамін входить до складу коферменту? Назвіть інші вітаміни, які виконують коферментні функції.

**Завдання 3.** Якщо до біологічної системи, що містить фермент глікогенсинтазу в активному стані, ввести фермент кіназу глікогенсинтази та достатню кількість АТФ, фермент втратить свою початкову активність. У чому причина зниження активності глікогенсинтази? Що потрібно зробити, щоб повернути ферменту його активність?

### **3.3. Відповіді на тестові питання**

1. При вживанні свіжого молока у дитини спостерігаються розлади шлунково-кишкового тракту, тоді як вживання інших вуглеводовмісних продуктів не викликає подібних порушень. Генетично детерміновану відсутність якого ферменту можна передбачити в даному випадку?

- A. Глюкозо-6-фосфатізомерази
- B. Глікогенсинтетази
- C. Гексокинази
- D. Фосфоглюкомутази
- E. Лактази

2. В еритроцитах з  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$  утворюється карбонатна кислота. Який фермент забезпечує синтез карбонатної кислоти в еритроцитах та її розщеплення в капілярах легень?

- A. Амілаза
- B. Карбоангідраза
- C. Лужна фосфатаза
- D. Ліпаза
- E. Еластаза

3. У хворого 37-ми років на фоні тривалого застосування антибіотиків спостерігається підвищена кровоточивість при невеликих пошкодженнях. У крові – зниження активності факторів згортання крові II, VII, IX, X, подовження часу згортання крові. Недостатністю якого вітаміну обумовлені зазначені зміни?

- A. Вітамін D
- B. Вітамін E
- C. Вітамін B1
- D. Вітамін K
- E. Вітамін P

4. У чоловіка 53 років діагностовано сечокам'яну хворобу з утворенням уратів. Цьому пацієнту призначено алопуринол, який є конкурентним інгібітором ферменту:

- A. Уреази
- B. Ксантиноксидази
- C. Уратоксидази
- D. Дигідроурацилдегідрогенази
- E. Уридилілтрансферази

5. При дослідженні крові хворого виявлено значне збільшення активності МВ-форм КФК (креатинфосфокінази) та ЛДГ<sub>1</sub>. Яка найбільш імовірна патологія?

- A. Гепатит
- B. Ревматизм
- C. Холецистит
- D. Панкреатит
- E. Інфаркт міокарда

6. При дослідженні крові у хворого виявлена виражена гіпоглюкоземія натщесерце. При дослідженні біоптату печінки виявилось, що в клітинах печінки не відбувається синтез глікогену. Недостатність якого фермента є причиною захворювання?

- A. Глікогенсинтетази
- B. Глікогенфосфорилази
- C. Альдолази
- D. Фруктозодифосфатази
- E. Піруваткарбоксілази

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

7. У експериментальних тварин з раціону харчування вилучили ліпоєву кислоту, при цьому у них спостерігалось інгібування піруватдегідрогеназного комплексу. Чим являється ліпоєва кислота для цього фермента?

- A. Коферментом
- B. Субстратом
- C. Інгібітором
- D. Аlostеричним регулятором
- E. Продуктом

8. В крові хворого виявлено високий вміст галактози, концентрація глюкози знижена, відмічено розумову відсталість, змутнення кришталика. Яке захворювання має місце?

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

9. У хворого в крові збільшена концентрація пірувату. Значна його кількість екскретується з сечею. Дефіцит якого вітаміну має місце у хворого?

- A. E
- B. B2
- C. B3
- D. B1
- E. B6

10. В середовище, що містить сукцинат та фермент сукцинатдегідрогеназу (СДГ), додали інгібітор малонат. При збільшенні концентрації субстрату активність ферменту відновились. Назвіть тип інгібування:

- A. Аlostеричне
- B. Необоротне
- C. Оборотно неконкурентне
- D. Зворотне
- E. Оборотно конкурентне



11. У чоловіка 50-ти років, який довгий час зловживав алкоголем, виник сильний біль в животі. Лікар запідозрив гострий панкреатит. Збільшення активності якого ферменту в крові підтвердить цей діагноз?

- A. Трансамінази
- B. Амілази
- C. Ліпази
- D. Лактатдегідрогенази
- E. Креатинфосфкінази

12. У експериментальних тварин з харчування виключили ліпоєву кислоту, при цьому у них спостерігалось гальмування піруватдегідрогеназного мультиферментного комплексу. Ліпоєва кислота для цього ферменту є:

- A. Продуктом
- B. Субстратом
- C. Інгібітором
- D. Аlostеричним регулятором
- E. Коферментом

13. При лікуванні багатьох хвороб використовують фармацевтичний препарат кокарбоксілазу (тіамінпірофосфат) для забезпечення клітин енергією. При цьому активується процес:

- A. Декарбоксілування амінокислот
- B. Дезамінування глутамату
- C. Окисного декарбоксілування пірувату
- D. Дезамінування біогених амінів
- E. Окисного фосфорилування

14. Хворому призначено гідразид ізонікотинової кислоти (антивітамін вітаміну РР). Недостатність синтезу якого коферменту спостерігається у цього пацієнта?

- A. НАД<sup>+</sup>
- B. ФАД
- C. ФМН
- D. КоА-SH
- E. ТПФ

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

15. В організмі людини хімотрипсин секретується підшлунковою залозою у вигляді неактивного попередника хімотрипсиногену і в порожнині кишок зазнає обмеженого протеолізу з перетворенням на активний хімотрипсин під дією:

- A. Пепсину
- B. Ентерокинази
- C. Трипсину
- D. Амінопептидази
- E. Карбоксипептидази

16. У пацієнта після вживання сирих яєць з'явилися дерматити. Який розвився авітаміноз?

- A. Авітаміноз біотину
- B. Авітаміноз фолієвої кислоти
- C. Авітаміноз пантотенової кислоти
- D. Авітаміноз параамінобензойної кислоти
- E. Авітаміноз аскорбінової кислоти

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

What medicines should be prescribed to a patient with acute pancreatitis to prevent pancreas autolysis?

- A. Amylase
- B. Proteases activators
- C. Trypsin
- D. Chymotrypsin
- E. Proteases inhibitors

18. У хворого різко підвищилася кровоточивість ясен. Які вітаміни слід призначити цьому пацієнту?

A patient is complaining of gums bleeding. What vitamins are to be prescribed for the treatment of this patient?

- A. A, E
- B. B<sub>1</sub>.B<sub>2</sub>
- C. C, K
- D. PP, B<sub>12</sub>
- E. Biotin, panthothenic acid

19. При ентеробіозі призначають акрихін – структурний аналог вітаміну В<sub>2</sub>. Порушення синтезу яких ферментів у мікроорганізмів викликає цей препарат?

In case of enterobiasis acrihine - the structural analogue of vitamin B<sub>2</sub> - is administered. The synthesis disorder of which enzymes does this medicine cause in microorganisms?

- A. FAD-dependent dehydrogenases
- B. Cytochrome oxidases
- C. Peptidases
- D. NAD-dependent dehydrogenases
- E. Aminotransferases

20. Для діагностики деяких захворювань визначають активність ферментів трансаміназ у крові. Який вітамін входить до складу кофакторів даних ферментів?

A number of diseases can be diagnosed by evaluating activity of blood transaminases. What vitamin is one of cofactors of these enzymes?

- A. B<sub>12</sub>
- B. B<sub>2</sub>
- C. B<sub>1</sub>
- D. B<sub>6</sub>,
- E. B<sub>5</sub>

21. У чоловіка 58 років клінічна картина гострого панкреатиту. Підвищення в сечі якої з перерахованих нижче речовин буде підтвердженням діагнозу?

A 58-year-old man has a clinical picture of acute pancreatitis. The increase of what substance in the urine from below mentioned will confirm the diagnosis?

- A. Uric acid
- B. Nonprotein (rest) nitrogen
- C. Urea
- D. Albumin
- E. Amylase

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

22. У відділення інтенсивної терапії доставлено жінку 50 років з діагнозом інфаркт міокарду. Активність якого ферменту буде найбільш підвищена на протязі перших двох діб?

A 50-year-old woman was brought to an emergency clinic with the diagnosis of myocardial infarction. The activity of what enzyme will prevail in her blood plasma during the first two days after hospitalization?

- A. Acidic phosphatase
- B. Glutamyl transpeptidase
- C. Alkaline phosphatase
- D. Aspartate aminotransferase
- E. Hexokinase

23. Інститут геронтології людям літнього віку радить вживати комплекс вітамінів, який містить вітамін E. Яку головну функцію він виконує?

The Insititute of gerontology recommends the aged people to take a complex of vitamins that contains vitamin E. What is the basic biological action of vitamin E?

- A. Антиневритичну
- B. Антигеморагічну
- C. Антискорбутичну
- D. Антиоксидантну
- E. Антидерматичну

24. In the course of treatment of parodontal disease the application of natural and synthetic antioxidants is recommended. Which of the below listed natural substances is used as an antioxidant?

- A. Choline
- B. Thiamine
- C. Gluconate
- D. Pyridoxine
- E.  $\alpha$ -Tocopherol

25. The simultaneous disorder of the human reproductive function and the dystrophy of skeletal muscles are caused by the deficiency of:

- A. Vitamin A
- B. Vitamin E
- C. Vitamin K
- D. Vitamin D
- E. Vitamin B<sub>2</sub>

## Практичне заняття № 5

### ТЕМА: ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ

**Навчальна мета:** уявити тісний взаємозв'язок різних видів обміну речовин та спільні механізми регуляції в нормі та при патології, засвоїти послідовність реакцій та біологічне значення циклу трикарбонових кислот як універсального кінцевого шляху окиснювального катаболізму клітини, оволодіти методами дослідження функціонування ЦТК мітохондрій.

**Знати:** послідовні стадії обміну речовин, механізми регуляції основних метаболічних процесів (трьох спільних стадій), біохімічні закономірності функціонування ЦТК, його амфіболічну сутність.

**Вміти:** трактувати біохімічні закономірності перебігу обміну речовин: катаболічні, анаболічні, амфіболічні шляхи метаболізму; пояснювати біохімічні механізми регуляції процесів анаболізму та катаболізму; трактувати біохімічні закономірності функціонування циклу трикарбонових кислот, його анаплеротичні реакції та амфіболічну сутність; пояснювати біохімічні механізми регуляції циклу трикарбонових кислот та його ключову роль в обміні речовин та енергії.

Таблиця 1

#### План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття

Основні напрямки теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань	Джерело	
1. Метаболічні шляхи. Визначити поняття катаболічні, анаболічні та амфіболічні шляхи метаболізму.	1.1. Катаболізм як сукупність процесів розщеплення біомолекул (глюкоза, амінокислоти, жирні кислоти до кінцевих продуктів). 1.2. Анаболізм як синтез біомолекул, необхідних для побудови клітинних структур.	[1] 77–94, [2] 115–121, [3] 182–196 [5] – №4.
2. Екзергонічні та ендергонічні	2.1. Зв'язок катаболізму і анаболізму з енергетичним обміном.	[1] 77–94, [2] 115–121,

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

реакції.	2.2. Роль АТФ та інших макроергів у катаболічних та анаболічних шляхах метаболізму.	[3]182–196 [5] – №4.
3. Три спільні стадії катаболізму біомолекул.	3.1. Стадія 1 – розпад складних макромолекул до простих компонентів. 3.2. Стадія 2 – внутрішньоклітинний катаболізм вуглеводів, ліпідів та амінокислот. 3.3. Ацетил-КоА – загальний кінцевий продукт другої стадії внутрішньоклітинного метаболізму вуглеводів, ліпідів та амінокислот. 3.4. Стадія 3 – окиснення ацетил-КоА до кінцевих метаболітів $\text{CO}_2$ і $\text{H}_2\text{O}$ .	[1] 77–94, [2]115–121, [3]182–196 [5] – №4.
4. Загальна характеристика ЦТК.	2.1. Біохімічні значення ЦТК. 2.2. Схема функціонування, послідовність реакцій. Ферментативні реакції ЦТК: характеристика ферментів. 2.3. Сумарний баланс молекул АТФ, що утворюються при функціонуванні циклу.	[1] 77–94, [2]137–142, [3]182–196 [5] – №4.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Дослідження функціонування ЦТК	1.1. Кількісне визначення лимонної кислоти.	

## **I. Короткі теоретичні відомості**

### **1. Загальні відомості про обмін речовин**

Під **обміном речовин** або **метаболізмом** розуміють впорядковану систему біохімічних та фізіологічних процесів, які забезпечують надходження поживних і інших речовин, їх засвоєння, перетворення в

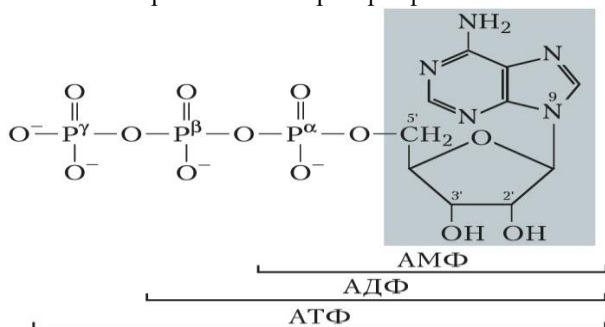
клітинах, а також виведення утворених продуктів обміну у зовнішнє середовище.

Обмін речовин забезпечує процеси росту та розвитку, самовідновлення всіх клітинних структур, енергозабезпечення функцій, постійність внутрішнього середовища.

У обміні речовин виділяють два взаємопов'язаних, але різнонаправлених процеси.

**Катаболізм (дисиміляція)** – це процеси розкладу складних речовин в клітинах організму до більш простих або до утворення низькомолекулярних кінцевих продуктів розпаду ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ). Катаболічні реакції супроводжуються виділенням вільної енергії, яка запасається у формі енергії фосфатних зв'язків АТФ.

**Анаболізм (асиміляція)** – процеси синтезу складних хімічних речовин з простих молекул (нуклеїнові кислоти, білки). Утворення сполук відбувається з використанням енергії фосфатних зв'язків АТФ.



Сукупність пов'язаних між собою процесів катаболізму та анаболізму складає в цілому **обмін речовин**, який забезпечує всі прояви життя – ріст, розмноження, рух, сталість внутрішнього середовища організму (гомеостаз). Послідовність ферментативних реакцій, у результаті яких відбувається, відповідно, руйнування або синтез біомолекул у кожній окремій клітині, називається **проміжним обміном**.

Анаболізм і катаболізм – різнонаправлені процеси і відбуваються незалежно один від одного, однак тісно взаємопов'язані між собою.

Катаболічний і анаболічний шляхи розрізняються своєю локалізацією в клітині, завдяки чому метаболічні процеси можуть відбуватися

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

одночасно та незалежно один від одного. Швидкість процесів залежить від багатьох факторів: віку, статі, активності людини, харчування, вплив несприятливих факторів середовища.

**2. Екзергонічні та ендергонічні реакції**

З енергетичної точки зору хімічної реакції поділяють на екзергонічні  $\Delta G < 0$  (екзотермічні,  $\Delta H < 0$ ) та ендергонічні  $\Delta G > 0$  (ендотермічні,  $\Delta H > 0$ ). Перші реакції можуть відбуватися самовільно, наприклад реакції гідролізу. Другі реакції можуть відбуватися тільки при спряженні з екзергонічними реакціями. Це реакції синтезу. Для поєднання цих процесів необхідний посередник в яких використовується енергія макроергічних сполук.

**Макроергічні сполуки** – це речовини, що містять у складі своїх молекул багаті енергією зв'язки, ( $E > 21$  кДж/моль), які називають макроергічними, до таких сполук належить аденозинтрифосфатна кислота (АТФ), аденозиндифосфатна кислота (АДФ), креатинфосфат, ацетилфосфат, ацетил-КоА і сукциніл-КоА – активні форми ацетатної і янтарної кислоти, що є інтеграторами внутрішньо клітинного обміну білків, вуглеводів, ліпідів..

Життєво необхідні процеси – реакції синтезу, скорочення м'язів, проведення нервових імпульсів, активний транспорт – отримують енергію шляхом хімічного поєднання з окисними реакціями, тобто існує поєднання екзергонічних реакцій з ендергонічними.

**Екзергонічні реакції** (процеси) – такі, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, необхідної для функціонування живих організмів. Енергія, яка вивільняється в окислювальних реакціях, здебільшого акумулюється у формі макроергічних сполук.

До екзергонічних реакцій належать катаболічні реакції – реакції розщеплення або окиснення «паливних» молекул (енерговмісних нутрієнтів), котрі надходять в організм у складі харчових продуктів. Катаболічні шляхи вивільнюють енергію у вигляді АТФ, а також НАДН<sub>2</sub>, НАДФН<sub>2</sub>.

**Ендергонічні реакції** (процеси) – такі, що потребують для своєї течії витрат енергії; це ферментативні реакції синтезу та відновлення. До ендергонічних реакцій належать **анаболічні реакції** – реакції синтезу складних біоорганічних сполук – клітинних макромолекул. Головним макроергом у живих організмах є аденозинтрифосфат (АТФ), який забезпечує передачу вільної енергії від екзергонічних до ендергонічних процесів.



### 3. Стадії катаболізму біологічних молекул

Для обміну речовин характерна багатостадійність процесів. У ферментативному розщепленні складних біоорганічних сполук в організмі виділяють три основних стадії (етапи), що є загальними для катаболізму різних біомолекул: *підготовчу*, *стадію універсалізації* та *стадію окисного розкладу*. Обмін речовин відбувається в результаті збалансованої роботи регулярних систем внутрішньоклітинного метаболізму, таких як внутрішньоклітинна, гормональна і нервова регуляція.

**Стадія 1** (підготовча). На першій стадії катаболізму складні молекули (макромолекули вуглеводів, білків, нуклеїнових кислот та молекули ліпідів) розщеплюються до простих компонентів:

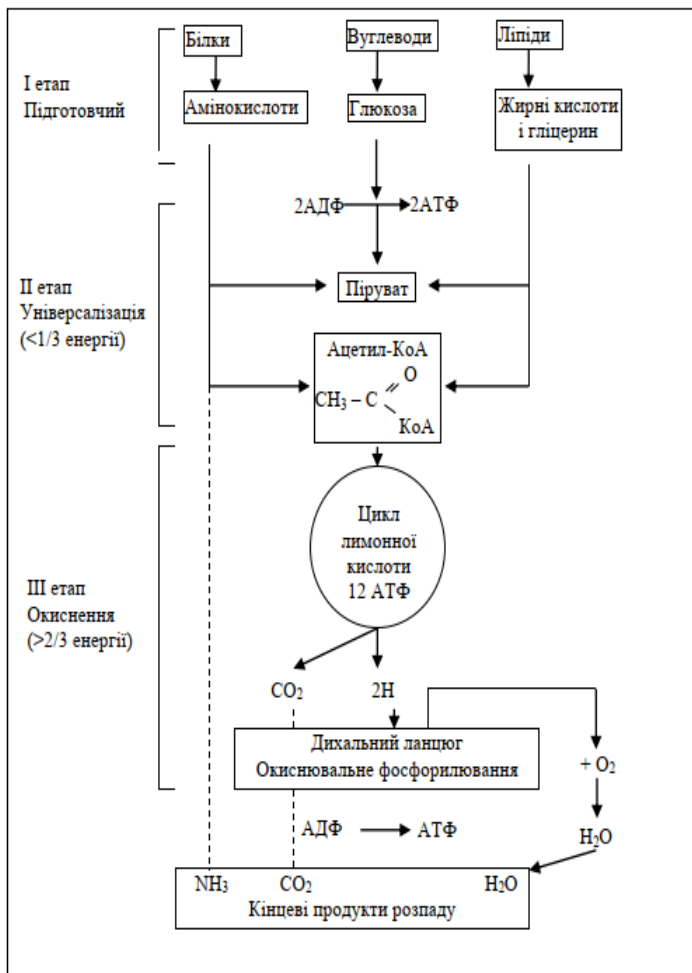
- полісахариди – до моносахаридів (переважно – глюкози, фруктози, галактози);
- ліпіди (триацилгліцероли) – до жирних кислот та гліцеролу;
- білки – до амінокислот;
- нуклеїнові кислоти – до нуклеотидів.

**Стадія 2** (стадія універсалізації). На другій стадії катаболізму декілька десятків метаболітів, що утворились на першій стадії, підлягають ферментативним реакціям розщеплення з вивільненням певної кількості хімічної енергії (до 30-ти %), яка акумулюється у високоенергетичних (макроергічних) зв'язках АТФ.

Реакції другої стадії катаболізму відбуваються внутрішньоклітинно (в цитоплазмі та частково в мітохондріях). Основними з цих реакцій є:

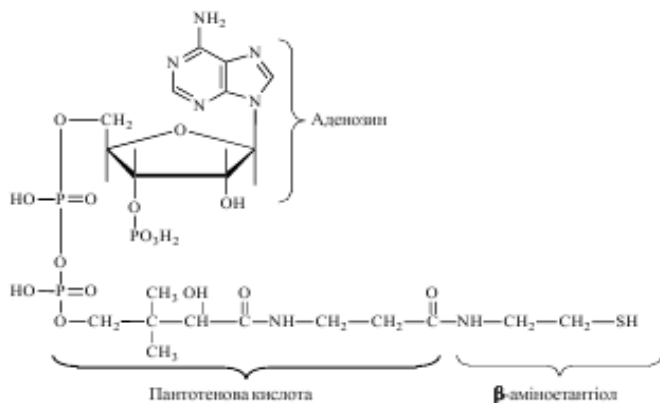
- для моносахаридів – гліколіз, кінцевим метаболітом якого є пірвіноградна кислота (пірват), що в подальшому окиснюється до ацетилкоензиму А (ацетил-КоА);
- для жирних кислот –  $\beta$ -окислення, кінцевим продуктом якого є ацетил-КоА;
- для гліцеролу – розщеплення до пірвату, який перетворюється в ацетил-КоА;
- для амінокислот та нуклеотидів – дезамінування з виділенням аміаку та розщепленням безазотистих молекулярних скелетів до дво- і тривуглецевих карбонових кислот та їх похідних; більшість із цих метаболітів у кінцевому підсумку також утворюють активований ацетильний радикал у формі ацетил-КоА.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**



**Рис. 2.** Стадії катаболізму біологічних молекул і добування енергії в клітинах

Таким чином, *ацетил-КоА* — це загальний кінцевий продукт другої стадії внутрішньоклітинного катаболізму вуглеводів, ліпідів та амінокислот.



Коензим А

**Утворення ацетил-КоА шляхом окиснювального декарбоксілювання пірувату**

Це процес відщеплення  $\text{CO}_2$  від пірувату та перенесення ацетильного залишку на коензим А з наступним утворенням **ацетил-КоА**:



Процес здійснюється за участю мультиферментного *піруватдегідрогеназного* комплексу:

Комплекс складається з трьох ферментів ( $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ ) та п'яти кофакторів:

- **тіамінпірофосфат (ТПФ)**, **ліпоєва кислота (ЛК)** та **ФАД**, що є простетичними групами, щільно зв'язаними з апоферментами
- **НАД<sup>+</sup>** та **коензим А (HS-КоА)**, що є коферментами, які легко дисоціюють від апоферментів

**Схема процесу:**

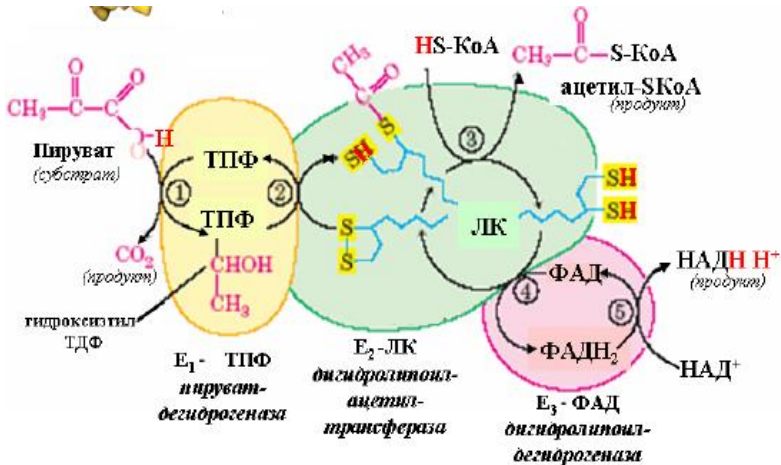
$E_1$  – ТПФ: каталізує відщеплення  $\text{CO}_2$  від пірувату та перенесення гідроксіетильного залишку на ТПФ.

$E_2$  – ЛК: переносить гідроксіетильний залишок від ТПФ на простетичну групу – ЛК.

При цьому дисульфідний зв'язок розривається, а ацетильний залишок і Гідроген приєднуються до ЛК. Далі ацетильний залишок переноситься з ЛК на  $\text{HS-КоА}$  з утворенням ацетил-КоА, а ЛК відновлюється до дигідро-ЛК.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

---



E<sub>3</sub> – -ФАД каталізує дегідрування дигідро-ЛК, яка знов окиснюється. Атоми Гідрогену відновлюють ФАД. На останній стадії атоми Гідрогену переносяться на НАД<sup>+</sup> з утворенням НАДН+Н<sup>+</sup>.

**3 стадія** (спільна для всіх видів обміну речовин) – окиснення ацетил-КоА до кінцевих продуктів – вуглекислого газу та води. Ця стадія локалізована в клітинних енергетичних станціях – мітохондріях, і складається із двох процесів:

- циклу трикарбонних кислот (ЦТК), внаслідок якого утворюється СО<sub>2</sub>, а атоми Гідрогену використовуються для відновлення коферментів НАД і ФАД. Гідроген – це універсальне енергетичне паливо, що використовується у дихальному ланцюгу для утворення енергії та води.

- система транспорту електронів у внутрішній мембрані мітохондрій (дихальний ланцюг мітохондрій), в якій електрони поступово переносяться на кисень, який з катіонами Гідрогену утворює ендogenous, або метаболічну, воду. Ця система поєднана з окисним фосфорилуванням, внаслідок якого енергія біологічного окиснення використовується для синтезу АТФ.

#### **4. Цикл трикарбонних кислот (ЦТК)**

**ЦТК** (цикл Кребса, цикл перетворення лимонної кислоти, цитратний цикл) – центральна частина загального шляху катаболізму, циклічний біохімічний процес аеробних організмів, в ході якого відбувається перетворення двох- і трьохкарбонних сполук, що утворюються як проміжні продукти в живих організмах при розпаді вуглеводів,

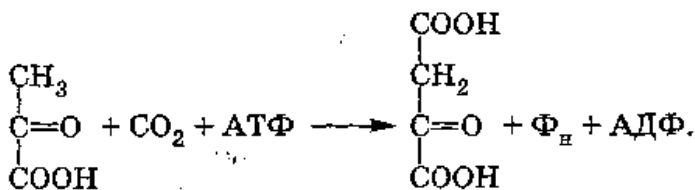
жирів і білків, до  $\text{CO}_2$ . При цьому звільнений гідроген прямує в ланцюг тканинного дихання, де надалі окислюється до води, беручи безпосередню участь в синтезі універсального джерела енергії – АТФ.

Цикл Кребса – це ключовий етап дихання всіх клітин, що використовують кисень (аеробне дихання), центр перетину безлічі метаболічних шляхів в організмі. Окрім значної енергетичної ролі, циклу відводиться також і істотна пластична функція, тобто це важливе джерело молекул-попередників, з яких в ході інших біохімічних перетворень синтезуються такі важливі для життєдіяльності клітини сполуки, як амінокислоти, вуглеводи, жирні кислоти та ін.

У еукаріотів всі реакції ЦТК протікають усередині мітохондрій, причому ферменти, що їх каталізують, окрім одного, знаходяться у вільному стані в мітохондріальному матриксі, виняток складає *сукцинатдегідрогеназа*, яка локалізується на внутрішній мітохондріальній мембрані, вбудовуючись в ліпідний бішар. У прокаріотів реакції циклу протікають в цитоплазмі.

#### 4.1. Підготовчий етап – синтез оксалоацетату із пірувату

*Оксалоацетат* у циклі трикарбонових кислот відіграє істотну роль. Він може утворюватись при перетворенні різних органічних субстратів: окисненні яблучної кислоти, окисному дезамінуванні аспарагінової кислоти, карбоксилюванні пірвіноградної кислоти. Проте основним джерелом його постачання для ЦТК є процес конденсації пірвіноградної кислоти з  $\text{CO}_2$ . АТФ-залежне карбоксилювання пірувату здійснює мітохондріальний фермент *піруваткарбоксилаза*:



Піруват

Оксалоацетат

Алостеричним активатором *піруваткарбоксилази* є ацетил-КоА.

Утворений цим або іншим способом оксалоацетат вступає в реакцію з ацетил-КоА, утворюючи лимонну кислоту, яка є, таким чином, початковою речовиною ЦТК.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

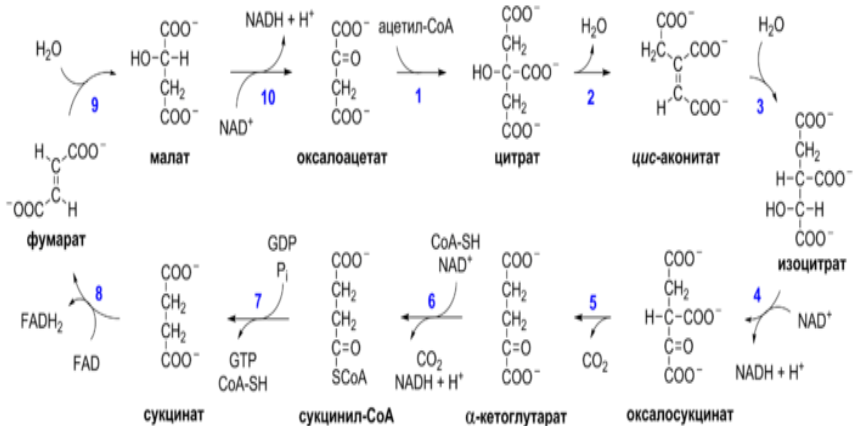
---

**4.2. Ферментативні реакції циклу трикарбонних кислот**

Вважають, що ЦТК є найімовірнішим шляхом окисного перетворення проміжних продуктів розщеплення органічних сполук. Унаслідок цього складного процесу в клітинах весь час утворюються і перетворюються одна в одну ряд три- та дикарбонних кислот, звідки походить і назва циклу.

ЦТК – це циклічна послідовність ферментативних реакцій, внаслідок яких ацетил-SКоА, продукт катаболізму білків, ліпідів і вуглеводів, окиснюється до вуглекислого газу  $\text{CO}_2$  з утворенням атомів гідрогену, які використовуються для відновлення первинних акцепторів ланцюгу транспорту електронів:  $\text{НАД}^+$  і ФАД.

Увесь цикл перетворень схематично зображено на рис. 3.



**Рис. 3.** Схема метаболічних перетворень у циклі трикарбонних кислот

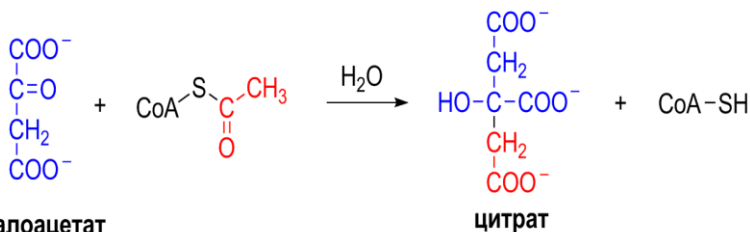
Всі реакції ЦТК відбуваються в мітохондріях (у еукаріотів у матриксі), там же в мітохондріях (але на внутрішній мембрані) розташовується дихальний ланцюг. У більшій частині бактерій ферменти циклу трикарбонних кислот перебувають у цитозолі, аплазматична мембрана виконує функції, аналогічні функціям внутрішньої мембрани мітохондрій.

**Стадія 1.** Утворення цитрат-іону (реакція 1 на загальній схемі)

На початку ЦТК ацетил-кофермент А (ацетил-КоА) віддає свою ацетильну групу чотирьохкарбоновій сполуці –

оксалоацетату(оксалатацетатній кислоті), при цьому утворюється шестикарбоновий цитрат(лимонна кислота).

Реакція каталізується ферментом *цитратсинтазою*. Вона є регуляторним ферментом, активність якого гальмується АТФ, НАДН, сукциніл-КоА.



У цій реакції метильна група в складі ацетильної групи ацетил-КоА приєднується до карбонільної групи (по другому атому Карбону) оксалоацетату.

Велике значення негативної зміни стандартної вільної енергії ( $\Delta G < 0$ ) цитратсинтазної реакції необхідне для керування циклом, оскільки у нормі концентрація оксалоацетату в клітині дуже мала. HS-КоА, що вивільняється при цій реакції, далі бере участь в окислювальному декарбоксилуванні наступної молекулипірувату за допомогою *піруватдегідрогеназного комплексу*.

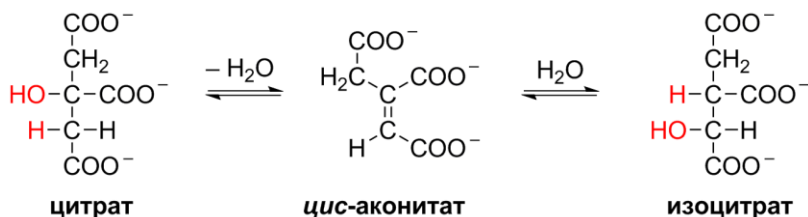
**Стадія 2.** Утворення ізоцитрату через *цис*-аконіат (реакції 2 та 3 на загальній схемі)

Фермент *аконітаза* (точніше, *аконітатгідратаза*) каталізує зворотну ізомеризацію цитрату (лимонної кислоти) в *ізоцитрат* через утворення проміжної сполуки – трикарбонової ненасиченої кислоти *цис-аконітату* (етап 1), яка при цьому в нормі не залишає активний центр. На другому етапі аконітаза приєднує воду по подвійному зв'язку пов'язаного з її активним центром *цис*-аконітату з утворенням – ізоцитрату:

1) дегідратація цитрату з утворенням *цис*-аконітової кислоти (*цис*-аконітат):

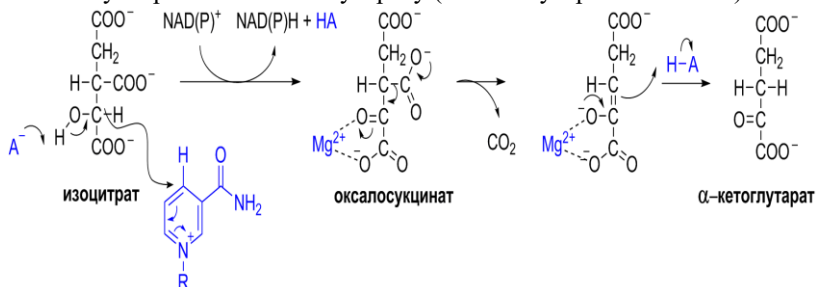
2) приєднання до *цис*-аконітату молекули води з утворенням ізоцитрату:

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**



**Стадія 3.** Окиснення ізоцитрату до  $\alpha$ -кетоглутарату (реакції 4 та 5 на загальній схемі), полягає в дегідруванні та декарбоксілюванні ізоцитрату.

Спочатку (I етап) ізоцитрат (ізолимонна кислота) під дією ферменту НАД-залежної *ізоцитратдегідрогенази* окиснюється так, що передає два атоми Гідрогену НАДФ, унаслідок цього утворюються НАДФН<sub>2</sub> і оксалосукцинат, який в подальшому (II етап) підлягає декарбоксілюванню з утворенням  $\alpha$ -кетоглутарату ( $\alpha$ -кетоглутарової кислоти):

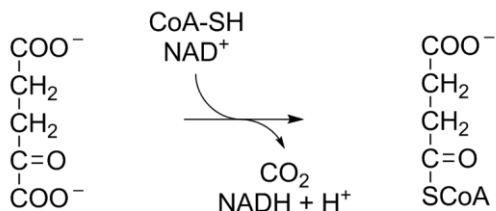


**Стадія 4:** Окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату до сукциніл-КоА (реакція 6 на загальній схемі.)

Перетворення  $\alpha$ -кетоглутарату подібне до декарбоксілювання пірувату (див. практичну роботу №10) і відбувається за участю тих самих коферментів (НАД<sup>+</sup>, ФАД, ліпоєвої кислоти, КоА-SH і тіаміндифосфату ТДФ). Реакція відбувається за участю  *$\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу*.

В утвореному сукциніл-КоА ацильний радикал сукцинатної кислоти має макроергічний зв'язок. У цьому зв'язку акумулюється енергія, яка вивільнюється під час окисного декарбоксілювання  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти.

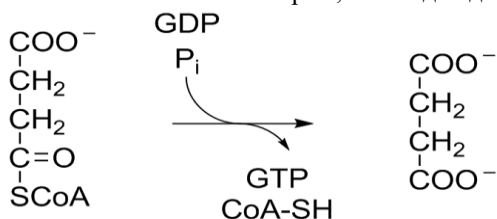




**α-кетоглутарат**

**сукцинил-СоА**

**Стадія 5:** Перетворення сукцинил-КоА в сукцинат (реакція 7 на загальній схемі). Деацилування сукцинил-КоА – перетворення на сукцинат (ятарну кислоту). Реакція каталізується ферментом *сукцинілтіокіназою*. Унаслідок розщеплення макроергічного зв'язку в молекулі сукцинил-КоА вивільнюється енергія, необхідна для синтезу ГТФ.

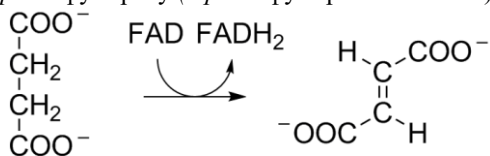


**сукцинил-СоА**

**сукцинат**

**Стадія 6:** Окиснення сукцинату до фумарату (реакція 8 на загальній схемі)

Сукцинат за наявності *сукцинатдегідрогенази* окиснюється до *транс-фумарату* (*транс-фумарової кислоти*):



**сукцинат**

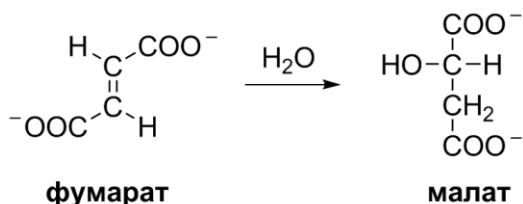
**фумарат**

**Стадія 7:** Гідратація фумарату до малата (реакція 9 на загальній схемі)

Перетворення фумарової кислоти на малат (яблучну кислоту) здійснюється унаслідок приєднання до фумарату молекули води. Реакція каталізується ферментом *фумаратгідратазою* (*фумаразою*):

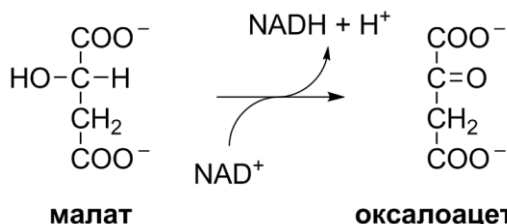
**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---



**Стадія 8:** Окиснення малату до оксалоацетату (реакція 10 на загальній схемі)

Нарешті, останнім етапом циклу є окиснення яблучної кислоти за наявності *малатдегідрогенази*, внаслідок чого утворюється оксалоацетат



На стадії утворення оксалоацетату цикл замикається і знову можливе використання нової молекули ацетил-КоА для синтезу лимонної кислоти.

У кожному обороті циклу одна ацетильна група (тобто два атоми Карбону) приходить у цикл у вигляді ацетил-КоА, і два ж атоми Карбону залишають цикл у вигляді двох молекул  $\text{CO}_2$ .

Таким чином, одна молекула оксалоацетата використовується для утворення цитрату, і одна ж згодом регенерується. Оксалоацетат не залишає цикл, і одна молекула оксалоацетату теоретично може зв'язувати необмежену кількість ацетильних груп і, насправді, оксалоацетат є присутнім у клітинах у дуже низьких концентраціях.

Чотири з восьми стадій циклу являють собою окисні процеси, що виділяється при цих процесах енергія окислювання ефективно запасається у вигляді відновлених коферментів: 3 молекул НАДН (в деяких джерелах 2 НАДН і однієї НАДНФ), однієї молекули ФАД, крім того однієї молекули ГТФ (або АТФ).

Отже, за наявності невеликої кількості оксалоацетату певних ферментних систем відбувається перетворення значної кількості ацетил-КоА.

Уся ця складна система ферментів, пов'язана з подальшим перенесенням електронів і протонів, локалізована в мітохондріях.

#### **4.3. Енергетичний баланс ЦТК**

Енергія, що вивільняється при окисненні лимонної кислоти або ацетил-КоА, зберігається у зв'язках НАДН<sub>2</sub>, НАДФН<sub>2</sub>, ФАДН<sub>2</sub> і в ГТФ. Окиснення НАДН<sub>2</sub>, НАДФН<sub>2</sub> і ФАДН<sub>2</sub> призводить до синтезу макроергічних фосфатних зв'язків АТФ. У цьому випадку окиснення субстрату відокремлене від синтезу макроергічних зв'язків.

Утворення АТФ у циклі Кребса спряжене з окисненням киснем повітря через систему дихальних ферментів відновленого НАДН<sub>2</sub> (двох молекул), однієї молекули НАДФН, і однієї молекули ФАДН<sub>2</sub>.

Експериментально доведено, що в результаті відновлення однієї молекули НАДН<sub>2</sub> або НАДФН<sub>2</sub> утворюється 3 молекули АТФ. Отже, усього з 2 молекул НАДН<sub>2</sub> і 1 молекули НАДФН<sub>2</sub> утвориться  $2 \cdot 3 + 3 = 9$  молекул АТФ.

При відновленні однієї молекули ФАД утворюється 2 молекули АТФ і 1 молекула ГТФ (АТФ) синтезується на рівні субстрату при перетворенні сукциніл-КоА на сукцинатну кислоту. Таким чином, унаслідок перетворення за циклом Кребса 1 молекули ацетил-КоА до СО<sub>2</sub> і Н<sub>2</sub>О може синтезуватися до 12 молекул АТФ.

**4.4. Регуляція ЦТК.** Головним і основним регулятором ЦТК є *оксалоацетат*, а вірніше його доступність. Наявність оксалоацетату запрошує до ЦТК ацетил-SКоА і запускає процес. Зазвичай у клітині є баланс між утворенням ацетил-SКоА (з глюкози, ЖК, або амінокислот) і кількістю оксалоацетату. Джерелом останнього є глюкоза (через піруват).

**4.5. Особливості ферментів.** Хоча ферменти ЦТК звичайно описують як розчинні компоненти мітохондріального матриксу (крім мембранозв'язаної сукцинатдегідрогенази), надходить усе більше доказів того, що усередині мітохондрій ці ферменти існують у вигляді мультиферментних комплексів.

Ряд доказів говорить про те, що в клітинах мультиферментні комплекси забезпечують ефективний перехід продуктів реакцій одного ферменту до наступного ферменту шляху.

#### **4.6. Значення ЦТК**

- *Інтегративне:* Об'єднує катаболізм вуглеводів, ліпідів, білків.

Восьмикроковий циклічний процес окислювання простий ацетильної двокарбонної групи до СО<sub>2</sub> може здатися занадто складним і не відповідає біологічному *принципу максимальної економії*. Однак роль

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

ЦТК не вичерпується окислюванням ацетат-іону (а виходить, і вуглеводів, жирних кислот і деяких амінокислот, при окислюванні яких він утворюється). Цей шлях становить серцевину метаболізму проміжних сполук.

- *Енергетичне:* 1 ацетил-КоА = 12 АТФ.
- *Гідрогендонорне:* 3 НАДН<sub>2</sub>, ФАДН<sub>2</sub>: здійснюється генерація атомів Гідрогену для дихального ланцюга.
- *Амфіболічне:* він зв'язує катаболічні й анаболічні процеси.
- *В ЦТК утворюються:*
  - попередник гему – сукциніл-SКоА,
  - кетокислоти, здатні перетворюватися в замінні амінокислоти – α-кетоглутарат для глутамінової кислоти, оксалоацетат для аспарагінової,
  - лимонна кислота, для синтезу жирних кислот,
  - оксалоацетат для синтезу глюкози тощо.

## **II. Практична частина**

### **Алгоритм лабораторної роботи**

#### **Кількісне визначення лимонної кислоти.**

**Принцип методу:** метод ґрунтується на реакції взаємодії лимонної кислоти з солями купрума та ферума при їх одночасній присутності. Продукти, які утворюються в реакції, мають жовто-зелений колір; інтенсивність забарвлення пропорційна кількості лимонної кислоти (цитрату).

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, ФЕК, 5 мм кювети, досліджувана сироватка крові, вода дистильована, 10% розчин купрум сульфату, 15% розчин залізо-амонійних квасців, 0,001М розчин лимонної кислоти, 5% нітратна кислота.

**Порядок виконання роботи.** В пробірку відміряють 1 мл досліджуваної сироватки, додають 7,5 мл води, а потім 1 мл 10% розчину купрум сульфату та 0,5 мл 15% розчину залізо-амонійних квасців у 5% нітратній кислоті.

Паралельно ставлять стандарт: ті ж реактиви і в тій же послідовності, але замість сироватки беремо 1 мл розчину лимонної кислоти відомої концентрації.

Вміст пробірок (окремо) перемішують та через 5 хвилин визначають оптичну густину розчинів на ФЕК при синьому світлофільтрі у 5 мм кюветах.

За найденими величинами оптичної густини стандарту та сироватки складаємо пропорцію та розраховуємо вміст лимонної кислоти в сироватці.

У нормі концентрація лимонної кислоти в крові 88... 156 мкмоль/л.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Багато речовин, у тому числі і лікарські засоби, можуть змінювати енергетику клітин, інтенсивність окиснювального фосфорилювання – утворення АТФ. Їх можна поділити на активатори та інгібітори енергетичного обміну. До активаторів належать метаболіти ЦТК (цитратна, яблучна, бурштинова) та низка інших сполук (глюкоза, амінокислоти тощо), тому вони знайшли застосування у якості лікарських засобів.

Цитратну кислоту у вигляді солі (цитрат натрію) використовують як препарат, що запобігає згортанню крові.

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання**

1. Загальні уявлення про метаболізм та обмін енергії в організмі.
2. Катаболічні, анаболічні та амфіболічні шляхи метаболізму. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції.
3. Макроергічні фосфати. АТФ – універсальне джерело енергії в клітині.
4. Стадії катаболізму для екзогенних та ендогенних біомолекул. Загальні та специфічні шляхи катаболізму, кінцеві продукти.
5. Цикл Кребса (локалізація, послідовність реакцій, біологічна роль, характеристика ферментів, регуляція, енергетичний баланс ЦТК).

#### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** Безпосередньо у реакціях циклу Кребса кисень участі не приймає. Проте третя стадія катаболізму біологічних молекул, до якої входить ЦТК, – аеробний процес. Поясніть, чому він пригнічується за відсутності кисню.

**Завдання 2.** Чи можливий реальний синтез глюкози з пірувату за умов, коли цикл трикарбонних кислот та окисне фосфорилювання повністю інгібовані? Аргументуйте свою відповідь.

**Завдання 3.** Нині для підвищення працездатності активно використовуються різноманітні харчові добавки, зокрема «Янтавіт» – препарат бурштинової кислоти.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

1. Чому цей препарат рекомендують для підвищення працездатності?

2. У якій реакції ЦТК відбувається окиснення янтарної кислоти?

3. Назвіть інгібітор ферменту, який каталізує цю реакцію

4. Вкажіть тип інгібування

5. Яка функція убихінона у ЦТК?

**3.3. Відповісти на тестові питання**

1. Назвіть фермент з перерахованих, що відноситься до мультиферментних комплексів:

A. Малатдегідрогеназа

B. Піруватдекарбоксилаза

C. Лактатдегідрогеназа

D. Піруватдегідрогеназа

E. Алкогольдегідрогеназа

2. Окремі метаболічні шляхи містяться у визначених внутрішньоклітинних ділянках – компартментах. Які з перерахованих процесів локалізуються в цитозолі клітини:

A. Реакції гліколізу, глюконеогенезу, синтезу жирних кислот

B. Реакції реплікації ДНК та транскрипції РНК

C. Реакції циклу три карбонових кислот, електронного транспорту та окиснювального фосфорилування

D. Реакції гідролітичного розщеплення біополімерів – білків нуклеїнових кислот

E. Реакції мікросомального окиснення

3. Водорозчинні вітаміни в організмі перетворюються у коферментні форми. Коферментною формою якого вітаміну є тіаміндифосфат (ТДФ)?

A. B<sub>1</sub>

B. B<sub>2</sub>

C. C

D. B<sub>6</sub>

E. B<sub>12</sub>

4. Утворення оксалоацетату з пірувату є найважливішою анаплеротичною реакцією в клітинах печінки та нирок. Цю реакцію каталізує:

- A. Піруватдегідрогеназа
- B. Цитратсинтаза
- C. Піруваткарбоксилаза
- D. Піруватдекарбоксилаза
- E. Малатдегідрогеназа

5. В реакціях циклу Кребса відбувається відновлення коферментів чотирьох дегідрогеназ. Вкажіть субстрати ЦТК, причетні до появи атомів водню у складі відповідних коферментів:

- A. Цитрат
- B. Ізоцитрат.
- C. Аконітат
- D. Фумарат
- E. Оксалоацетат

6. В експериментальних тварин на фоні доведеного введення глюкози визначили зниження активності ферментів ЦТК. Які сполуки безпосередньо інгібують реакції ЦТК,

- A. АМФ
- B. ФАД
- C. НАДФ<sup>+</sup>
- D. НАД<sup>+</sup>
- E. АТФ

7. Головною макроергічною сполукою в живих організмах є молекула АТФ. У реакції  $\text{АТФ} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АМФ} + \text{ФФ}_n$  зміна вільної енергії становить

- A. 21,5 кДж/моль
- B. 74,5 кДж/моль
- C. 34,5 кДж/моль
- D. 320 кДж/моль
- E. 37,4 кДж/моль

8. Утворення оксалоацетату з пірувату є найважливішою анаплеротичною реакцією в клітинах печінки та нирок. Цю реакцію каталізує:

- A. Піруватдегідрогеназа
- B. Цитратсинтаза

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

- C. Піруваткарбоксилаза
- D. Піруватдекарбоксилаза
- E. Малатдегідрогеназа

9. Цикл трикарбонових кислот являє собою кінцевий загальний шлях окиснення енергетично багатих молекул (вуглеводів, амінокислот, жирних кислот). Вкажіть із якою кислотою вступає в першу реакцію у ЦТК ацетил КоА:

- A. Цитратною
- B. Оксалоацетатом
- C. Ізоцитратною
- D. Фумаровою
- E. Яблучною

10. У ферментативному розщепленні складних біоорганічних сполук в організмі виділяють три основних стадії, загальних для катаболізму різних біомолекул. На першій стадії катаболізму відбувається:

- A. Вивільнення великої кількості хімічної енергії
- B. Розщеплення структурно-функціональних компонентів клітин
- C. Утворення кінцевих продуктів катаболізму
- D. Гідролітичне розщеплення макромолекул до простих мономерів.
- E. Відновлення коферментів нікотинамідаденіндинуклеотиду та флавінаденін-динуклеотиду

11. Хворого госпіталізовано з діагнозом «цукровий діабет I типу». Однією з метаболічних змін є зниження швидкості синтезу оксалоацетату. Який метаболічний процес порушується внаслідок цього?

- A. Синтез холестерину
- B. Гліколіз
- C. Цикл Кребса
- D. Мобілізація глікогену
- E. Синтез сечовин

12. Вкажіть ензим циклу трикарбонових кислот, активність якого зменшується при накопиченні в матриксі мітохондрій ацидів вищих жирних кислот:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа



- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Малатдегідрогеназа
- E. Фумараза

13. Цикл трикарбонових кислот – це загальний кінцевий шлях окиснювального катаболізму клітини в аеробних умовах. За виконання яких біологічних функцій відповідає цей метаболічний шлях?

- A. Утворення ендогенної води
- B. Підтримання в клітині фізіологічної концентрації пірувату
- C. Утворення субстратів для гліюконеогенезу
- D. Утворення високоенергетичного гідрогену у вигляді чотирьох відновлених кофакторів
- E. Синтез біологічно активних речовин

14. В експериментальних тварин досліджували вплив вітамінів на швидкість ЦТК. При відсутності якого з вітамінів швидкість реакцій не порушувалась:

- A. Ціанкобаламін
- B. Тіамін
- C. Пантотенова кислота
- D. Рибофлавін
- E. Нікотинамід

15. Мітохондрії – субклітинні органели, що містяться в цитоплазмі всіх клітин, за винятком зрілих еритроцитів, бактерій, синьо-зелених водоростей. Яка головна функція мітохондрій?

- A. Секреція
- B. Реплікація ДНК
- C. Гідроліз речовин
- D. Біосинтез білків
- E. Окисне фосфорилування

16. Вкажіть ензим циклу трикарбонових кислот, активність якого зростає при накопиченні в матриксі мітохондрій АДФ:

- A. Ізоцитратдегідрогеназа
- B. Сукцинілтіюкіназа
- C. Сукцинатдегідрогеназа
- D. Малатдегідрогеназа
- E. Фумараза

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

17. Ензими дихального ланцюга окиснюють біологічні субстрати та транспортують відновлювані еквіваленти на кисень з утворенням молекули води. Де вони локалізуються?

- A. На зовнішній мембрані мітохондрій
- B. В цитоплазмі
- C. На внутрішній мембрані мітохондрій
- D. В матриксі мітохондрій
- E. На плазматичній мембрані.

18. Під час бігу на короткі дистанції у нетренованої людини виникає м'язова гіпоксія. До накопичення якого метаболіту в м'язах це призводить?

- A. Ацетил-КоА
- B. Кетонових тіл
- C. Лактату
- D. Глюкозо-6-фосфату
- E. Оксалоацетату

19. В результаті виснажуючої м'язової роботи у робочого значно зменшилась буферна ємність крові. Надходженням якої речовини у кров можна пояснити це явище?

- A. Піруват
- B. Лактат
- C. 1,3-бісфосфогліцерат
- D. Альфа-кетоглутарат
- E. 3-фосфогліцерат

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

How many molecules of ATP can be synthesized in case of the complete oxidation of acetyl-CoA in the tricarboxylic acid cycle?

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

21. Універсальною біологічною системою окиснення неполярних сполук (багатьох лікарських засобів, токсичних сполук, стероїдних гормонів, холестерину є мітосомальне окиснення. Який цитохром входить до складу оксигеназного ланцюга мітосом?

Microsomal oxidation is a universal biological system that oxidizes non-polar substances including pharmaceutical drugs, toxins, steroid hormones and cholesterol. Which cytochrome takes part in the functioning of microsomal oxidation chain?

- A. Cytochrome a3
- B. Cytochrome P450
- C. Cytochrome b
- D. Cytochrome c
- E. Cytochrome a.

22. Біоенергетика мозку значно залежить від постачання кисню. Який субстрат окиснення має найбільше значення для забезпечення енергією мозку?

Brain bioenergetics depends essentially on oxygen supply. Which substrate of oxidation is the most important for the provision of brain cells by chemical energy?

- A. Phosphoenolpyruvate
- B. Fatty acids
- C. Ketone bodies
- D. Glycerol 3-phosphate
- E. Glucose.

23. Яка речовина є основним джерелом енергії для мозкової тканини?

What substance is the principal energy source for brain tissues?

- A. Acetone bodies
- B. Fatty acids
- C. Glucose
- D. Amino acids
- E. Lactate.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

24. Дослідженнями останніх десятиліть встановлено, що безпосередніми «виконавцями» апоптозу в клітині є особливі ферменти – каспази. В утворенні одного з них бере участь цитохром С. Вкажіть його функцію в нормальній клітині:

Studies of recent decades found that direct "implementers" of apoptosis in the cell are special enzymes - caspases. Cytochrome C is involved in the formation of one of them. Specify its function in the normal cell:

- A. Enzyme of respiratory chain of electron transfer
- B. Component of  $\text{Na}^+$  - ATPase system
- C. Component of the pyruvate dehydrogenase system
- D. Enzyme of beta-oxidation of fatty acids
- E. Enzyme tricarboxylic acid cycle.

25. Центральним проміжним продуктом всіх обмінів (білків, ліпідів, вуглеводів) є:

The central intermediate which is common for the catabolic pathways of proteins, carbohydrates and lipids is:

- A. Citrate
- B. Succinyl-CoA
- C. Oxaloacetate
- D. Lactate
- E. Acetyl-CoA.

## Практичне заняття № 6

### ТЕМА: МОЛЕКУЛЯРНІ ОСНОВИ БІОЕНЕРГЕТИКИ

**Навчальна мета:** засвоїти основні принципи організації дихального ланцюга мітохондрій та основні принципи хеміосмотичної теорії Мітчела, знати роль окисно-відновних ферментів у тканинному диханні, оволодіти методами дослідження дії оксидоредуктаз: фенолоксидази, альдегіддегідрогенази, пероксидази, цитохрому С.

**Знати:** основи біоенергетики тканин та механізми розвитку енергодефіциту і незворотних змін в організмі при гіпоенергетичних станах.

**Вміти:** трактувати роль біологічного окислення, тканинного дихання та окисного фосфорилування в генерації АТФ за аеробних умов. аналізувати порушення синтезу АТФ за умов дії на організм людини патогенетичних факторів хімічного, фізичного та біологічного походження, пояснювати дію деяких фармацевтичних препаратів як інгібіторів або роз'єднувачів тканинного дихання та окисного фосфорилування.

Таблиця 1

#### План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття

Основні напрямки теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань	Джерело	
1. Взаємозв'язок процесів утворення та споживання енергії в живих системах.	1.1. Енергія хімічних зв'язків як основний вид енергії, що використовується клітинами для забезпечення своєї життєдіяльності.	[1] 95–112, [2]122–136, [3]184–210 [5] – №5.
2. Шляхи синтезу АТФ в клітинах.	2.1. Субстратне та окисне фосфорилування. 2.2. Утворення АТФ в клітинах за анаеробних та анаеробних умов. Переваги.	[1] 95–112, [2]122–136, [3]184–210 [5] – №5.
3. Реакції біологічного окислення	3.1. Типи реакцій (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні) їх біологічне значення.	[1] 95–112, [2]122–136, [3]184–210

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

		[5] – №5.
4. Молекулярна організація мітохондріального ланцюга біологічного окислення.	4.1. Компоненти дихального ланцюга як окисно-відновні пари кофакторів. 4.2. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій.	[1] 95–112, [2]122–136, [3]184–210 [5] – №5.
5. Окисне фосфорилування.	5.1. Вивільнення енергії в дихальному ланцюзі та ділянки утворення АТФ. 5.2. Коефіцієнт окисного фосфорилування, пункти спряження.	[1] 95–112, [2]122–136, [3]184–210 [5] – №5.
6. АТФ-синтетаза мітохондрій	6.1. Будова та принципи функціонування АТФ-синтетази.	[1] 95–112, [2]122–136, [3]184–210 [5] – №5.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення дії фенолоксидази та альдегіддегідрогенази.	1.1. До якого класу та підкласу ферментів належать ці ферменти? 1.2. Записати в зошит протоколів-дослідів алгоритм лабораторної роботи та пояснити принцип методу та дії фенолоксидази та альдегіддегідрогенази.	

## **I. Короткі теоретичні відомості**

### **1. Реакції біологічного окислення**

Внутрішньомолекулярне окислення біологічних субстратів (біологічне окислення) є основним молекулярним механізмом, завдяки якому забезпечуються енергетичні потреби функціонування живих організмів.

*Окислення* – це процес втрати атомом, молекулою, що окиснюється (субстратом окиснення), електронів або атомів Гідрогену (протонів та електронів).

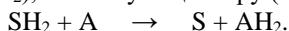
*Відновлення* – реакція, зворотна окисленню, супроводжується приєднанням органічним субстратом електронів або атомів Гідрогену (гідруванням субстрату).

### 1.1. Типи реакцій біологічного окислення

Усі окислювально-відновлювальні реакції, що відбуваються в живих клітинах, каталізуються ферментами з класу *оксидоредуктаз*.

У процесах біологічного окислення, що мають місце в живих системах, виділяють такі класи реакцій:

1.1.1. Реакції, пов'язані з передаванням субстратом, що окислюється ( $\text{SH}_2$ ), певному акцептору (A), водню (тобто протонів і електронів):



Реакції такого типу називаються *реакціями дегідрування*, а ферменти, що їх каталізують – дегідрогеназами.

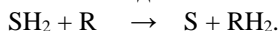
Коферментами дегідрогеназ, що виконують функції безпосередніх акцепторів відновлювальних еквівалентів, є такі сполуки:

- нікотинамідні коферменти – нуклеотиди НАД<sup>+</sup> (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ<sup>+</sup> (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат);
- флавінові коферменти – нуклеотиди ФАД (флавінаденіндинуклеотид) та ФМН (флавінмононуклеотид).

Ці коферменти передають електрони на подальші біохімічні акцептори, утворюючи ланцюги передавання відновлювальних еквівалентів у біологічних системах.

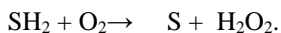
Залежно від хімічної природи акцептора, з яким взаємодіють дегідрогенази, реакції дегідрування поділяють на такі підкласи:

1. Реакції дегідрування, в яких акцептором є хімічна сполука (R), відмінна від кисню:



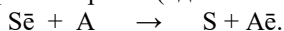
Ферменти, що каталізують такі реакції, – *анаеробні дегідрогенази*.

2. Реакції дегідрування, в яких як акцептор використовується кисень:



Ферменти, що каталізують ці реакції, – *аеробні дегідрогенази*, або оксидази; в результаті їх дії утворюється перекис водню. За цим шляхом окиснюються біогенні аміни, амінокислоти. Перекис водню – це токсична речовина, але у фагоцитуючих клітинах, наприклад, лейкоцитах, її утворення необхідне для знешкодження патогенних бактерій.

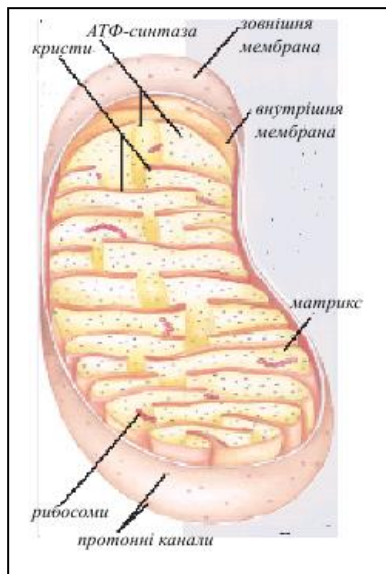
3. Реакції, що відбуваються з передаванням від субстрату до акцептора електронів (одного або двох):



Реакції такого типу каталізуються *цитохромами* дихального ланцюга мітохондрій.

### **1.2. Тканинне дихання**

Біологічне окиснення, що супроводжується споживанням кисню з наступним утворенням енергії та води, називається **тканинним диханням**. Це багатостадійний процес перенесення атомів Гідрогену (протонів і електронів) від субстрату до кисню з утворенням води та вивільненням енергії.



Реакції біологічного окислення складають молекулярну основу тканинного дихання – поглинання  $O_2$  живими тканинами, яке є інтегральним фізіологічним показником інтенсивності перебігу в них окисно-відновних процесів. Джерелом кисню для цього процесу є  $O_2$ , який надходить в тканини за умов нормальної діяльності системи зовнішнього дихання та кисеньтранспортувальної функції гемоглобіну крові, і через плазматичні мембрани дифундує всередину клітин.

У результаті тканинного дихання, яке відбувається в мітохондріях, атоми кисню включаються в молекулу води, а атоми Карбону біоорганічних сполук, що окиснюються, виділяється у формі карбон (IV) оксиду. Саме мітохондріальне дихання є біохімічною основою утворення та акумуляції вільної хімічної енергії, яка використовується у ендергонічних процесах.

**Субстрати окиснення ( $SH_2$ )** утворюються внаслідок катаболізму вуглеводів, ліпідів і білків. Процес їхнього окиснення відбувається не за рахунок приєднання атомів кисню, а шляхом дегідрування – відщеплення атомів Гідрогену.

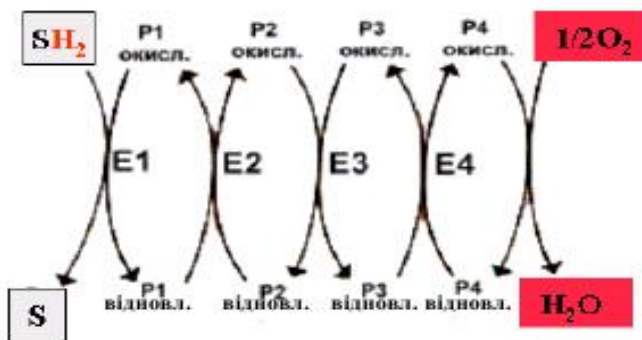
Гідроген (**H**) – це універсальне енергетичне паливо, котре використовується у тканинному диханні для утворення енергії та води.

Тканинне дихання складається з поліферментного ланцюгу перенесення електронів і протонів, котрий називається **мітохондріальним дихальним ланцюгом** або дихальним ансамблем. Його складові вбудовані



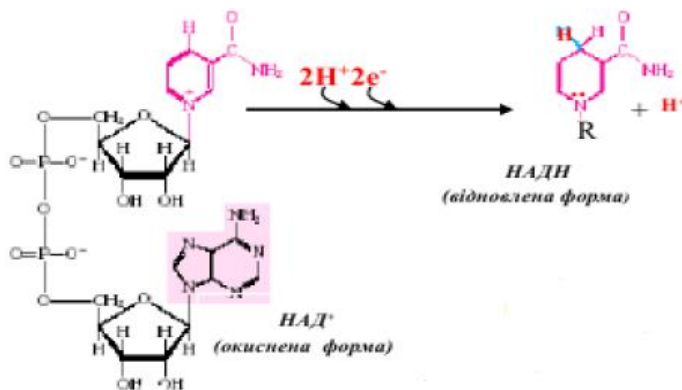
у внутрішню мембрану мітохондрій: від 5 до 20 тисяч ансамблів в одній мітохондрії.

Проміжні переносники (P) здійснюють транспортування електронів від вихідного донору електронів (субстрату  $\text{SH}_2$ ) до термінального акцептору – кисню. ( $\text{O}_2$ ). Повний процес складається з ланцюгу послідовних окисно-відновних реакцій, в котрих переносники взаємодіють один з іншим. Кожний проміжний переносник (P) спочатку виступає у ролі акцептора електронів і протонів, тобто відновлюється. Далі він передає електрон наступному переноснику і знов повертається до окисненого стану.



На останній стадії переносник передає електрони кисню, котрий після приєднання протонів відновлюється до води.

### 1.3. Ферменти біологічного окислення



**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

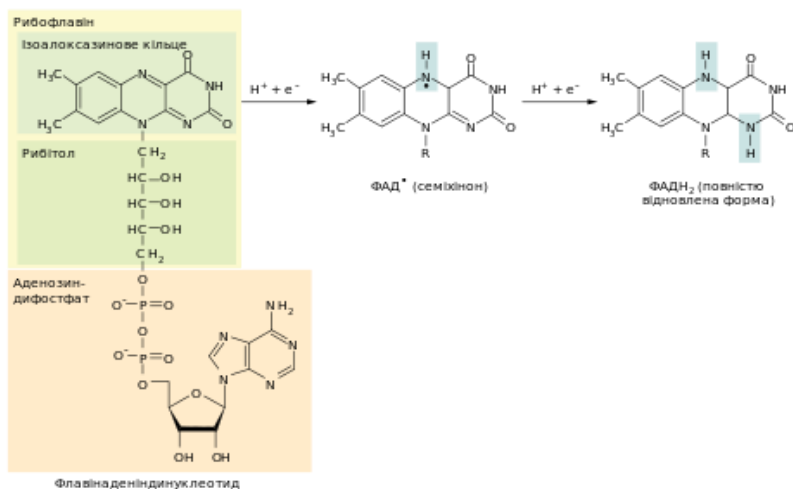
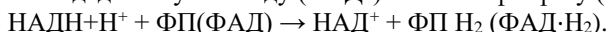
---

### 1.3.1. НАД-залежні дегідрогенази

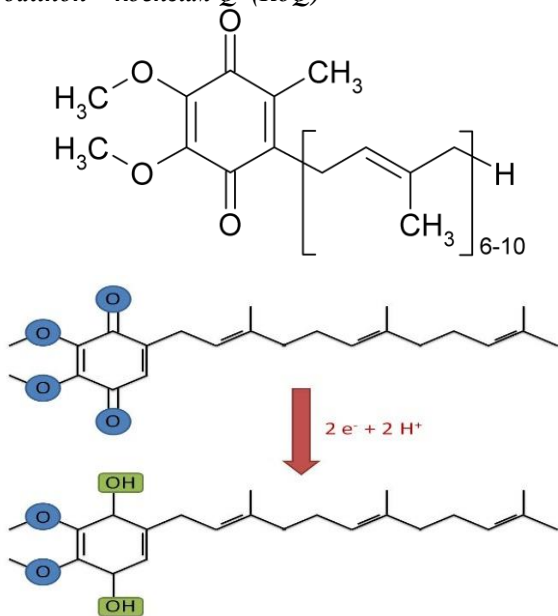
Це складні ферменти, які безпосередньо каталізують реакції окиснення субстратів (*первинні дегідрогенази*). НАД<sup>+</sup>, активна форма вітаміну РР, – кофермент цих ферментів. Від субстрату на НАД<sup>+</sup> переносяться два електрони й один протон. Другий протон переходить в середовище і знаходиться поруч. Утворюється відновлена форма – НАДН + Н<sup>+</sup>, здатна віддавати електрони більш активному окиснику.

### 1.3.2. Флавінові дегідрогенази або флавінопротеїни ФП

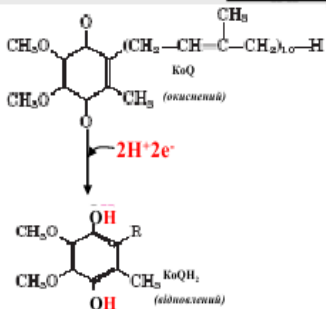
Флавінзалежні дегідрогенази, флавопротеїни належать до I класу ферментів — оксидоредуктази. Вони беруть участь у багатьох реакціях біологічного окиснення, зокрема, у тканинному диханні – перенесення електронів і протонів від субстратів на кофермент Q або до молекулярного кисню. Їх небілковими складовими компонентами є похідні вітаміну В<sub>2</sub> – флавінмононуклеотид (ФМН) або флавінаденіндинуклеотид (ФАД). ФМН синтезується в організмі людини з вільного рибофлавіну. При біологічному окисненні ФП здійснюють перенесення відновних еквівалентів (протонів та електронів) від відновлених коферментів — нікотинамідаденіннуклеотиду (НАД<sup>+</sup>) або його фосфату (НАДФ<sup>+</sup>):



1.3.3. Убіхінон – коензим Q (KoQ)



3. Убіхінон – коензим Q (KoQ)

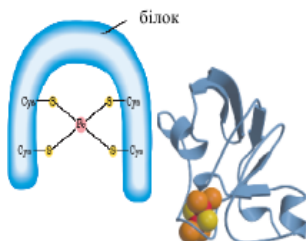


Це невелика молекула, розчинна у ліпідному шарі мембрани завдяки неполярному боковому ланцюгу. KoQ легко переміщується всередині мембрани. Назва “убіхінон” виникла завдяки його розповсюдженості у природі.

Коензим Q є колектором протонів і електронів від відновлених коферментів ФМНН<sub>2</sub> і ФАДН<sub>2</sub>. Його відновлена форма - KoQH<sub>2</sub>.

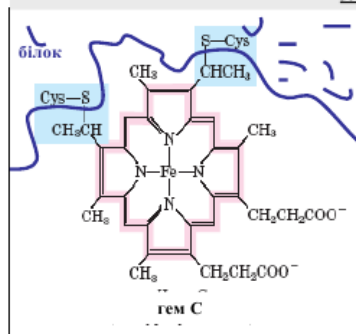
**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

**4. Залізо-сірчані білки (FeS – білки)**

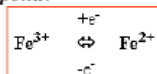


Це складні білки, котрі містять **негемінове залізо та сірку**. Ці білки локалізовані в ліпідному шарі мембран. Вони можуть зворотно окиснюватися та відновлюватися, тобто переносити електрони. Подібні окисно-відновні системи стабільні лише у складі білків. Вони можуть мати від 2 до 6 іонів заліза, котрі утворюють комплекси різного складу з неорганічним сульфідом і SH-групами залишків цистеїну білкових молекул.

**5. Цитохроми**



Це складні білки – **гемопротеїни**, що містять **гем** - простетичну групу, подібну до гему гемоглобіну. Гем містить **гемінове залізо**, здатне змінювати валентність, тобто переносити тільки **електрони**.



Цитохроми відрізняються один від іншого як за складом білка, так і за замісниками у гемі. Вони мають різні фізико-хімічні властивості та окисно-відновні потенціали.

В дихальному ланцюзі цитохроми необхідні для перенесення електронів. Вони розташовані згідно з величинами їхніх окисно-відновних потенціалів наступним чином: **цитохром b** → **цитохром c<sub>1</sub>** → **цитохром c** → **цитохроми a та аз**.

**1.4. Молекулярна організація ланцюга біологічного окислення в мітохондріях**

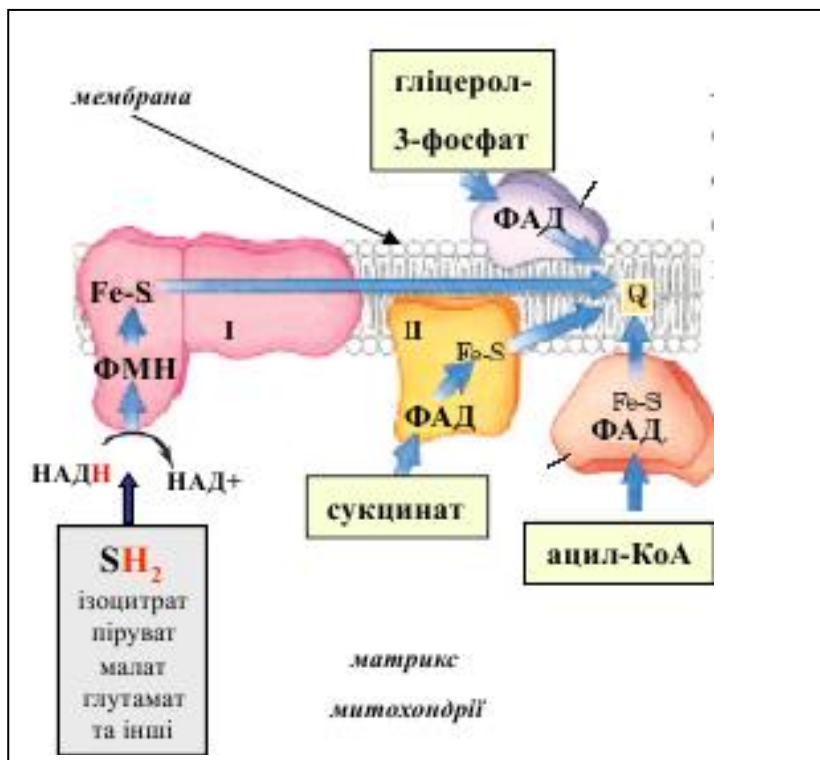
Система біологічного окислення, що локалізована в мембранах мітохондрій, здійснює дегідрування органічних субстратів та послідовний перенос відновлювальних еквівалентів на кисень через ряд проміжних переносників – транспортерів електронів та протонів. Ця система організована у вигляді **ланцюга електронного транспорту**, або **дихального ланцюга мітохондрій**.

**1.4.1. Дихальний ланцюг мітохондрій** – сукупність молекулярних компонентів (ферментів та коферментів), які вбудовані в ліпідний матрикс внутрішніх мітохондріальних мембран і здійснюють окислення

біологічних субстратів та послідовне, ступеневе транспортування відновлювальних еквівалентів на кисень з утворенням молекули води.

Усі учасники ланцюгу перенесення електронів структурово об'єднані в чотири окисно-відновні системи – **мультиферментні комплекси I – IV**, вбудовані у ліпідний матрикс внутрішньої мембрани мітохондрій.

*Компоненти дихального ланцюга мітохондрій:*



• **НАДН-дегідрогеназа** – компонент дихального ланцюга, що відновлює окиснений НАД<sup>+</sup> до НАДН+Н<sup>+</sup>; входить до складу молекулярного комплексу внутрішніх мітохондріальних мембран **НАДН-коензим Q-редуктази**.

• **Коензим Q (убіхінон)** – ліпідорозчинний хінон, що виконує функцію колектора відновлювальних еквівалентів, акцептуючи протони та

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

електрони не тільки від ФМН-залежної НАДН-дегідрогенази, а й від ФАД-залежних дегідрогеназ мітохондрій (сукцинатдегідрогенази та дегідрогеназ системи  $\beta$ -окислення жирних кислот тощо).

● *Цитохроми мітохондрій:*

Цитохром b.

Цитохром c<sub>1</sub>.

Цитохром c.

Цитохром a.

Цитохром a<sub>3</sub> .

● *Залізо-сірчані білки*, що містять негемове залізо (FeS), – це білки, асоційовані з флавопротеїнами мітохондрій (металофлавопротеїнами) та цитохромом b.

**1.4.2. Комплекси дихального ланцюга внутрішніх мембран мітохондрій**

Процес окиснення починається з перенесення протонів і електронів з субстрату, що окиснюється, на НАД<sup>+</sup> або ФАД. Це залежить від природи субстрату **SH<sub>2</sub>**.

**НАДН-коензим Q-редуктаза** (так званий комплекс I) – ферментний комплекс (являє собою флавопротеїн, що містить ФМН), який окиснює НАДН і передає відновлювальні еквіваленти на **коензим Q** (убіхінон); у складі НАДН-коензим Q-редуктази НАДН- дегідрогеназа асоційована з FeS-білками.

**Сукцинаткоензим Q-редуктаза** (комплекс II) – ферментний комплекс (ФАД-залежний флавопротеїн), який окислює сукцинат, відновлюючи **коензим Q**; до складу комплексу входить *флавопротеїн сукцинатдегідрогеназа*, асоційована з FeS-білком.

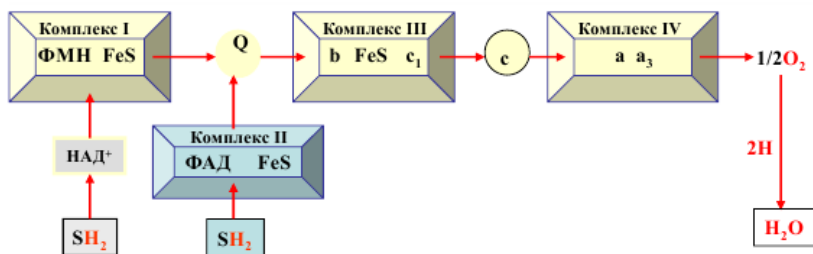
У матриксі мітохондрій також містяться й інші ФАД-залежні дегідрогенази, котрі окиснюють відповідні субстрати (гліцерол-3-фосфат, ацил-КоА), а далі передають катіони Гідрогену (протони) та електрони на **коензим Q**. Потіки атомів Гідрогену об'єднуються на стадії утворення відновленого **КоQH<sub>2</sub>** . **Коензим Q** є останнім компонентом ланцюгу, котрий здатний транспортувати не тільки електрони, але й протони (**2H<sup>+</sup>**, **2e<sup>-</sup>**). Далі протони (**2H<sup>+</sup>**) переходять із внутрішньої поверхні мембрани мітохондрії на зовнішню, а електрони (**2e<sup>-</sup>**) послідовно через ланцюг цитохромів переносяться на кисень.



**Комплекс III – коензим Q-цитохром c-редуктаза** (убіхінондегідрогеназа) – ферментний комплекс, що складається з *цитохрому b*, *FeS*-білка та *цитохрому c*; ферментний комплекс транспортує електрони з відновленого коензиму Q (QH<sub>2</sub>) на *цитохром c* (невеликий за розмірами водорозчинний білок, що міститься на зовнішній стороні внутрішньої мембрани).

**Комплекс IV – цитохром c-оксидаза** – ферментний комплекс, що складається з *цитохромів a* та *a<sub>3</sub>*; комплекс здійснює кінцеву стадію біологічного окислення – відновлення електронами молекулярного кисню:  $2e + 1/2 O_2 \rightarrow O^{2-}$

Відновлений кисень O<sup>2-</sup> реагує з вільними протонами (2H<sup>+</sup>) матриксу. В результаті реакції утворюється ендогенна, або метаболічна, вода:  $2H^+ + O^{2-} \rightarrow H_2O$



Напрямок перенесення протонів і електронів визначають окисно-відновні потенціали. Для забезпечення спонтанного перенесення компоненти окисно-відновного ряду повинні розташовуватися згідно зі

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

збільшенням величин потенціалів.



При проходженні по дихальному ланцюгу пари електронів вивільняється енергія, більша частина котрої (60%) розсіюється у вигляді тепла, а інша акумулюється у макроергічних зв'язках АТФ, а саме поглинається в реакції синтезу АТФ-окисному фосфорилуванні.

Це фосфорилування називається окисним, тому що енергія, що необхідна для утворення макроергічного зв'язку, генерується у процесі окиснення, тобто руху протонів і електронів по мітохондріальному ланцюгу транспорту електронів.

## II. Практична частина

### Алгоритм лабораторної роботи № 1

#### Дослідження дії фенолоксидази.

**Принцип методу.** Метод базується на явищі знебарвлення пірокатехіну в разі окиснення його молекулярним киснем за присутності фенолоксидази.

**Фенолоксидаза** (КФ 1.14.13.7; фенол, НАДФН: кисень оксидоредуктаза; синоніми: фенол-2-монооксигеназа, фенолаза, фенолгидроксилаза) – купрумвміщуючий окисний фермент; який каталізує реакцію:  
 $\text{фенол} + \text{НАДФН} + \text{O}_2 \rightarrow \text{катехол} + \text{НАДФ}^+ + \text{H}_2\text{O}$ .

**Прилади та реактиви:** штатив із пробірками, піпетки, водяна баня, термометр, пальник, ступка, вода дистильована, 2 г свіжої картоплі, 5% розчин натрію сульфіді.

**Порядок виконання роботи.** Одержання свіжого соку з картоплі: 1...2 г свіжої картоплі розтирають у ступці, додають 25 мл води, перемішують і зливають розчин у пробірку (ножем подрібнювати картоплю не можна, іони заліза спричиняють потемніння).

У чотири пронумеровані пробірки наливають по 0,5 мл свіжого картопляного соку. У першу пробірку додають 0,5 мл пірокатехіну, в другу 1...2 краплі інгібітора – натрію сульфіді і 0,5 мл пірокатехіну. Вміст третьої пробірки кип'ячать, а потім вміщують 0,5 мл пірокатехіну. У четверту пробірку доливають 0,5 мл дистильованої води.



Усі пробірки ставлять на водяну баню на 30 хв за температури 37°C. Вміст пробірок перемішують для кращого доступу кисню. Розчин першої пробірки знебарвлюється внаслідок окиснення пірокатехіну киснем за присутності фенолоксидази. Забарвлення розчинів у другій, третій та четвертій пробірках не змінюється.

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Фізіологічна роль фенолоксидази остаточно не встановлена, але відомо, що клітини крові людини, які вміщують фенолоксидази, є елементами системи імунітету; фермент відіграє важливу роль у диханні рослин, забезпечує відповідь на зміну функціонального стану.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

#### **Алгоритм лабораторної роботи № 2**

##### **Дослідження дії альдегіддегідрогенази.**

**Принцип методу.** Метод базується на знебарвленні метиленового синього у разі його відновлення альдегідом за присутності альдегіддегідрогенази.

Окиснення речовини під впливом дегідрогеназ проходить без участі кисню (анаеробне окиснення). Дегідрогеназою водень переноситься з однієї речовини на іншу, яку називають *акцептором* водню, а саму речовину, яка окиснюється, називають *донатором*.

Дегідрогеназа молока відносно стійка до дії температури, тому її дію краще спостерігати за температури 50...60 °С. Дегідрогеназа, що міститься в молоці, легко окиснює формальдегід у мурашину кислоту. При цьому відбувається перенесення водню на метиленовий синій, який знебарвлюється

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, водяна баня, термометр, паличник, нейтралізований альдегід, розчин метиленового синього, молоко.

##### **Порядок виконання роботи.**

Готують три пронумеровані пробірки. У першу наливають 1 мл молока, 1...2 краплі нейтралізованого альдегіду і 2 краплі розчину метиленового синього. У другу пробірку – 1 мл молока та 2 краплі метиленового синього. У третю пробірку – 1 мл прокип'яченого молока, 1...2 краплі нейтралізованого альдегіду і 2 краплі розчину метиленового синього. Вміст усіх трьох пробірок перемішують і ставлять на водяну баню на 30 хв за температури 37°C.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

У першій пробірці розчин метиленового синього знебарвлюється. У другій і третій знебарвлення не спостерігають.

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** *Альдегіддегідрогеназа* (КФ 1.2.1.3) – тип ферментів, що каталізує окиснення (дегідрогенацію) альдегідів. Ці ферменти є важливими складовими системи метаболізму спиртів в організмі більшості організмів всіх доменів. У людини та інших ссавців ці ферменти знайдені в різних тканинах, але максимально активні в печінці, де вони відповідають за окиснення альдегідів до карбонових кислот, які залишають печінку та метаболізуються м'язами тіла. Висловлюється припущення, що накопичення альдегідних продуктів окислювального пошкодження ліпідів та протеїнів на фоні зниження активності ензимів, які забезпечують їх катаболізм, може бути основою одного з механізмів мітохондріальної дисфункції в умовах токсичного ураження печінки за аліментарної депривації протеїну.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання**

1. Охарактеризувати типи реакцій біологічного окислення (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні) їх біологічне значення.
2. Основні принципи організації дихального ланцюга мітохондрій та основні принципи хеміосмотичної теорії Мітчела,
3. Роль біологічного окислення, тканинного дихання та окисного фосфорилування в генерації АТФ за аеробних умов.
4. Основи біоенергетики тканин та механізми розвитку енергодефіциту і незворотних змін в організмі при гіпоенергетичних станах.
5. Порушення синтезу АТФ за умов дії на організм людини патогенетичних факторів хімічного, фізичного та біологічного походження та деяких фармацевтичних препаратів як інгібіторів або роз'єднувачів тканинного дихання та окисного фосфорилування.
6. Розкрити клініко-діагностичне значення дослідження дії оксидоредуктаз: альдегіддегідрогенази та фенолоксидази.

#### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** Хворий звернувся до лікаря зі скаргами на те, що страждає від безсоння. На що одержав відповідні рекомендації. Зокрема лікар призначив йому прийом на ніч невеликих доз амінобарбіталу. Отримавши позитивний результат від прийому ліків і при звичайвись до їх дії,

людина тривалий час приймала цей препарат. Внаслідок чого у неї з'явилася швидка стомлюваність, м'язова різка слабкість. Поясніть причини і механізм ускладнень.

**Завдання 2.** Граміцидин – антибіотик зовнішньої місцевої антибактеріальної дії, застосовується для лікування гнійних ран, пролежнів, поранень.

1. Яким є механізм дії граміцидину?
2. Чому його не можна вводити внутрішньовенно?
3. На які ще процеси можуть діяти антибіотики?

**3.3. Відповісти на тестові питання**

1. Під час електронної мікроскопії в клітині зафіксовано деструкцію мітохондрій. Про порушення яких процесів це свідчить?

- A. Синтез жирів
- B. Біосинтез білку
- C. Гліколіз
- D. Синтез нуклеїнових кислот
- E. Синтез АТФ

2. До лікарні потрапили люди, що постраждали від землетрусу й упродовж 10 днів перебували без їжі. Дослідження ферментів ЦТК показали різке зниження швидкості цього процесу. Які наслідки це матиме для організму:

- A. Зниження рівня АТФ
- B. Обезводнення
- C. Утворення великої кількості ендогенної води
- D. Посилення біосинтезу білка
- E. Посилення ліпогенезу

3. Пацієнт прийняв велику дозу снодійного препарату ряду барбітуратів (аміталу), який є інгібітором НАД-залежної дегідрогенази дихального ланцюга. Який процес порушиться за цих умов у мітохондріях?

- A. Синтез глюкози
- B. Синтез глікогену
- C. Синтез амінокислот
- D. Синтез ліпідів
- E. Синтез АТФ

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

4. Процес окиснювального фосфорилування - це головний шлях біосинтезу АТФ в організмі людини. В якій органелі клітини локалізована АТФ-синтетаза?

- A. Лізосоми
- B. Мітохондрія
- C. Ядро
- D. Апарат Гольджі
- E. Мікросоми

5. Судово-медичний експерт під час розтину тіла 20-річної дівчини встановив, що смерть настала внаслідок отруєння ціанідами. Порушення якого процесу найбільш імовірно стало причиною смерті дівчини?

- A. Тканинного дихання
- B. Синтезу гемоглобіну
- C. Транспорту кисню гемоглобіном
- D. Синтезу сечовини
- E. Транспорту водню за допомогою малатаспартатного механізму

6. Цитохроми – компоненти дихального ланцюга мітохондрій, що переносять електрони від убіхінону на молекулярний кисень. Яка частина молекули цитохрома бере участь в окиснювально-відновних реакціях?

- A. Білкова частина
- B. Вінільний радикал
- C. Пірольне кільце
- D. Атом феруму
- E. Метиний мостик

7. У жінки 36-ти років має місце гіповітаміноз В<sub>2</sub>. Причиною виникнення специфічних симптомів (ураження епітелію, слизових, шкіри, рогівки ока) імовірно є дефіцит:

- A. Цитохромоксидази
- B. Цитохрому В
- C. Цитохрому С
- D. Цитохрому А1
- E. Флавінових коферментів

8. Послідовність передавання електронів від одного компонента дихального ланцюга мітохондрій до іншого визначається їх стандартними редокс-потенціалами. У якого з компонентів дихального ланцюга мітохондрій величина редокс-потенціалу є найменшою?

- A. НАДН+Н<sup>+</sup>
- B. ФАДН<sub>2</sub>
- C. Цитохрому *b*
- D. Цитохрому *c*<sub>1</sub>
- E. Цитохрому *a*<sub>3</sub>

9. Спряження тканинного дихання з окисним фосфорилуванням відбувається за наявності електрохімічного градієнту іонів Н<sup>+</sup> між матриксом та міжмембранним простором. Яка з перерахованих речовин може роз'єднувати процеси дихання та фосфорилування?

- A. Ціаніди
- B. Динітрофенол
- C. Глюкоза
- D. Соматотропні
- E. Ротенон

10. Який з компонентів входить до складу комплексу I дихального ланцюга (НАДН-коензим Q-редуктази):

- A. ФМН
- B. ФАД
- C. Гем
- D. Ліпоева кислота
- E. Сукцинат

11. Підвищену стійкість «моржів» до холодної води пояснюють тим, що в них синтезуються у великих кількостях гормони, які посилюють процеси окиснення і утворення тепла в мітохондріях шляхом роз'єднання біологічного окиснення та окисного фосфорилування. Які це гормони (гормон)?

- A. Кортикостероїд
- B. Адреналін і норадреналін
- C. Глюкагон
- D. Інсулін
- E. Йодвмісні гормони щитоподібної залози (йодтироніни)

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

12. Відомо, що деякі хімічні сполуки роз'єднують тканинне дихання та окисне фосфорилування. Назвіть одну з таких сполук:

- A. Молочна кислота
- B. Чадний газ
- C. Антиміцин А
- D. 2,4-динітрофенол
- E. Ацетил-КоА

13. Послідовність передавання електронів від одного компонента дихального ланцюга мітохондрій до іншого визначається їх стандартними редокс-потенціалами. У якого з компонентів дихального ланцюга мітохондрій величина редокс-потенціалу є максимальною?

- A. Цитохрому  $a_3$
- B. НАДН+ $H^+$
- C. ФАДН<sub>2</sub>
- D. Цитохрому  $b$
- E. Цитохрому  $c_1$

14. Хворому туберкульозом призначено антибіотик олігоміцин. Який процес гальмує цей препарат у мітохондріях?

- A. Мікросомальне окиснення
- B. Субстратне фосфорилування
- C. Окиснювальне фосфорилування
- D. Пероксидне окиснення ліпідів
- E. Окиснювальне декарбоксилювання

15. Ціаністий калій – отрута, що при зводить до миттєвої смерті. На які ферменти в мітохондріях діє ціаністий калій?

- A. Флавінові ферменти.
- B. Цитохромоксидаза [aa<sub>3</sub>].
- C. Цитохром  $b$ .
- D. НАД<sup>+</sup>-залежні дегідрогенази.
- E. Цитохром P<sub>450</sub>.

16. Яке з наведених тверджень вірне? Спряження електронного транспорту в мітохондріях з біохімічною системою синтезу АТФ здійснюється за рахунок:

- A. Дії інгібіторів електронного транспорту
- B. Порушення цілісності внутрішньої мембрани мітохондрій
- C. Різниці редокс потенціалів компонентів дихального ланцюга
- D. Проходить спонтанно
- E. Утворення протонного електрохімічного потенціалу

17. Який з компонентів входить до складу комплексу II дихального ланцюга (Сукцинат-коензим Q-редуктази):

- A. Гем
- B. ФАД
- C. ФМН
- D. НАДФ
- E. Цитохром c

18. У хворих тиреотоксикозом спостерігається гіпертермія, булімія, схуднення, що пов'язано з порушенням:

- A. Реакцій синтезу жирів
- B. Розпаду АТФ
- C. Сполучення окиснення та фосфорилування
- D. Реакцій циклу лимонної кислоти
- E. Реакцій бета-окислення жирних кислот

19. При тиреотоксикозі підвищується продукція тиреоїдних гормонів Т<sub>3</sub> та Т<sub>4</sub>, розвиваються схуднення, тахікардія, психічне збудження тощо. Як саме впливають тиреоїдні гормони на енергетичний обмін в мітохондріях клітин?

Increased production of thyroidal hormones T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub>, weight loss, tachycardia, psychic excitement and so on present on thyrotoxicosis. How do thyroidal hormones affect energy metabolism in the mitochondrion of cells?

- A. Activate phosphorylation of substrates
- B. Disconnect oxidation and oxidative phosphorylation
- C. Block phosphorylation of substrates
- D. Block respirator}' chain
- E. Activate oxidated phosphorylation.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

---

20. У клітині повністю заблокований синтез АТФ. Як зміниться величина мембранного потенціалу спокою цієї клітини?

ATP synthesis is totally blocked in a cell. How will the value of membrane rest potential change?

- A. First it will increase, then decrease
- B. It will be slightly increased
- C. It will be considerably increased
- D. It will disappear

21. Підвищену стійкість «моржів» до холодної води пояснюють тим, що у них синтезується у великих кількостях гормони що підсилюють процеси окиснення і утворення тепла в мітохондріях шляхом роз'єднання. Які це гормони (гормон)?

High resistance of "winter-swimmers" (so-called "walruses") to low temperatures is explained by the increased production of certain hormones that stimulate the processes of biological oxidation and heat formation in the cells through the uncoupling of mitochondrial electron transfer and the oxidative phosphorylation. Choose the name of these hormones from the following list:

- A. Thyroid hormones
- B. Adrenaline and noradrenalin
- C. Glucagon
- D. Insulin
- E. Corticosteroids.

22. Встановлено, що до складу пестициду входить арсенат натрію, який блокує ліпоєву кислоту. Вкажіть, активність яких ферментів порушується:

It has been found out that one of a pesticide component is sodium arsenate that blocks lipoic acid. Which enzyme activity is impaired by this pesticide?

- A. Glutathione reductase
- B. Microsomal oxidation
- C. Methemoglobin reductase
- D. Glutathione peroxidase
- E. Pyruvate dehydrogenase complex.



23. Як впливають на енергетичний вихід АТФ іони  $K^+$ , якщо потрапляють у мітохондрію?

- A. Вихід АТФ зменшується, бо іони  $K^+$  як іонофори зменшують величину мембранного електрохімічного потенціалу
- B. Частина енергії дихання використовується на транспорт іонів
- C. Збільшується утворення АТФ, бо зростає позитивний потенціал?
- D. Не змінюють вихід АТФ
- E. Величина зміни АТФ буде залежати від кількості іонів  $K^+$

24. До реанімаційного відділення в тяжкому стані, без свідомості надійшов пацієнт. Діагностовано передозування барбітуратів, які спричинили феномен тканинної гіпоксії. На якому рівні відбулося блокування електронного транспорту?

A patient has been taken to intensive care department unconscious. Overdosage of barbiturates, which caused the phenomenon of tissue hypoxia was diagnosed. What level the electron transport chain was blocked?

- A. Ubiquinon
- B. Cytochrome oxidase
- C. Cytochrome b - cytochrome c1
- D. NADN- coenzyme-Q - reductase
- E. ATP synthase.

25. Ціаніди є надзвичайно потужними клітинними отрутами, які при надходженні до організму людини можуть спричинити смерть. Блокування якого ферменту тканинного дихання лежить в основі такої їх дії?

Potassium cyanide is a very dangerous poison that causes instantaneous death of a human organism. What mitochondrial enzyme is affected by potassium cyanide?

- A. Cytochrome oxidase
- B. Flavine enzymes
- C. Cytochrome b
- D.  $NAD^+$ -dependent dehydrogenases
- E. Cytochrome P450.

## Практичне заняття № 7

**ТЕМА: ПЕРЕТРАВЛЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ ЛЮДИНИ. ОБМІН МОНОСАХАРИДІВ. АЕРОБНЕ ТА АНАЕРОБНЕ ОКИСНЕННЯ ГЛЮКОЗИ.**

**Навчальна мета:** трактувати біохімічні закономірності внутрішньоклітинного анаеробного та аеробного окиснення глюкози та біохімічні шляхи їх регуляції, вміти використовувати знання про анаеробний обмін вуглеводів для пояснення стану організму в нормі і при патології, що супроводжується гіпоксією.

**Знати:** основи біоенергетики тканин та механізми розвитку енергодефіциту і незворотних змін в організмі при гіпоенергетичних станах, роль ферментів та коферментів для перебігу реакцій гліколізу.

**Вміти:** аналізувати склад і будову вуглеводів, їх класифікацію; пояснювати біологічне значення вуглеводів, їх розповсюдження, а також етапи перетравлення оліго- та полісахаридів в різних відділах шлунково-кишкового тракту, шляхи використання глюкози в органах і тканинах; трактувати механізми перетворення вуглеводів в анаеробних та аеробних умовах; хімізм цих перетворень; аналізувати механізми регуляції анаеробного та аеробного окиснення вуглеводів. писати хімізм реакцій гліколізу.

Таблиця 1

### План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття

Основні напрямки теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань	Джерело	
1. Перетравлення вуглеводів	1. Травлення вуглеводів 2. Надходження вуглеводів у клітини 3. Перетворення глюкози у тканинах	[1]128–144, [2]143–171, [3]230–270 [5] – №6.
2. Анаеробний гліколіз. Біологічна роль, хімізм,	2.1. Загальна характеристика анаеробного окислення глюкози.	[1]128–144, [2]143–171, [3]230–270

механізм регуляції.	2.2. Послідовність реакцій та ферменти гліколізу. 2.3. Гліколітична оксидоредукція: субстратне фосфорилування. Ефект Пастера. 2.4. Регуляція гліколізу. 2.5. Спиртове та інші види бродиння. 2.6. Шляхи утилізації молочної кислоти. 2.7. Причини та наслідки гіперлактатемії	[5] – №6.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення методу визначення молочної кислоти..	1.1. Визначення молочної кислоти методом Уффельмана.	

## **I. Короткі теоретичні відомості**

### **1. Травлення вуглеводів**

**Травлення вуглеводів** – це гідроліз ди-, оліго- та полісахаридів, тобто розщеплення в присутності води глікозидних зв'язків під дією гідролітичних ферментів.

1. Перетравлювання полісахаридів (крохмалю або глікогену) починається у ротовій порожнині під дією амілази слини.

2. Завершується травлення у тонкій кишці під впливом гліколітичних ферментів підшлункової залози та гідролаз кишкового соку.

3. Утворені моносахариди всмоктуються крізь епітелій слизової в портальний кровоплин.

Травлення вуглеводів починається у ротовій порожнині, в якій діє  $\alpha$ -амілаза слини ( $pH_{opt} = 6,7$ ). Фермент каталізує гідроліз 1,4-глікозидних зв'язків у молекулі крохмалю. Цей фермент є *ендоамілазою*, тому що він розщеплює зв'язки, віддалені від кінця ланцюгу. В результаті утворюються

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

олігосахариди (декстрини) та невелика кількість дисахариду мальтози.

У верхньому відділі тонкого кишечника діє панкреатична  $\alpha$ -амілаза, яка гідролізує 1,4-глікозидні зв'язки шляхом послідовного відщеплення молекул мальтози від декстринів. 1,6-Глікозидні зв'язки в декстринах гідролізують *1,6-глікозидази*.

Мальтоза, лактоза і сахароза гідролізуються специфічними глікозидазами — відповідно *мальтазою*, *лактазою* і *сахаразою*. Ці ферменти синтезуються в епітеліоцитах слизової оболонки тонкої кишки, але не виділяються у просвіт. Гідроліз дисахаридів відбувається у глікокаліксі на апікальній мембрані клітин та в їх цитоплазмі. Розщеплення здійснюється до моносахаридів:

Утворені моносахариди всмоктуються крізь епітелій слизової в портальний кровоупин.

### **2. Надходження вуглеводів у клітини**

Продукти перетравлювання вуглеводів – глюкоза, галактоза і фруктоза через капіляри кишкових мікрроворсинок, потрапляють у кровоносну систему і з плином крові, через ворітну вену надходять у печінку. Значно менша частина глюкози через загальний кровообіг переноситься до інших органів і тканин.

Внутрішньоклітинна концентрація глюкози дуже низька порівняно з концентрацією в плазмі крові, тому надходження її в клітини тканин здійснюється за градієнтом концентрації шляхом пасивного транспорту (процес стимулюється інсуліном).

### **3. Перетворення глюкози у тканинах**

Прості вуглеводи (моносахариди – глюкоза, фруктоза, галактоза, манноза) після всмоктування в кишковому тракті та проникнення всередину клітин підлягають метаболічним перетворенням, які становлять підґрунтя їх біоенергетичної функції.

Безпосередній і найбільший внесок в енергетичний баланс клітин здійснює окислення глюкози до кінцевих продуктів катаболізму – карбон (IV) оксиду та води.

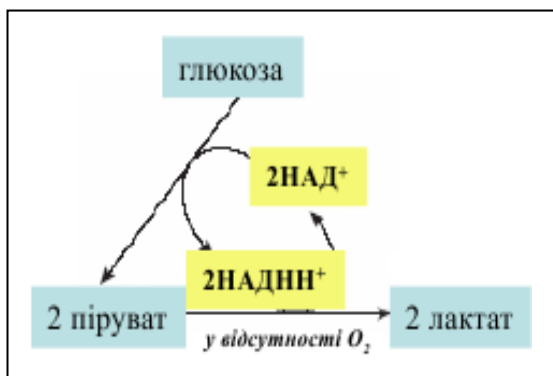
Глюкоза, яка всмоктується в кров у кількості, що перевищує безпосередні енергетичні потреби організму, відкладається про запас у вигляді глікогену або використовується для синтезу нейтральних жирів (триацилгліцеролів) жирової тканини (*про це на наступних практичних заняттях*).

#### 4. Загальна характеристика гліколізу

**Гліколіз** – центральний шлях катаболізму глюкози, сукупність ферментативних реакцій, в результаті яких шестикарбонова молекула глюкози  $C_6H_{12}O_6$  розщеплюється до двох трикарбовоних молекул пірвовиноградної (молочної кислоти).

Гліколіз є шляхом катаболізму глюкози, в якому кисень не бере безпосередньої участі, проте, за рахунок наявності в гліколізі окислювально-відновлювальних реакцій, у результаті гліколітичного розщеплення глюкози генерується дві молекули АТФ.

В організмі людини та тварин розрізняють:

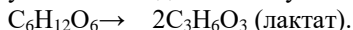


• **аеробний гліколіз**, що супроводжується утворенням з однієї молекули глюкози двох молекул пірвовиноградної кислоти (пірувату) за схемою:  
 $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_3H_4O_3$  (піруват) + 2H.

Для більшості тканин людини та вищих тварин в умовах

нормальної життєдіяльності є найбільш характерним перебіг гліколізу *аеробним* механізмом, тобто утворення з глюкози пірувату, який у подальшому окислюється до вуглекислого газу й води.

• **анаеробний гліколіз**, що супроводжується утворенням з однієї молекули глюкози двох молекул молочної кислоти (лактату):



Анаеробний гліколіз – це ферментативний розпад глюкози до молочної кислоти (лактату) без споживання кисню.

*Анаеробний гліколіз* має місце переважно в м'язах за наступних умов:

- у перші хвилини інтенсивної фізичної діяльності, тобто при відносній кисневій недостатності,
- в деяких високоспеціалізованих клітинах (зокрема, в еритроцитах, в яких відсутні мітохондрії),
- у різних органах при нестачі кисню (гіпоксія),

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---

– за певних патологічних умов (клітини злоякісних пухлин).

**5. Гліколіз: реакції, енергетика, регуляція**

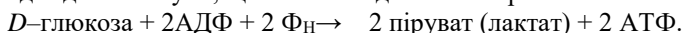
<u>1 - гексокіназа</u>	1 стадія
2 - глюкозо-6-фосфат ізомераза	
<u>3 - фосфофруктокіназа</u>	
4 - альдолаза	
5 - триозофосфатізомераза	
6 - гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа	2 стадія
7 - фосфогліцераткіназа	
8 - фосфогліцеромутаза	
9 - енолаза	
<u>10- пируваткіназа</u>	
<u>11- лактатдегідрогеназа</u>	

Виділяють дві стадії гліколізу:

1. Розщеплення молекули глюкози до двох молекул фосфотріоз (гліцеральдегід-3-фосфату та діоксацетонфосфату). Ця стадія включає в себе послідовність реакцій, які потребують витрати двох молекул АТФ на кожен молекулу глюкози, що розщеплюється.

2. Перетворення двох молекул фосфотріоз на дві молекули пірувату (або лактату). Ця стадія включає в себе окислювально-відновлювальні реакції («гліколітична оксидоредукція»), які супроводжуються генерацією чотирьох молекул АТФ.

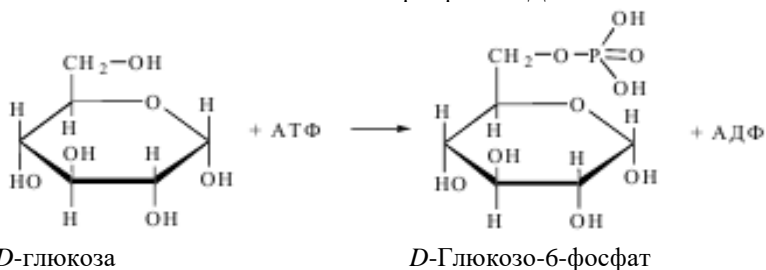
Таким чином, у результаті розщеплення однієї молекули глюкози в реакціях аеробного або анаеробного гліколізу сумарний вихід АТФ складає дві молекули, що можна подати таким рівнянням:



• **Ферментативні реакції аеробного гліколізу:**

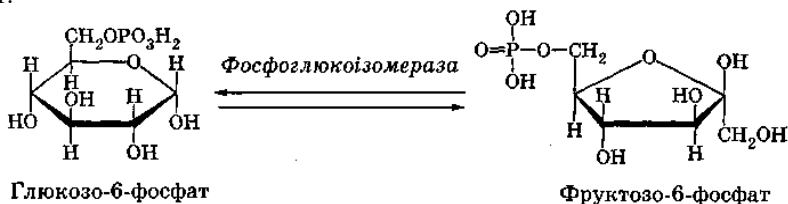
**Перша стадія**

1. Активація молекули глюкози шляхом її фосфорилування до фосфорного естеру – *глюкозо-6-фосфату*. Джерелом фосфату в реакції є молекула АТФ:



Ця реакція каталізується ферментом *гексокіназою*, що найбільш активна в м'язовій тканині. У клітинах печінки в утворенні глюкозо-6-фосфату з вільної молекули глюкози значну роль відіграє також фермент *глюкокіназа*. Гексокіназа здатна фосфорилувати різні гексози. *Глюкокіназа* специфічна для глюкози, проте її активність проявляється лише при концентраціях глюкози в крові, що перевищують фізіологічний рівень глікемії.

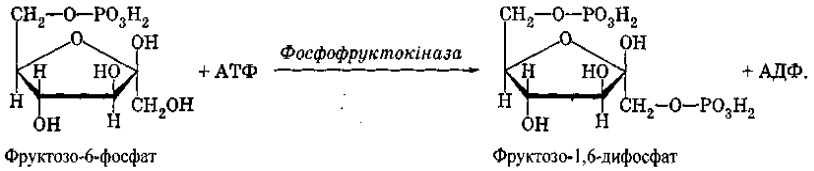
2. Перетворення (ізомеризація) глюкозо-6-фосфату у фруктозо-6-фосфат:



Реакція каталізується ферментом *фосфогексоізомеразою* і є зворотною. У фізіологічних умовах рівновагу реакції зсунуто праворуч у зв'язку з використанням фруктозо-6-фосфату в подальших реакціях гліколізу.

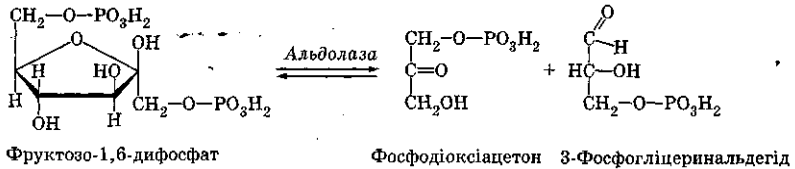
3. Фосфорилування фруктозо-6-фосфату з утворенням фруктозо-1,6-дифосфату. Джерелом фосфату, як і в 1-й реакції гліколізу, є молекула АТФ.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**



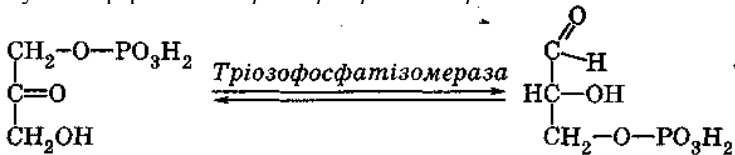
Ферментом, що каталізує цю реакцію, є *фосфофруктокіназа*, яка належить до регуляторних ферментів гліколізу з алостеричним механізмом регуляції

4. Розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату на дві молекули фосфотріоз шляхом розриву ковалентного  $\text{-C-C-}$  зв'язку між 3-м та 4-м атомами Карбону в шестикарбонівому ланцюзі фруктозо-1,6-дифосфату. Реакція каталізується ферментом *фруктозо-1,6-дифосфатальдолазою* (альдолазою). У результаті альдолазної реакції утворюються діоксіацетонфосфат (ДАОФ) та гліцеральдегід-3-фосфат (Г-3-Ф):



або діоксіацетонфосфат      гліцеральдегід-3-фосфат  
 (ДАОФ)                              (Г-3-Ф)

5. Взаємоперетворення двох фосфотріоз (ДАОФ та Г-3-Ф), що каталізується ферментом *тріозофосфатізомеразою*:

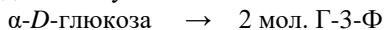


**Фосфодіоксіацетон**                              **3-Фосфогліцеринальдегід**  
 або діоксіацетонфосфат      гліцеральдегід-3-фосфат (Г-3-Ф)

Оскільки за фізіологічних умов рівновагу даної реакції зсунуто праворуч у зв'язку з використанням у подальших реакціях гліколізу саме гліцеральдегід-3-фосфату, сумарним результатом зазначених п'яти



реакцій розщеплення глюкози є перетворення однієї молекули глюкози на дві молекули Г-3-Ф за схемою:



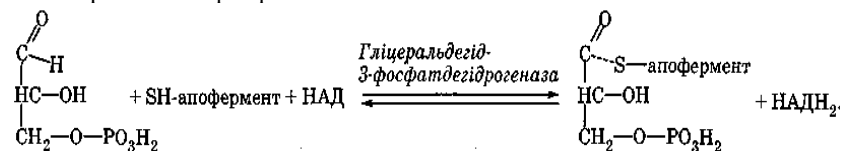
### Друга стадія

Окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 3-фосфогліцеринової кислоти (3-ФГК).

Цей процес (гліколітична оксидоредукція) складається з двох реакцій (6 і 7), що каталізуються окремими ферментами:

6. Окислення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-дифосфогліцерату (1,3-дифосфогліцеринової кислоти – 1,3-ди ФГК).

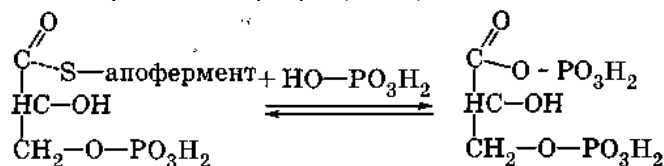
Реакція каталізується ферментом *гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназою*, коферментом якого є НАД<sup>+</sup>, що акцептує відновлювальні еквіваленти (електрони) від альдегідної групи Г-3-Ф. У реакції бере також участь неорганічний фосфат:



3-Фосфогліцеринальдегід

Фермент-субстратний комплекс

або Гліцеральдегід-3-фосфат (Г-3-Ф)



Фермент-субстратний комплекс

1,3-Дифосфогліцеринова кислота

Другим продуктом гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназної реакції є НАДН («гліколітичний НАДН»), який в аеробних умовах передає свої відновлювальні еквіваленти на внутрішньомітохондріальний НАД<sup>+</sup> та, послідовно, на мітохондріальний ланцюг електронного транспорту, генеруючи при цьому в результаті окисного фосфорилування три молекули АТФ.

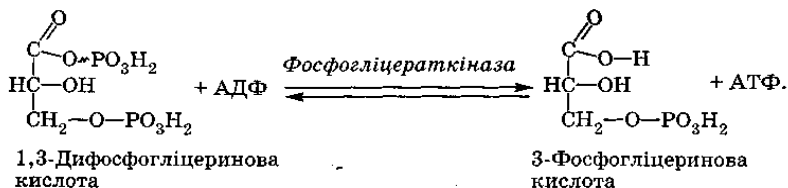
7. Перетворення 1,3-дифосфогліцерату на 3-фосфогліцерат (3-

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

---

фосфогліцеринову кислоту – 3-ФГК).

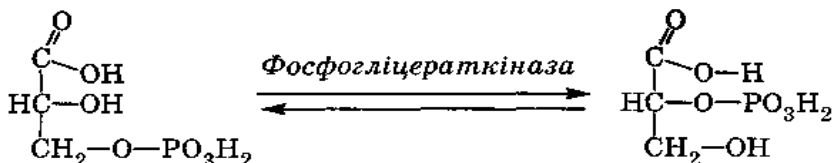
Ця реакція супроводжується перенесенням макроергічної фосфатної групи від 1,3-диФГК на АДФ з утворенням молекули АТФ і каталізується ферментом *фосфогліцераткіназою*:



або 1,3-Дифосфогліцерат

3-Фосфогліцерат

8. Перетворення 3-фосфогліцерату на 2-фосфогліцерат (2-фосфогліцеринову кислоту – 2-ФГК). Реакція каталізується ферментом *фосфогліцераткіназою*:



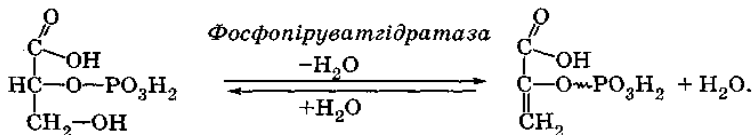
3-Фосфогліцеринова  
кислота

2-Фосфогліцеринова  
кислота

або 3-Фосфогліцерат

2-Фосфогліцерат

9. Дегідратація 2-фосфогліцерату з утворенням фосфоенолпірувату (ФЕП). Реакція каталізується ферментом *фосфопіруватгідратазою* (енолазою):



2-Фосфогліцеринова  
кислота

Фосфоенолпіруват  
кислота

або 2-Фосфогліцерат

Фосфоенолпіруват

Ця реакція є другою в ході гліколізу, в результаті якої генерується макроергічний зв'язок (в молекулі ФЕП).

10. Утворення з фосфоенолпірувату пірувату. Реакція каталізується



**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

**Регуляція гліколізу**

Регуляція гліколізу здійснюється за рахунок впливу негативних та позитивних модуляторів (інгібіторів, активаторів) на каталітичну активність регуляторних ферментів, що каталізують незворотні реакції гліколізу:

- *гексокінази* – для ферменту м'язів алостеричним інгібітором є продукт реакції глюкозо-6-фосфат;

- *фосфофруктокінази* – інгібіторами є метаболіт трикарбонового циклу цитрат та АТФ; активаторами – субстрат ферменту фруктозо-6-фосфат та АМФ; висока інтенсивність окислювальних процесів, що характеризується накопиченням у клітині субстратів ЦТК та АТФ, сприяє за рахунок даного механізму збереженню пулу глюкози; фосфофруктокіназа є швидкість-лімітуючою реакцією гліколізу;

- *піруваткінази* – фермент інгібується АТФ, а також субстратами циклу лимонної кислоти – ацетил-КоА та жирними кислотами, що забезпечує гальмування гліколізу в умовах високої інтенсивності окислювальних процесів; печінкова ізоформа піруваткінази регулюється за допомогою ковалентної модифікації – цАМФ-залежного фосфорилування (дефосфорильована форма активна, фосфорильована – неактивна); крім того, піруваткіназа гепатоцитів є індукованим ферментом, синтез якого стимулюється в умовах підвищеного надходження з їжею вуглеводів та зростання рівня інсуліну.

Гальмування реакцій гліколізу за рахунок пригнічення в умовах активного клітинного дихання каталітичних активностей фосфофруктокінази та піруваткінази є молекулярною основою ефекту Пастера.

**Алгоритм лабораторної роботи.**

**Визначення кінцевого продукту анаеробного гліколізу – молочної кислоти**

**Принцип методу.** *Лактат* (молочна кислота), що входить до складу сироватки крові, при взаємодії з комплексною сполукою – феруму фенолятом фіолетового кольору утворює ферум лактат жовто-зеленого кольору.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, водяна баня, термометр, пальник, сироватки крові, 1% розчину фенолу, 1% розчину ферум (III) хлориду

**Порядок виконання роботи.**

До 1 мл 1% розчину фенолу додайте 2...3 краплі 1% розчину ферум (III) хлориду до забарвлення розчину в фіолетовий колір. До

отриманого розчину ферум феноляту додайте 1 мл сироватки крові. Фіолетовий колір рідини переходить у жовто-зелений, так як утворюється ферум лактат.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Збільшення вмісту молочної кислоти може бути пов'язане з виконанням людиною інтенсивної фізичної праці за короткий проміжок часу без достатнього поступлення кисню, при цьому не відбувається повною мірою окисне декарбоксилювання пірувату до ацетил-КоА. Збільшення концентрації молочної кислоти спостерігають при гострому гнійному запальному ураженні тканин, тяжкій анемії, епілепсії, тетанії, правці, гіпоксії, пов'язаній з серцевою та легеневою недостатністю, злоякісних новоутвореннях, захворюваннях печінки (гострих гепатитах, цирозі печінки), цукровому діабеті, нирковій недостатності, гострому септичному ендокардиті, поліомієліті, лейкозах.

Для більшості наведених станів (лактатацидоз) збільшується співвідношення лактат / піруват, найчастіше воно становить 10:1.

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання**

1. Що таке вуглеводи. Навести їх класифікацію з прикладами.
2. Охарактеризувати основні функції вуглеводів.
3. Моносахариди та їх будова.
4. Ланцюгова форма глюкози, рибози.
5. Циклічна форма глюкози, рибози
6. Полісахариди. Гідроліз крохмалю.

#### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** У легкоатлетичному бігу беруть участь спринтери та стаєри.

1. Назвіть процеси метаболізму глюкози, що забезпечують енергією роботу м'язів у цих бігунів.

2. Назвіть етапи шляху розпаду глюкози у стаєрів.

3. Напишіть реакцію 2 етапу розпаду глюкози у стаєрів.

4. Яка доля цитоплазматичного НАДН+Н<sup>+</sup>.

**Завдання 2.** Який процес забезпечує еритроцити необхідною кількістю енергії у вигляді АТФ для їх життєдіяльності?

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

**Завдання 3.** У спортсмена після змагань вміст молочної кислоти в крові становить 4 ммоль/л. Чи можна вважати це патологією? Поясніть, чому.

**3.3. Відповісти на тестові питання**

1. У людей після тривалого фізичного навантаження виникають інтенсивні болі в м'язах. Що може бути найбільш вірогідною причиною цього?

- A. Посилений розпад м'язевих білків
- B. Нагромадження креатиніну в м'язах
- C. Нагромадження в м'язах молочної кислоти
- D. Підвищена збудливість м'язів
- E. Підвищення вмісту АДФ в м'язах

2. У цитоплазмі міоцитів розчинена велика кількість метаболітів окиснення глюкози. Назвіть один з них, що безпосередньо перетворюється в лактат.

- A. Піруват
- B. Оксалоацетат
- C. Гліцерофосфат
- D. Глюкозо-6-фосфат
- E. Фруктозо-6-фосфат

3. У 3-річної дитини з підвищеною температурою тіла після прийому аспірину спостерігається посилений гемоліз еритроцитів. Вроджена недостатність якого фермента могла викликати у дитини гемолітичну анемію?

- A. Гліцеролфосфатдегідрогенази
- B. Глікогенфосфорилази
- C. Глюкозо-6-фосфатази
- D. Глюкозо-6-фосфатдегідрогенази
- E. Гамма-глутамілтрансферази

4. Під час бігу на довгі дистанції скелетна мускулатура тренованої людини використовує глюкозу з метою отримання енергії АТФ для м'язового скорочення. Вкажіть основний процес утилізації глюкози в цих умовах.

- A. Глікогенез
- B. Глюконеогенез

- C. Глікогенолізу
- D. Анаеробний гліколіз
- E. Аеробний гліколіз

5. У хлопчика 2 років спостерігається збільшення в розмірах печінки та селезінки, катаракта. В крові підвищена концентрація цукру, однак тест толерантності до глюкози в нормі. Вкажіть, спадкове порушення обміну якої речовини є причиною цього стану?

- A. Галактози
- B. Глюкози
- C. Фруктози
- D. Мальтози
- E. Сахарози

6. Характерною ознакою глікогенозу є біль у м'язах під час фізичної роботи. В крові реєструється гіпоглікемія. Вроджена недостатність якого фермента зумовлює цю патологію?

- A. Альфа-амілази
- B. Глюкозо-6-фосфатдегідрогенази
- C. Гама-амілази
- D. Глікогенфосфорилази
- E. Лізосомальної глікозидази

7. У жінки 62-х років розвинулася катаракта (помутніння кришталику) на фоні цукрового діабету. Вкажіть, який тип модифікації білків має місце при діабетичній катаракті?

- A. Фосфорилування
- B. Глікозилювання
- C. АДФ-рибозилування
- D. Метилування
- E. Обмежений протеоліз

8. У пацієнта К. під час лабораторного обстеження виявлено наявність глюкози в сечі при нормальній концентрації її в плазмі крові. Порушення якого процесу є найімовірнішою причиною цього стану?

- A. Канальцевої реабсорбції
- B. Секреції інсуліну
- C. Клубочкової фільтрації

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.*  
*Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,*  
*ліпідів та його регуляція*

---

- D. Канальцевої секреції
- E. Секреції глюкокортикоїдів

9. Хвора (46 років) скаржиться на сухість в роті, спрагу, почашене сечовипускання, загальну слабкість. При біохімічному дослідженні крові виявлено гіперглікемію, гіперкетонемію. В сечі – глюкоза, кетонів тіла. На електрокардіограмі дифузні зміни в міокарді. У хворої вірогідно:

- A. Ішемічна хвороба серця
- B. Аліментарна гіперглікемія
- C. Гострий панкреатит
- D. Нецукровий діабет
- E. Цукровий діабет

10. Хвора 38-ми років надійшла до реанімаційного відділення в невідомому стані. Рефлекси відсутні. Цукор крові – 2,1 ммоль/л. В анамнезі – цукровий діабет з 18-ти років. Яка кома має місце у хворої?

- A. Гіпоглікемічна
- B. Кетоацидотична
- C. Гіперглікемічна
- D. Лактацидемична
- E. Гіперосмолярна

11. При глікогенозі – хворобі Гірке - порушується перетворення глюкозо-6-фосфату на глюкозу, що призводить до накопичення глікогену в печінці та нирках. Дефіцит якого ферменту є причиною захворювання?

- A. Альдолаза
- B. Глікогенсинтетаза
- C. Фосфорилаза
- D. Гексокіназа
- E. Глюкозо-6-фосфатаза

12. Глікоген, що надійшов з їжею, гідролізувався у шлунково-кишковому тракті. Який кінцевий продукт утворився в результаті цього процесу?

- A. Лактат
- B. Глюкоза
- C. Лактоза



- D. Галактоза
- E. Фруктоза

13. Підшлункова залоза – орган змішаної секреції. Ендокринна частина її продукує бета-клітинами гормон інсулін, який впливає на обмін вуглеводів. Як він впливає на активність глікогенфосфорилази (ГФ) і глікогенсинтетази (ГС)?

- A. Не впливає на активність ГФ і ГС
- B. Активує ГФ і ГС
- C. Пригнічує ГФ і ГС
- D. Активує ГФ, пригнічує. ГС
- E. Пригнічує ГФ. активує ГС

14. Для перебігу багатьох життєво важливих процесів організму людини потрібна енергія. В анаеробних умовах єдиним процесом утворення енергії є:

- A. Гліколіз
- B. Цикл Кребса
- C.  $\beta$ -окиснення жирних кислот
- D. Мікросомальне окиснення
- E. Глюконеогенез

15. У хворого, виснаженого голодуванням, у печінці та нирках посилюється процес:

What biochemical process is stimulated in die liver and kidneys of a patient exhausted by starvation?

- A. Synthesis of bilirubin
- B. Synthesis of urea
- C. Gluconeogenesis
- D. Formation of hippuric acid
- E. Syndiesis of uric acid.

16. У хворого, який тривалий час страждає на хронічний ентероколіт, скаржитися на непереносимість молочних продуктів. Після вживання молока виникають метеоризм, діарея, коліки. З нестачею якого ферменту в кишечнику це пов'язано?

A patient who suffers from chronic enterocolitis complains of intolerance to dairy products. After taking milk he shows flatulence, diarrhea

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---

and cramps. The deficiency of what enzyme of the digestive system accounts for the phenomenon?

- A. Amylase
- B. Sucrase
- C. Maltase
- D. Lactase
- E. Glycogen synthase

17. У дівчинки 7-ми років ознаки анемії. Лабораторно встановлений дефіцит піруваткінази в еритроцитах. Порушення якого процесу грає головну роль в розвитку анемії у дівчинки?

A 7-year-old girl manifests signs of anemia. Laboratory tests showed the deficiency of pyruvate kinase activity in erythrocytes. The disorder of what biochemical process is a major factor in the development of anemia?

- A. Anaerobic glycolysis
- B. Oxidative phosphorylation
- C. Tissue respiration
- D. Breaking up of peroxides
- E. Deamination of amino acid

18. У хворого з діагнозом хвороба Іценка-Кушнінга (гіперпродукція гормонів корою наднирників) в крові визначено підвищену концентрацію глюкози, кетонових тіл, натрію. Який біохімічний механізм є провідним у виникненні гіперглікемії?

Cushing's disease (hyperfunction of adrenal glands cortex which results in the augmented production of corticosteroids) is accompanied by hyperglycemia. What process is stimulated in this state?

- A. Phosphorolysis of glycogen
- B. Glycogenesis
- C. Gluconeogenesis
- D. Glycolysis
- E. Aerobic glycolysis

19. У крові дитини виявлено високий вміст галактози, концентрація глюкози понижена. Спостерігаються катаракта, розумова відсталість, розвивається жирове переродження печінки. Яке захворювання має місце?

A child's blood presents high content of galactose, glucose concentration is low. There are such presentations as cataract, mental deficiency, adipose degeneration of liver. What disease is it?

- A. Diabetes mellitus
- B. Galactosemia
- C. Lactosemia
- D. Steroid diabetes
- E. Fructosemia

20. У жінки 62-х років розвинулася катаракта (помутніння кришталика) на фоні цукрового діабету. Який тип модифікації білків має місце при діабетичній катаракті?

A 62-year-old female patient has developed a cataract (lenticular opacity) secondary to the diabetes mellitus. What type of protein modification is observed in case of diabetic cataract?

- A. Phosphorylation
- B. Glycosylation
- C. ADP-ribosylation
- D. Methylation

21. У дитини виявлено галактоземію. Концентрація глюкози в крові суттєво не змінена. Дефектом якого гену зумовлене це захворювання?

Galactosemia is revealed in the child. Concentration of glucose in the blood is not considerably changed. Deficiency of what enzyme caused this illness?

- A. Amylo-1,6-glucosidase
- B. Hexokinase
- C. Galactokinase
- D. Galactose-1-phosphate uridyl transferase
- E. Phosphoglucomutase

22. У хворого 15-ти років концентрація глюкози натще 4,8 ммоль/л. через годину після цукрового навантаження - 9,0 ммоль/л, через 2 години - 7,0 ммоль/л, через 3 години - 4,8 ммоль/л. Ці показники характерні для такого захворювання:

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

A 15-year-old patient has fasting plasma glucose level 4,8 mmol/l, one hour after glucose loading it becomes 9,0 mmol/l, in 2 hours it is 7,0 mmol/l, in 3 hours it is 4,8 mmol/l. Such parameters are characteristic of:

- A. Subclinical diabetes mellitus
- B. Diabetes mellitus type 1
- C. Diabetes mellitus type 2
- D. Healthy person
- E. Cushing's disease

23. Характерною ознакою глікогенозу є біль у м'язах піл час фізичної роботи. В крові реєструється гіпоглікемія. Вроджена недостатність якого ферменту зумовлює цю патологію?

Characteristic sign of glycogenosis is muscle pain during physical work. Blood examination reveals usually hypoglycemia. This pathology is caused by congenital deficiency of the following enzyme:

- A. Alpha amylase
- B. Glucose 6-phosphate dehydrogenase
- C. Glycogen phosphorylase
- D. Gamma amylase
- E. Lysosomal glycosidase

24. У дитини з точковою мутацією генів виявлено відсутність глюкозо-6-фосфатази, гіпоглікемію та гепатомегалію. Визначте вид патології, для якої характерні ці ознаки?

A child with point mutation has the absence of glucose 6-phosphatase in body tissues, hypoglycemia and hepatomegaly-detected. Define the type of pathology which these symptoms are characteristic of.

- A. Mac-Ardle disease
- B. Cory disease
- C. Addison's disease
- D. Parkinson's disease
- E. Girke's disease

25. У хворого, що приймає курс лікувального голодування, нормальний рівень глюкози в крові підтримується в основному за рахунок глюконеогенезу. З якої амінокислоти в печінці людини активно синтезується глюкоза?

A patient, undergoing a course of curative starvation, has a normal glucose level of the blood mainly due to gluconeogenesis. What aminoacid in human liver the most actively synthesizes glucose?

- A. Glutamic acid
- B. Lysine
- C. Valine
- D. Alanine
- E. Leucine

## Практичне заняття № 8

### ТЕМА: ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ПОЛІСАХАРИДІВ. РЕГУЛЯЦІЯ ТА ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ГЛІКОГЕНУ

**Навчальна мета:** трактувати функціональні особливості та біологічне значення біохімічних процесів синтезу і розпаду глікогену, їх регуляції в патогенезі глікогенозів та аглікогенозів, що має важливе значення для оцінки стану вуглеводного обміну, розуміння патогенезу окремих спадкових і неспадкових захворювань та їх діагностики.

**Знати:** механізми гормональної регуляції обміну глікогену в м'язах і печінці та особливості реакцій синтезу й розпаду глікогену.

**Вміти:** пояснювати особливості реакцій розпаду та біосинтезу глікогену, аналізувати механізми гормональної регуляції обміну глікогену в м'язах та печінці, пояснювати молекулярно-біологічні основи спадкових ензимопатій обміну глікогену.

Таблиця 1

#### План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття

Основні напрями теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань	Джерело	
1. Синтез глікогену та його порушення.	1.1. Структура глікогену та його біологічна роль. 1.2. Механізми біосинтезу глікогену. 1.3. Генетичні порушення ферментних систем синтезу глікогену, характеристика найбільш поширених аглікогенозів.	[1]135–158, [2]176–189, [3]237–282 [5] – №7.
2. Катаболізм глікогену. Регуляція обміну глікогену.	2.1. Біохімічні механізми розпаду глікогену в печінці і м'язах: реакції, ферменти, біологічна роль. 2.2. Гормональна регуляція обміну глікогена: каскадний механізм ц-АМФ-залежної регуляції	[1]135–158, [2]176–189, [3]237–282 [5] – №7.

	активності глікоген-фосфорилази та глікогенсинтетази. 2.3. Генетичні порушення процесу розпаду глікогену (глікогенози).	
3. Метаболізм вуглеводних компонентів глікокон'югатів.	3.1. Біосинтез O– та N– зв'язаних глікопротеїнів; значення глікозилтрансфераз та доліхолфосфату. 3.2. Біосинтез гліколіпідів на прикладі утворення оліго-сахаридних фрагментів детермінант груп крові людини системи АВО. Ферменти катаболізму глікокон'югатів. Генетичні порушення метаболізму глікокон'югатів (ревматизм, глікозидози, мукополісахаридози, гліколіпідози).	[1]135–158, [2]176–189, [3]237–282 [5] – №7.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення виявлення глікогену в печінці.	1.1. Виявлення глікогену в печінці.	

## **I. Короткі теоретичні відомості**

### ***1. Структура глікогену та його біологічна роль.***

*Глікоген* – тваринний гомополісахарид, що міститься в цитозолі клітин у вигляді мікроскопічних гранул. Глікоген є резервною формою глюкози, збереження надлишків якої у вигляді молекул мономерів неможливе у зв'язку з її високою осмотичною активністю.

Основними органами, в яких депонується найбільша кількість глікогену, є печінка та скелетні м'язи, які можуть забезпечувати власні енергетичні потреби та рівень глікемії (печінка) в перервах між споживанням їжі.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

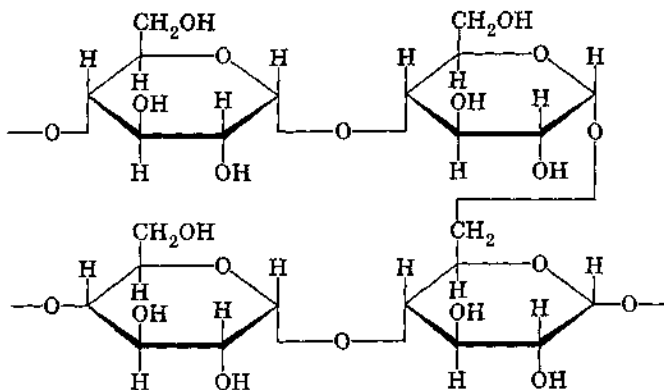
---

Вміст у печінці становить 2..8% маси органа і залежить від регулярності харчування та фізичного навантаження. Концентрація глікогену в скелетних м'язах, що перебувають у стані спокою, тільки 0,5..1%, але через велику масу м'язів більша частина глікогену знаходиться в них. У середньому в дорослої людини після споживання їжі в печінці міститься приблизно 72...100 г глікогену, а в м'язах (у стані спокою) 245...400 г. Глікоген м'язів є джерелом енергії, потрібної для скорочення м'язів, а функція глікогену печінки – підтримання сталої концентрації глюкози в крові.

Таким чином, після надходження їжі, багатой на вуглеводи, концентрація глюкози в крові ворітної вени підвищується (понад 10 ммоль/л), відповідні ферментні системи активуються, завдяки чому печінка затримує більшу частину глюкози під час травлення, не допускаючи значного зростання рівня глюкози в крові.

Глікоген тварин, як і амілопектин рослин, є розгалуженим полімером глюкози, в якому залишки глюкози з'єднані  $\alpha(1\rightarrow4)$ -глікозидними зв'язками.

У точках розгалуження зв'язки знаходяться у положенні  $\alpha(1\rightarrow6)$  приблизно у кожного 10-го залишка глюкози. Розгалужена структура створює велику кількість кінцевих мономерів, що сприяє роботі ферментів, відщеплюючих або приєднуючих глюкозу при синтезі або розпаді глікогену.



**Амілопектин**

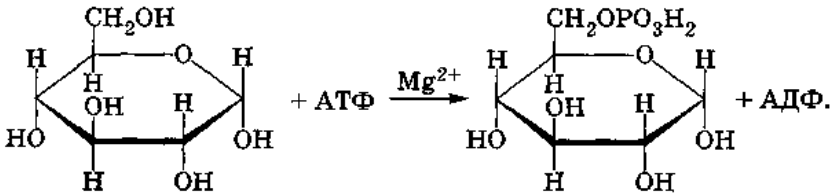


Реакції метаболізму молекул глікогену каталізуються ферментами, що структурно зв'язані з цитозольними гранулами полісахариду і забезпечують контроль швидкості його синтезу або мобілізації, залежно від рівня глікемії (глюкоземії) та стану регуляторних систем організму.

## 2. Біосинтез глікогену (глікогенез).

### 2.1. Утворення реакційноздатних форм глюкози

Нагадаю (пр. заняття №7), що перша реакція перетворення глюкози у тканинах – активація глюкози шляхом фосфорилування за участю АТФ згідно рівняння:



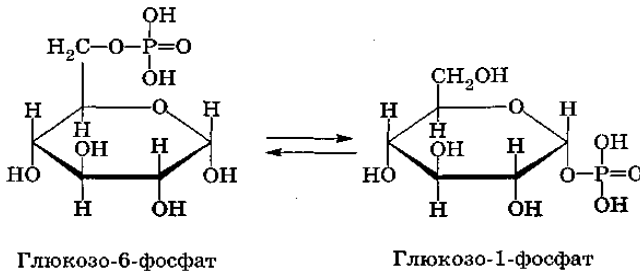
У багатьох тканинах її каталізує *гексокіназа*, а в клітинах печінки – *глюкокіназа*.

Ця реакція «зачиняє» глюкозу у клітинах, тому що клітинні мембрани непроникні для фосфорильованої глюкози.

Для подальшого синтезу полісахаридних ланцюгів глікогену глюкозо-6-фосфат має спочатку перетворитись на більш реакційноздатну форму – уридиндифосфатглюкозу (УДФ-глюкозу), яка є безпосереднім донором залишків глюкози в процесі синтезу.

УДФ-глюкоза утворюється в дві етапи.

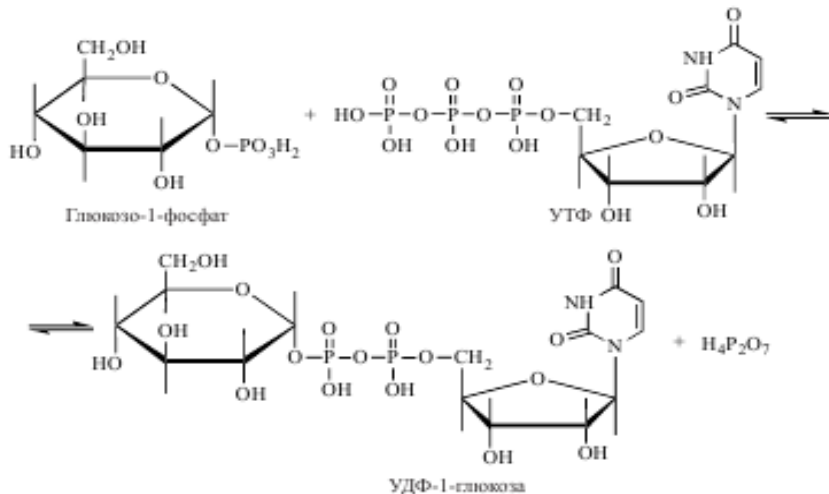
1. Перетворення глюкозо-6-фосфату на глюкозо-1-фосфат під дією *фосфоглюкомутази*:



**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

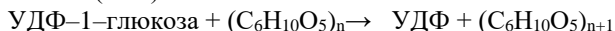
---

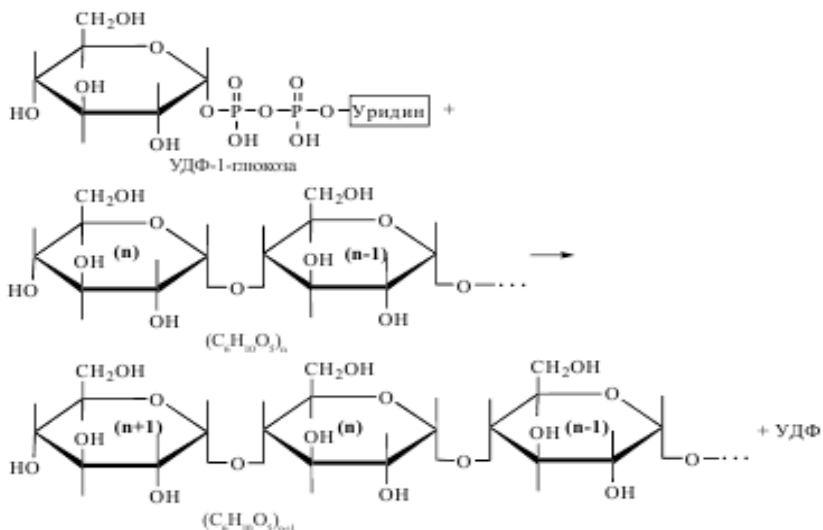
2. Взаємодія глюкозо-1-фосфату з уридинтрифосфатом (УТФ), що каталізується *УДФ-глюкозопірофосфорилазою*



**2.2. Формування нерозгалужених ланцюгів глікогену.**

При синтезі α-1,4-глікозидних (амілозних) ланцюгів глікогену в ролі акцепторів активованих залишків глюкози виступають нерозгалужені полісахаридні ланцюги вже наявних у клітині молекул глікогену. Фермент *УДФ-глікогентрансфераза (глікогенсинтаза)* переносить молекули моносахариду від УДФ-1-глюкози на С-4-гідроксильні групи термінальних (п-их) залишків глюкози за схемою:





Реакція багаторазово повторюється.

### 2.3. Формування розгалужень у молекулі глікогену.

Розгалуження в молекулі глікогену виникають за рахунок внутрішньомолекулярного переносу олігосахаридного фрагмента з 6...7 номерів із кінця лінійної ділянки на С-6-гідроксильну групу глюкози, що відстоїть від кінця молекули на кілька моносахаридних залишків.

Реакція каталізується *аміло(1,4-1,6)трансглікозидазою* (розгалужуючий фермент). За механізмом, що розглянутий, синтезуються макромолекули глікогену (м.м.  $1 \cdot 10^6 \dots 2 \cdot 10^8$ ), що містять від кількох тисяч до мільйона монозних залишків і формують гранули розміром до 200 нм.

### 3. Розпад глікогену.

Слід підкреслити, що глікоген печінки ніколи повністю не розпадається. Скорочуються лише відновлювальні кінці деревоподібної структури глікогену шляхом фосфоролізу, тобто взаємодії з неорганічним фосфатом у місці розривання зв'язку.

#### Ферментативні реакції розщеплення глікогену (глікогеноліз).

##### 3.1. Розщеплення нерозгалужених ланцюгів

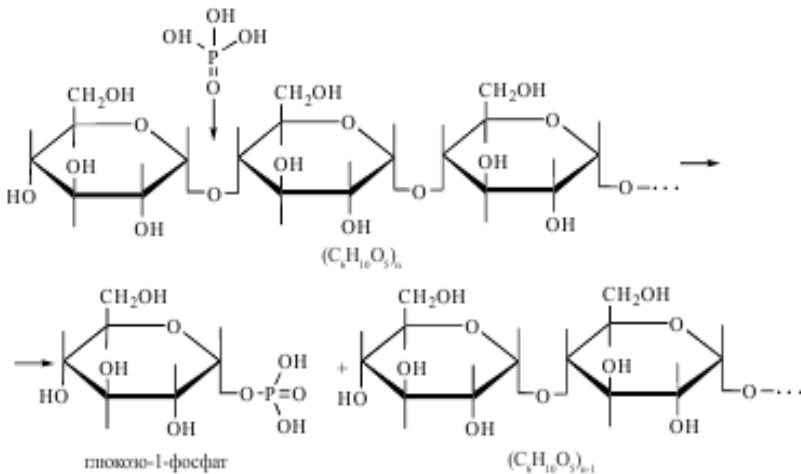
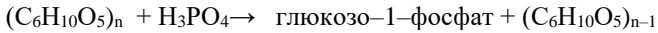
Процес *глікогенолізу* на першому етапі реалізується за механізмом фосфоролітичного розщеплення, яке полягає у фосфоролізі 1,4-глікозидних зв'язків на кінцях тільки нерозгалужених амілозних ланцюгів

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

молекули глікогену.

В реакції вивільнюється глюкозо-1-фосфат, а нерозгалужений фрагмент молекули глікогену скорочується на один моносахаридний залишок:




Фермент, що каталізує реакцію, – *глікогенфосфорилаза*.

*Глікогенфосфорилаза* відрізає моносахаридні залишки у вигляді глюкозо-1-фосфату тільки від нерозгалужених амілозних ланцюгів глікогену.

### **3.2. Розщеплення залишків розгалужених фрагментів**

Розщеплення залишків розгалужених фрагментів, що складаються з чотирьох з'єднаних моносахаридів, відбувається під дією *аміло-1,6-глікозидази* (*дерозгалужуючий фермент*).

Цей фермент має дві активності:

- *глікозилтрансферазну* активність: переносить олігосахаридні залишки розгалуження, що складаються із трьох моносахаридів  на кінець нерозгалуженого ланцюгу, при цьому на місці розгалуження залишається одна молекула глюкози, зв'язана 1,6-глікозидним зв'язком;

- *1,6-глікозидазну* активність: розриває (1,6)-глікозидні зв'язки гідролітичним шляхом, вивільняючи молекулу глюкози з утворенням лінійного полімеру, на який далі *глікогенфосфорилаза*, яка відрізає

моносахаридні залишки у вигляді глюкозо-1-фосфату.

### 3.2. Обмін фосфатованих моносахаридів

Глюкозо-1-фосфат, що утворюється при фосфоролізі глікогену, під дією *фосфоглюкомутази* перетворюється в глюкозо-6-фосфат.



**Рис. 1.** Метаболічна схема фосфоролізу глікогену в печінці та м'язах.

Подальші метаболічні шляхи обміну глюкозо-6-фосфату в клітинах печінки і м'язів різняться однією реакцією:

- у печінці від глюкозо-6-фосфату під дією *глюкозо-6-фосфатази* відщеплюється фосфат, який як своєрідний якір не випускає глюкозу із клітин. Утворена вільна глюкоза, надходить у кров і використовується в інших органах і тканинах;
- у м'язах, де відсутня *глюкозо-6-фосфатаза*, глюкозо-6-фосфат використовується для власних енергетичних потреб, окислюючись аеробним або анаеробним шляхом, відповідно, до пірувату або лактату.

Загальна схема метаболізму глікогену надана на рис. 2.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

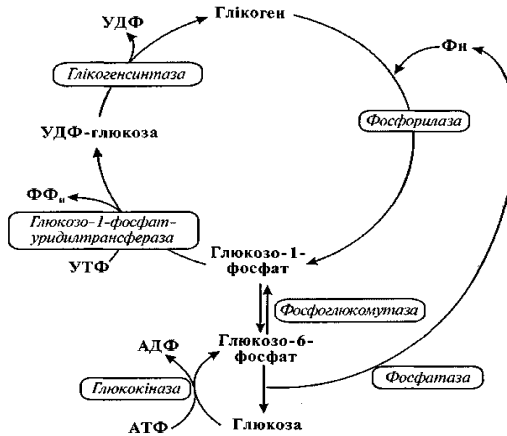
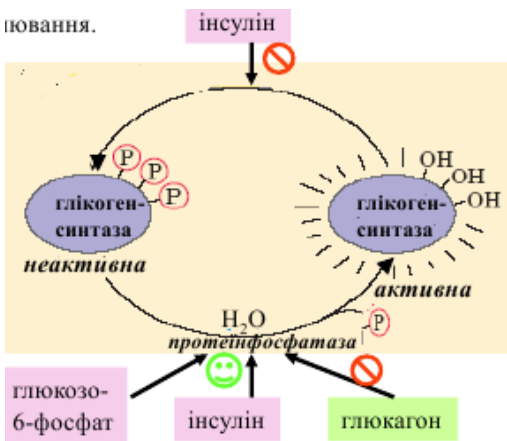


Рис. 2. Схема метаболізму глікогену

**4. Регуляція глікогенезу та глікогенолізу (синтезу та розпаду глікогену)**

повання.



фосфорилування.

Синтез глікогену активується в період травлення (1...2 години після прийому вуглеводної їжі). За цей час збільшується секреція гормону підшлункової залози **інсуліну**, котрий активує **глікогенсинтазу** шляхом її

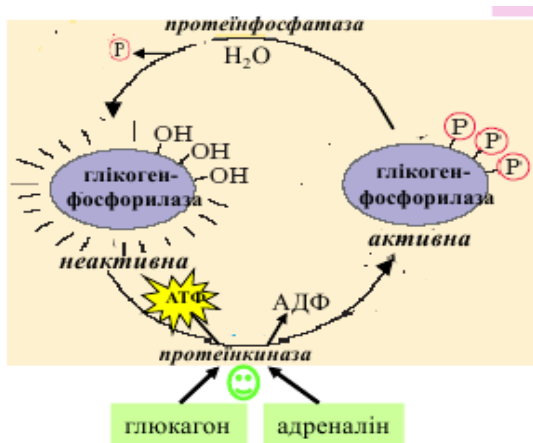
Синтез і розпад глікогену – це два протилежних процеса, які ніколи не відбуваються в клітинах одночасно.

Регуляція цих метаболічних шляхів здійснюється завдяки змінам активності двох регуляторних ферментів синтезу та розпаду глікогену – **глікогенсинтази** та **глікогенфосфорилази** за допомогою їхнього фосфорилування та де-

дефосфорилування. Внаслідок цього глюкоза після всмоктування у кров із кишечника депонується у печінці у вигляді глікогену.

Розпад (мобілізація) глікогену відбувається, головним чином, у період між прийомами їжі, а також під час фізичної роботи. У постабсорбтивному періоді (при зниженні концентрації глюкози в крові) підсилюється секреція іншого гормону підшлункової залози глюкагону, котрий активує *глікогенфосфорилазу* шляхом фосфорилування.

За цих умов у печінці відбувається розпад глікогену, і глюкоза потрап-



ляє у кров. Аналогічно у м'язах діє адреналін. У скелетних м'язах розпад глікогену активується при фізичній роботі.

### 5. Генетичні порушення метаболізму глікогену.

Спадкові порушення реакцій розщеплення або синтезу глікогену проявляються у вигляді ензимопатій – хвороб нако-

пичення глікогену – *глікогенозів* та *аглікогенозів*.

**Глікогенози** – спадкові хвороби, молекулярною основою виникнення яких є вроджена недостатність синтезу певних ферментів глікогенолізу, пов'язана з дефектами в генетичній системі клітин. При глікогенозах у внутрішніх органах та тканинах (здебільшого в печінці, м'язах, клітинах крові) спостерігається накопичення аномально надмірної кількості глікогену, який не може використовуватися у метаболічних процесах – таблиця 2.

Таблиця 2

#### Біохімічні характеристики глікогенозів

Тип	Ферментна система, що порушена	Ушкоджені органи і тканини	Тривіальні (епонімичні) назви
0	Глікогенсинтаза	Печінка, м'язи	–
I	Глюкозо-6-фосфатаза	Печінка, нирки	Хвороба Гірке

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

II	Лізосомальні глікозидази	Всі органи	Хвороба Помпе
III	Аміло-1,6-глюкозидаза	Печінка, м'язи, міокард, лейкоцити	Хвороба Форбса
IV	Аміло(1,4 →1,6) трансглікозилаза (розгалужуючий фермент)	Печінка, м'язи, міокард тощо	Хвороба Андерсена
V	Фосфорилаза м'язів	Хребцеві м'язи	Хвороба МакАрдія
VI	Фосфорилаза печінки	Печінка	Хвороба Херса
VI I	Фосфофруктокіназа	Хребцеві м'язи, еритроцити	Хвороба Таруї

Клінічно глікоgenoзи проявляються важкою гіпоглюкоземією внаслідок нездатності глікогену печінки розщеплюватися з вивільненням молекул глюкози.

Глікоgenoзи, за яких ушкоджені ферментні системи мобілізації глікогену печінки, характеризуються збільшенням маси органа, жировою дистрофією гепатоцитів та явищами цирозу. Недостатність ферментних систем глікогенолізу в м'язах супроводжується судомою за умов фізичних навантажень.

**Аглікоgenoзи** – спадкові хвороби накопичення глікогену, молекулярною основою яких є генетичні дефекти, що призводять до порушення утворення ферменту глікогенсинтази.

Внаслідок недостатності глікогенсинтази гепатоцити не здатні утворювати резерви глікогену, концентрація якого всередині клітин значно зменшена. Внаслідок відсутності глікогенових резервів хворі при аглікоgenoзах, як і при глікоgenoзах, страждають від глибокої гіпоглюкоземії, особливо натщесерце, після значної перерви з часу надходження харчової глюкози.

Гіпоглюкоземія при аглікоgenoзах може супроводжуватися важкою комою внаслідок енергетичного голодування головного мозку. Такі хворі зазвичай вмирають у ранньому віці.



## II. Практична частина

### Алгоритм лабораторної роботи

#### Виявлення глікогену в печінці

*Дослід 1. Вивчення розпаду та біосинтезу глікогену в печінці.*

**Принцип методу.** Найбільш активно розпад та біосинтез глікогену проходить в печінці. Глікоген виявляється за рахунок його властивості утворювати з йодом забарвлені сполуки. Забарвлення від яскраво-червоного до червоно-бурого виникає в результаті утворення нестійкої адсорбційної сполуки глікогену з йодом.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, водяна баня, термометр, пальник, фарфорова чашка, фарфорова ступка, печінка, вода дистильована, 2 г свіжої картоплі, 5% розчин натрію сульфід.

**Порядок виконання роботи.** 5 г печінки розміщують в фарфоровій чашці, додають 25 мл киплячої дистильованої води і кип'ячать 3 хвилини. Тканину печінки розтирають в фарфоровій ступці, додають 10 мл води, 1 мл оцтової кислоти і кип'ячать 10 хвилин. Осад білків відфільтровують. Утворений гідролізат досліджують.

*Дослід 2. Виявлення глікогену в печінці різних тварин при нормальному раціональному харчуванні.*

**Принцип методу.** Якісною реакцією на глікоген печінки є реакція з йодом на раніше підготовлений гідролізат.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, розчин люголю.

**Порядок виконання роботи.** До 0,5 мл гідролізату печінки додають 3 краплі розчину йоду. При наявності в печінці глікогену розчин набуває характерного червоного кольору.

Результати дослідження заносити в таблицю:

Досліджувана печінка	Якісна реакція на глікоген
Яловичина	
Свинина	
Курятина	

*Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.*

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Глікоген – полісахарид, який є основним резервом вуглеводів в організмі. Головне депо для глікогену – печінка та м'язи. Норма в крові – 16,2...38,7 мг/л.

Підвищення концентрації глікогену в крові спостерігають при інфекційних захворюваннях, хворобах крові, які супроводжуються лейкоцитозом, новоутвореннях.

Зниження концентрації характерне для дітей з гострими гепатитами. Важливе клінічне значення має цитохімічне визначення рівня глікогену в клітинах крові, кісткового мозку та печінці.

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання**

1. Будова та біологічна роль полісахаридів. Особливості складу та функцій гомо- і гетерополісахаридів в організмі людини.

2. Глікогенез та глікогеноліз: локалізація, хімізм, ключові ферменти, біологічне значення. Розкрийте механізм реакцій синтезу глікогену в клітинах.

3. Як відбувається регуляція глікогенезу та депонування глікогену?

4. Роль адреналіну, глюкагону та інсуліну в гормональній регуляції обміну глікогену.

5. Яка роль циклу Кребса в обміні вуглеводів?

6. Генетичні порушення метаболізму глікогену (глікогенози та аглікогенози).

7. Загальні уявлення про метаболізм глікозамінгліканів. Генетичні порушення їх обміну. Глікозидози.

#### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** Після введення адреналіну у пацієнтки з постійною гіпоглікемією аналіз крові суттєво не змінився. За таких обставин ймовірні порушення в печінці. Про зміну якої функції печінки йдеться? Відповідь обґрунтуйте

**Завдання 2.** Хворий страждає від судом в м'язах, які виникають при напруженій фізичній роботі. Біопсія м'язової тканини виявила перевищення норми вмісту глікогену. Який з процесів обміну глікогену порушений у даного хворого? Як називається патологічний стан та чим він може бути спричинений?

**Завдання 3.** При тривалих фізичних навантаженнях запаси глікогену виснажуються не тільки в м'язах, які працюють, а й у тих, які не

працюють. У чому полягає механізм взаємозв'язку обміну глікогену в цих тканинах? Який орган опосередковує цей взаємозв'язок?

**3.3. Відповіді на тестові питання**

1. Анаеробне розщеплення глюкози до молочної кислоти регулюється відповідними ферментами. Вкажіть, який фермент є головним регулятором цього процесу?

- A. Глюкозил-6-фосфат ізомераза
- B. Фосфофруктокіназа
- C. Альдолаза
- D. Енолаза
- E. Лактатдегідрогеназа

2. Після тривалого фізичного навантаження під час заняття з фізичної культури у студентів розвинулась м'язова крепатура. Причиною її виникнення стало накопичення у скелетних м'язах молочної кислоти. Вона утворилась після активації в організмі студентів:

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

3. Під час бігу на короткі дистанції у нетренованої людини виникає м'язова гіпоксія. До накопичення якого метаболіту в м'язах це призводить?

- A. Ацетил-КоА
- B. Кетонівих тіл
- C. Лактату
- D. Глюкозо-6-фосфату
- E. Оксалоацетату

4. У крові дитини виявлено високий вміст галактози, концентрація глюкози понижена. Спостерігається катаракта, розумова відсталість, розвивається жирове переродження печінки. Яке захворювання має місце?

- A. Лактоземія
- B. Цукровий діабет
- C. Галактоземія

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.  
Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція*

---

- D. Стероїдний діабет
- E. Фруктоземія

5. Хворий страждає на цукровий діабет, що супроводжується гіперглікемією натще понад 7,2 ммоль/л. Рівень якого білка плазми крові дозволяє ретроспективно (за попередні 4-8 тижнів до обстеження) оцінити рівень глікемії

- A. Альбумін
- B. Фібріноген
- C. С-реактивний білок
- D. Глікозильований гемоглобін
- E. Церулоплазмін

6. В сечі хворого виявлено глюкозу, кетонові тіла. Вміст глюкози в крові 10,1 ммоль/л. Наявність якого захворювання можна припустити?

- A. Аглікогенозу
- B. Ниркової недостатності
- C. Цукрового діабету
- D. Мукополісахаридозу
- E. Глікогенозу

7. Хвора 58 років. Стан важкий, свідомість затьмарена, шкіра суха, очі запалі, ціаноз, запах гнилих яблук з рота. Результати аналізів: глюкоза крові 15,1 ммоль/л, в сечі 3,5 % глюкози. Причиною такого стану є:

- A. Анафілактичний шок
- B. Гіпоглікемічна кома
- C. Гіперглікемічна кома
- D. Уремічна кома
- E. Гіповолемічна кома

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

- A. Включається в глюконеогенез у печінці
- B. Використовується у м'язі для синтезу амінокислот
- C. Видаляється через нирки з сечею
- D. Використовується у тканинах для синтезу жирних кислот
- E. Використовується тканинами для синтезу кетонових тіл

9. В експерименті показано, що при саркомі Іенсена споживання глюкози з привідної до пухлини артерії значно збільшується, має місце також приріст вмісту молочної кислоти у відвідній вені. Про що свідчить дане явище?

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

10. Еритроцити людини не містять мітохондрій. Який основний шлях утворення АТФ в цих клітинах?

- A. Аденілаткіназна реакція
- B. Аеробний гліколіз
- C. Окиснювальне фосфорилування
- D. Креатинкіназна реакція
- E. Анаеробний гліколіз

11. Біосинтез пуринового кільця відбувається на рибозо-5-фосфаті шляхом поступового нарощення атомів азоту і вуглецю та замикання кілець. Джерелом рибозофосфату служить процес:

- A. Глюконеогенез
- B. Гліколіз
- C. Гліконеогенез
- D. Пентозофосфатний цикл
- E. Глікогеноліз

12. Хворому на інсулінозалежний цукровий діабет було введено інсулін. Через деякий час у хворого з'явилися слабкість, дратівливість, посилене потовиділення. Який основний патогенетичний механізм розвитку гіпоглікемічної коми, що розвинулась?

- A. Вуглеводне голодування головного мозку
- B. Посилення літогенезу
- C. Посилення глікогенолізу
- D. Зменшення глюконеогенезу
- E. Посилення ектогенезу

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

13. При споживанні свіжого молока у дитини спостерігаються розлади травного тракту, тоді як вживання інших вуглеводовмісних продуктів не викликає таких порушень. Генетично детермінована відсутність якого ензиму можна може бути причиною таких розладів?

- A. Фосфоглюкомутази
- B. Лактази
- C. Глікогенсинтетази
- D. Гексокінази
- E. Глюкозо-6-фосфатізомерази.

14. При цукровому діабеті та голодуванні підвищується вміст ацетонних тіл в крові, які використовуються як енергетичний матеріал. З якої речовини вони синтезуються?

- A. Ацетил-КоА
- B. Сукциніл-КоА
- C. Кетоглутарату
- D. Цитрату
- E. Малату

15. Гліколіз – це анаеробний шлях розпаду глюкози, що відбувається за допомогою низки послідовних реакцій. Вкажіть, яку реакцію гліколізу каталізує ензим фосфоглюкокіназа?

- A. Утворення діоксиацетонфосфату
- B. Утворення глюкозо-6-фосфату
- C. Утворення фруктозо-1,6-дифосфату
- D. Утворення фруктозо-1-фосфату
- E. Утворення 1,3-дифосфогліцерату

16. Внаслідок тривалого голодування в організмі людини швидко зникають резерви вуглеводів. Який з процесів метаболізму підтримує при цьому вміст глюкози в крові?

Because of prolonged starvation, the tissue carbohydrate stores are quickly exhausted and hypoglycemia ensues in a human body. Which of the following metabolic pathways can restore the level of glucose in blood?

- A. Glycogenolysis
- B. Anaerobic glycolysis
- C. Aerobic glycolysis
- D. Gluconeogenesis
- E. Pentose phosphate pathway.

17. Хворий з нейродермітом протягом тривалого часу живив преднізолон. При обстеженні в нього виявили підвищення рівня цукру в крові. Вплив препарату на яку ланку вуглеводного обміну призводить до виникнення цього ускладнення?

A patient ill with neurodermatitis has been taking prednisolone for a long time. Examination revealed high rate of sugar in his blood. This complication is caused by the drug influence upon the following link of carbohydrate metabolism:

- A. Activation of insulin decomposition
- B. Glycogenogenesis activation
- C. Intensification of glucose absorption in the bowels
- D. Inhibition of glycogen synthesis
- E. Gluconeogenesis activation

18. У хворого на цукровий діабет після введення інсуліну настала непритомність, спостерігаються судоми. Який результат біохімічного аналізу крові на вміст цукру?

A patient suffering from diabetes mellitus fainted after the introduction of insulin, then cramps appeared. What level of sugar was determined in the patient's blood by means of biochemical analysis?

- A. 1.5 mM/l
- B. 3.3 mM/L
- C. 8.0 mM/l
- D. 10.0 mM/l
- E. 5.5 mM/l

19. Дитина квола, апатична. Печінка збільшена, при її біопсії виявлено значний надлишок глікогену. Концентрація глюкози в крові нижче норми. У чому причина зниженої концентрації глюкози у крові цієї хворої?

A child is languid, apathetic. Liver is enlarged and liver biopsy revealed a significant excess of glycogen. Glucose concentration in the blood stream is below normal. What is the cause of low glucose concentration?

- A. Deficit of a gene that is responsible for synthesis of glucose 1-phosphate uridine transferase
- B. Low (absent) activity of hexokinase
- C. High activity of glycogen synthetase
- D. Low (absent) activity of glucose 6-phosphatase
- E. Low (absent) activity of glycogen phosphorylase in liver

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

20. У цитоплазмі міоцитів розчинена велика кількість метаболітів окиснення глюкози. Назвіть один з них, який безпосередньо перетворюється на лактат:

Myocyte cytoplasm contains a big number of dissolved metabolites of glucose oxidation. Name one of them that turns directly into a lactate:

- A. Glycerophosphate
- B. Oxaloacetate
- C. Pyruvate
- D. Glucose 6-phosphate
- E. Fructose 6-phosphate

21. У новонародженого спостерігається диспепсія після годування молоком. При заміні молока розчином глюкози симптоми диспепсії зникають. Недостатня активність якого ферменту спостерігається у новонародженого?

A newborn develops dyspepsia after the milk feeding. When the milk is substituted by the glucose solution the dyspepsia symptoms disappear. The newborn has the subnormal activity of the following enzyme:

- A. Amylase
- B. Sucrase
- C. Maltase
- D. Lactase
- E. Isomaltase

22. Хворого доставлено у медичний заклад у коматозному стані. Зі слів супроводжуючих вдалося з'ясувати, що він знепритомнів під час тренування на завершальному етапі марафонської дистанції. Який вид коми найімовірніше можна запідозрити у даного пацієнта?

A man who fainted while training at the final stage of the marathon distance was brought to a hospital in the comatose state. Define the type of coma that was diagnosed.

- A. Hepatic
- B. Hyperglycemic
- C. Acidotic
- D. Hypothyroidal
- E. Hypoglycemic



23. В крові пацієнта вміст глюкози натщесерце 5,6 ммоль/л, через 1 годину після цукрового навантаження - 13,8 ммоль/л, а через 3 години - 9,2 ммоль/л. Для якої патології характерні такі показники?

A patient has fasting plasma glucose level 5,6 mmol/l, one hour after glucose challenge it becomes 13,8 mmol/l, in 3 hours it is 9,2 mmol/l. Such parameters are characteristic of:

- A. Cushing's disease
- B. Healthy person
- C. Thyrotoxicosis
- D. Subclinical diabetes mellitus
- E. Acromegalia

24. У 3 річної дитини з підвищеною температурою тіла після прийому аспірину спостерігається посилений гемоліз еритроцитів. Вроджена недостатність якого ферменту могла викликати у дитини гемолітичну анемію?

A 3 year old child with fever was given aspirin. It resulted in intensified erythrocyte haemolysis. Hemolytic anemia might have been caused by congenital insufficiency of the following enzyme:

- A. Glycogen phosphorylase
- B. Glucose 6-phosphatase
- C. Glucose 6-phosphate dehydrogenase
- D. Glycerol phosphate dehydrogenase
- E.  $\gamma$ -glutamyltransferase.

25. Під час бігу на коротку дистанцію у нетренованих людей спостерігається м'язова крепатура внаслідок накопичення лактату. Вкажіть, з посиленням якого біохімічного процесу це може бути пов'язано.

Untrained people often have muscle pain after sprints as a result of lactate accumulation. This might be caused by intensification of the following biochemical process:

- A. Pentose phosphate pathway
- B. Gluconeogenesis
- C. Glycolysis
- D. Lipogenesis
- E. Glycogenesis.

## Практичне заняття № 9

### ТЕМА: ПЕРЕТРАВЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ. ЛІПОПРОТЕЇНИ ПЛАЗМИ КРОВІ. ОБМІН ПРОСТИХ ЛІПІДІВ ТА КЕТОНОВИХ ТІЛ

**Навчальна мета:** трактувати хімічну будову, класифікацію, біологічні функції простих та складних ліпідів; пояснювати біохімічні основи перетравлення ліпідів та функцію жовчних кислот у механізмі перетравлення та всмоктування ліпідів у шлунково-кишковому тракті; засвоїти класифікацію, склад, функцію ліпопротеїнів плазми крові та методи їх дослідження; засвоїти біохімічні закономірності внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів.

**Знати:** основні шляхи внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів, ферментативні реакції катаболізму та біосинтезу триацилгліцеролів, основні шляхи метаболізму ліпідів за умов нормального функціонування людського організму та при патології, окиснення жирних кислот ( $\beta$ -окислення), біохімічні основи виникнення та розвитку порушень обміну ліпідів

**Вміти:** трактувати біохімічні функції простих і складних ліпідів в організмі: участь в побудові та функціонуванні біологічних мембран клітин, запасна, енергетична функції, використання в якості попередників у біосинтезі біологічно активних сполук ліпідної природи, трактувати біохімічні закономірності метаболізму жирних кислот, пояснювати гормональну регуляцію обміну ліпідів.

Таблиця 1

#### План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття

Основні напрямки теми	Зміст та послідовність розгляду питань	
Опанування теоретичних питань	Джерело	
1. Шляхи метаболізму ліпідів	1.1.Травлення нейтральних жирів (ліполіз) 1.2. Етапи травлення, всмоктування та транспорту ТАГ	[1]159–190, [2]190–200, [3]282–300 [5] – №8.

	1.3. Ресинтез специфічних жирів у стінці кишечника	
2. Окиснення жирних кислот.	2.1. Окиснення жирних кислот ( $\beta$ -окиснення): а) активація жирних кислот; б) роль карнітину в транспорті жирних кислот в мітохондрії; в) послідовність ферментативних реакцій. 2.2. Енергетика $\beta$ -окислення жирних кислот. 2.3. Окиснення гліцеролу.	[1]159–190, [2]190–200, [3]282–300 [5] – №8.
3. Обмін кетонівих тіл.	3.1. Кетонові тіла. Реакції біосинтезу та утилізації кетонових тіл, їх фізіологічне значення. 3.2. Метаболізм кетонових тіл за умов патології. Механізми надмірного зростання вмісту кетонових тіл при цукровому діабеті та голодуванні. 3.3. Наслідки кетозу.	[1]159–190, [2]190–200, [3]282–300 [5] – №8.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне значення визначення кетонових тіл в сечі та жовчних кислот.	1.1. Якісна реакція на жовчні кислоти (реакція Петенкофера). 1.2. Визначення кетонових тіл в сечі.	

## I. Короткі теоретичні відомості

### 1. Шляхи метаболізму ліпідів

Триацилгліцероли (нейтральні жири, жири) потрапляють до організму людини як компоненти тваринної і рослинної їжі. Ліпіди цього класу на першому етапі розщеплюються в травному каналі до моногліцеридів, вільних жирних кислот та гліцеролу.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

Після перетравлення в травному каналі та всмоктування ентероцитами кишечника ліпіди та продукти їх гідролізу транспортуються кров'ю до різних органів і тканин, де депонуються, утворюючи жирові резерви, які використовуються відповідно до фізіологічних потреб організму.

Внутрішньоклітинний метаболізм ліпідів це – сукупність біохімічних ферментативних реакцій катаболізму й анаболізму різних класів ліпідів, що надходять в організм людини як компоненти харчових продуктів та синтезуються в ньому, виконуючи:

- важливі енергетичні функції,
- виступаючи структурними компонентами клітин і біологічно активними сполуками тощо.

Основні шляхи *внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів*:

- гідроліз нейтральних жирів до моногліцеридів, жирних кислот та гліцеролу (ліполіз);
- окислення та біосинтез жирних кислот;
- біосинтез триацилгліцеролів та складних ліпідів;
- біосинтез холестерину та його перетворення в біологічно активні стероїди.

### **1.1. Травлення нейтральних жирів (ліполіз)**

*Травлення нейтральних жирів* (ліполіз) – це поступовий гідроліз триацилгліцеридів за допомогою панкреатичної ліпази.

Умови травлення:

- наявність амфифільних жовчних кислот;
  - попередньо емульгований жир;
  - активна *панкреатична ліпаза* (рН 7,5 - 8);
  - *панкреатичний білок коліпаза*;

Жовчні кислоти (*холева, хенодезоксихолева, дезоксихолева та таурохолева*) синтезуються у печінці з холестерину, кон'югують с *гліцином* або *таурином* із утворенням кон'югатів (парних жовчних кислот), котрі у складі жовчі потрапляють в жовчний міхур, а далі у дванадцятипалу і тонку кишку.

**Функції жовчних кислот:**

- емульгують жири;
- активують ліпазу;
- приймають участь у всмоктуванні продуктів ліполізу.

### **1.2. Етапи травлення, всмоктування та транспорту ТАГ.**

- Солі жовчних кислот емульгують харчові жири у тонкому кишечнику з утворенням змішаних міцел.

- Панкреатична ліпаза (та коліпаза) розщеплює харчові ТАГ до ВЖК і МАГ (гідроліз до гліцерину відбувається у незначній мірі).

- ВЖК і МАГ всмоктуються у стінку кишечника у вигляді міцел із амфифільними жовчаними кислотами, фосфоліпідами та холестериним.

- У епітелії слизової оболонці кишечника міцела розпадається, а із МАГ і частини жирних кислот відбувається ресинтез специфічних для людини ТАГ.

- 90% жовчних кислот, що вивільняються, всмоктуються з кишечника у кров, надалі поступають до печінки, де знов використовуються для утворення жовчі (*ентерогепатична циркуляція* – 7...8 обертів на добу).

- У епітелії слизової оболонки кишечника новоутворені ТАГ, а також фосфоліпіди, холестерин і апопротеїни «упаковуються» в хіломікрони – ліпопротеїни, що транспортують екзогенні жири з кишечника до тканин.

- Хіломікрони переносять ТАГ по лімфатичним судинам і крові до тканин і органів (жирової тканини, скелетних м'язів, міокарда тощо).

- *Ліпопротеїнліпаза*, що активується апоС II, розщеплює на поверхні ендотелію капілярів жирової тканини ТАГ, що містяться у хіломікронах, на ВЖК і гліцерин.

- Частина ВЖК надходить до клітин жирової тканини, міокарда, скелетних м'язів, молочних залоз.

- ВЖК у клітинах, наприклад, *міоцитах*, окиснюються до кінцевих продуктів з утворенням АТФ або, як у *адипоцитах*, запасуються завдяки включенню у синтез ТАГ.

- Частина ВЖК надходить до крові, зв'язується з альбумінами та транспортується у такому вигляді

### **1.3. Ресинтез специфічних жирів у стінці кишечника**

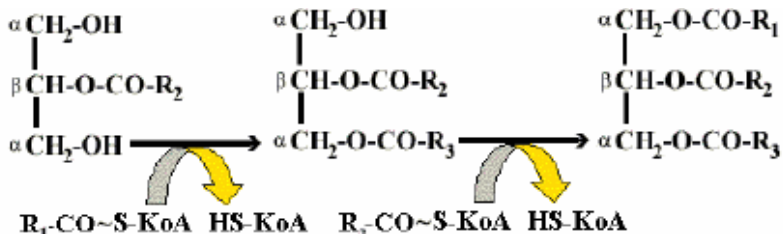
Як було зазначено (пп. 3 і 4) МАГ, які надійшли у стінку кишечника, можуть перетворюватися двома шляхами:

- *ліполіз* до гліцерину та ВЖК (загальну схему ми вже розглянули);

- *ресинтез* власних специфічних ТАГ за участю 2 молекул ацил-КоА:

Останній процес відбувається за загальною схемою з а участі ацил ( $R_1CO-$  і  $R_2CO-$ )-S-КоА з вивільненням HS-КоА:

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**



**2. Окиснення жирних кислот (β-окиснення):**

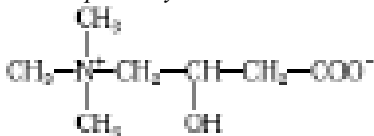
Окиснення вищих жирних кислот відбувається в матриксі мітохондрій у результаті циклічного процесу, який включає в себе послідовне відщеплення від довголанцюгових молекул насичених жирних кислот, що складаються з парної кількості вуглецевих атомів (пальмітинової – C<sub>16</sub>, стеаринової – C<sub>18</sub> тощо), двокарбонних фрагментів – циклу β-окиснення. Процес починається з активації молекули ВЖК.

**2.1. Активація ВЖК** у цитозолі клітин відбувається за схемою:



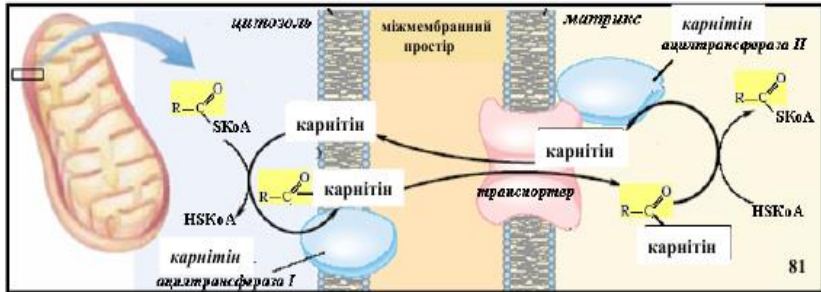
Наприклад, при активації пальмітинової кислоти (C<sub>17</sub>H<sub>35</sub>COOH) утворюється пальмітоїл-S-CoA (C<sub>17</sub>H<sub>35</sub>CO-S-CoA). Для подальшого перетворення його потрібно перенести в матрикс мітохондрій

**2.2. Перенесення ацил-CoA** із цитозоля в матрикс мітохондрій за допомогою карнітину:



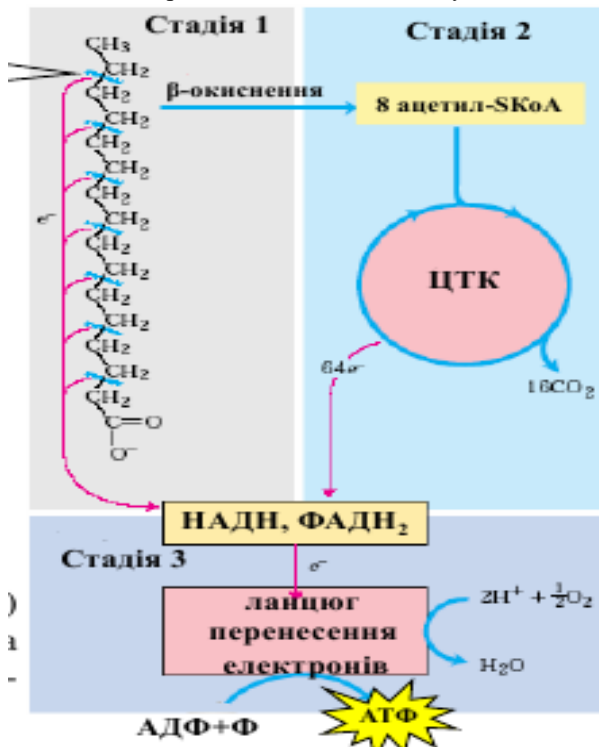
**карнітин**

Окиснення ВЖК відбувається у мітохондріях, але внутрішня мембрана мітохондрій непроникна для ацил-CoA, тому ацил переноситься карнітином, котрий працює за човниковим принципом згідно наведеної нижче схеми.



### 2.3. $\beta$ -окиснення вищих жирних кислот

Мітохондріальне окиснення вищих жирних кислот (ВЖК) відбувається з відщепленням двокарбонового фрагменту у вигляді *ацетил-S-CoA*, починаючи від карбоксильного кінця ацилу, що окиснюється.

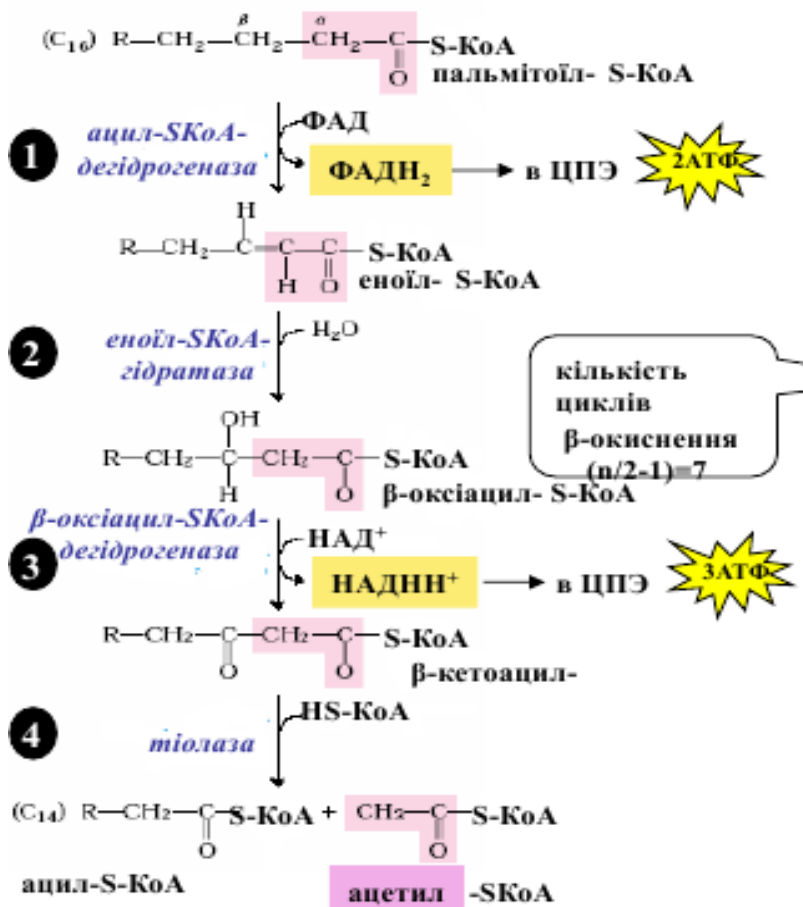


**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

Наприклад, при окисненні пальмітинової кислоти (n=16) утворюється n/2=8 молекул ацетил-S-CoA, які включаються у другу стадію окиснення ВЖК – цикл Кребса. На цій стадії ацетильні групи окиснюються до CO<sub>2</sub> і постачають атом Гідрогену у дихальний ланцюг.

Ці чотири послідовні реакції (цикл β-окиснення) повторюються стільки разів, поки вся жирна кислота з парною кількістю атомів Карбону (n), не перетвориться в n/2 молекул ацетил-S-CoA:

**7 циклів β-окиснення C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>-CO-S-CoA → 8 CH<sub>3</sub>-CO-S-CoA**

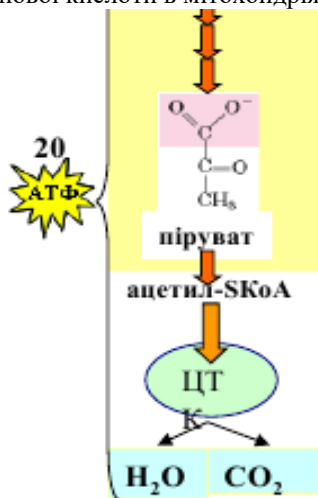
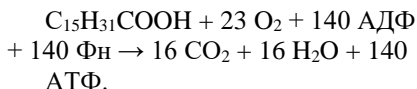




### 2.4. Енергетика окиснення ВЖК.

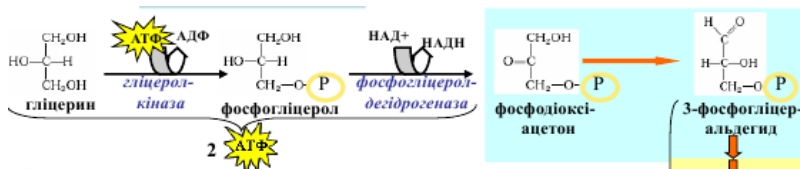
У заключній стадії атоми Гідрогену від НАДН<sub>2</sub> і ФАДН<sub>2</sub> надходять у дихальний ланцюг і відновлюють кисень з утворенням води (жири – джерела ендогенної води). Енергія окиснення ВЖК конвертується у молекули АТФ. При окисненні 8 молекул ацетил-КоА утворюється **8x12=96** молекул АТФ. Відбувається **7 циклів** окиснення пальмітинової кислоти. В кожному з них утворюються по 5 молекул АТФ за рахунок окиснення НАДН і ФАДН<sub>2</sub>), тобто 7x5=35 молекул АТФ. Сумарно: **141-1\* = 140 АТФ**. (\* 1 молекула АТФ витрачена на активацію ВЖК).

На підставі цього, можна подати сумарне рівняння окиснення пальмітинової кислоти в мітохондріях:



### 3. Окиснення гліцерину

Гліцерин активується шляхом фосфорилювання (витрачається 1 АТФ). Фосфогліцерол, що утворився, далі дегідується з утворенням НАДН, котрий окиснюється у мітохондріальному дихальному ланцюзі. Окиснення НАДН поєднано з синтезом 3 АТФ.



Фосфодіоксацетон, метаболіт гліколізу, перетворюється у гліцера-льдегід-3-фосфат (Г-3-Ф), який є одним з центральних метаболітів гліколітичного окислення глюкози., що окиснюється у другій стадії гліколізу до пірувату за схемою:

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
 ліпідів та його регуляція**

---

$\Gamma$ -3-Ф  $\rightarrow$  1,3-диФГ  $\rightarrow$  3-ФГ  $\rightarrow$  2-ФГ  $\rightarrow$  ФЕП  $\rightarrow$  піруват.

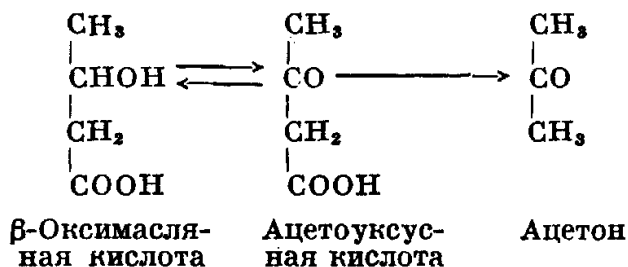
На даному етапі утворюється 3 АТФ за рахунок окисного фосфорилування і 2 АТФ – шляхом субстратного фосфорилування.

Надалі в аеробних умовах піруват окиснюється до ацетил-КоА з утворенням 3 АТФ. Ацетил-КоА «згорає» в ЦТК до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$  з утворенням 12 АТФ.

Таким чином, при окисненні гліцерину до кінцевих продуктів утворюється 22 АТФ.

### 3. Кетонові тіла.

**Кетонові тіла** (синонім: *ацетонові тіла, ацетон* [розповсюджений медичний жаргонізм]) – група продуктів обміну речовин, які утворюються в печінці з ацетил-КоА. До кетонових тіл належать ацетоацетат,  $\beta$ -гідроксибутират та ацетон.



або  $\beta$ -Гідроксибутират    Ацетоацетат    Ацетон

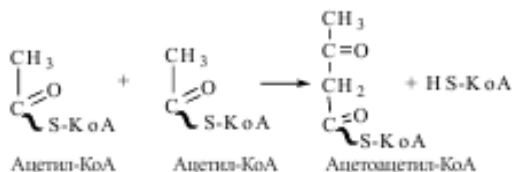
У плазмі крові здорової людини кетонові тіла містяться в досить незначних концентраціях. Однак при патологічних станах (довготривале голодування, важке фізичне навантаження, важка форма цукрового діабету) концентрація кетонових тіл може значно підвищуватися й досягати 20 ммоль/л (*кетонемія*).

*Кетонемія, ацетонемія* (підвищення концентрації кетонових тіл у крові) виникає при порушенні рівноваги – швидкість синтезу кетонових тіл перевищує швидкість їхньої утилізації периферичними тканинами організму.

#### 3.1. Ферментні реакції утворення кетонових тіл

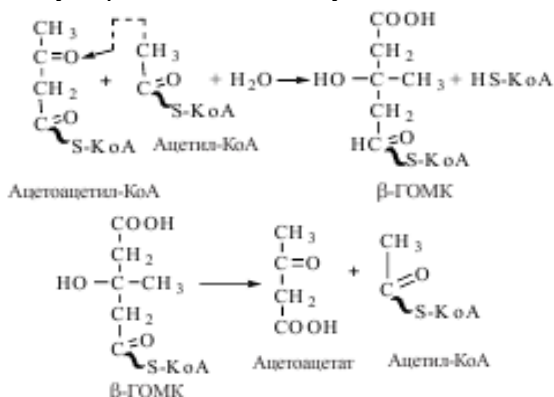
Утворення кетонових тіл відбувається в цитозолі (початкові етапи) та мітохондріях гепатоцитів за рахунок таких реакцій:

1. Конденсація двох молекул ацетил-КоА з утворенням ацетоацетил-КоА. Реакція каталізується цитозольним ферментом *тіолазою*.

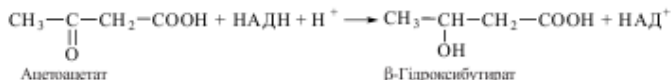


2. Взаємодія ацетоацетил-КоА з новою молекулою ацетил-КоА з утворенням  $\beta$ -гідрокси- $\beta$ -метил-глутарил-КоА ( $\beta$ -ГОМК). При утворенні кетонних тіл реакція відбувається в мітохондріях і каталізується ферментом  *$\beta$ -ГОМК-синтетазою*.

3. Розщеплення  $\beta$ -гідрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА мітохондріальним ферментом  *$\beta$ -ГОМК-ліазою* з утворенням ацетоацетату та ацетил-КоА.



В подальшому  $\beta$ -Гідроксибутират утворюється з ацетоацетату шляхом відновлення *НАД-залежною  $\beta$ -гідроксибутиратдегідрогеназою*:



*Ацетон* утворюється в незначній кількості з ацетоацетату, що міститься в циркулюючій крові, за рахунок його неферментативного декарбоксілювання або дії ферменту *ацетоацетатдекарбоксілази*.





### 3.4. Метаболізм кетонівих тіл в умовах патології

У нормі концентрація кетонівих тіл у крові та більшості тканин незначна (в середньому 10...20 мг/л).

Проте, за умов голодування та цукрового діабету створюються метаболічні умови, за яких кількість кетонівих тіл у тканинах різко підвищується за рахунок значної активації їх синтезу. При цьому значно зростають як концентрація кетонівих тіл у крові (*кетонемія*), так і їх виділення з сечею (*кетонурія*).

Біохімічною основою зростання вмісту кетонівих тіл в умовах патології є зменшення ступеня утилізації ацетил-КоА в ЦТК внаслідок порушень вуглеводного обміну.

Справа в тому, що входження ацетил-КоА в ЦТК залежить від наявності в клітині достатньої кількості оксалоацетату, необхідного для утворення цитрату.

В свою чергу, утворення оксалоацетату, необхідного для нормального функціонування трикарбонного циклу, залежить від кількості пірувату, основним постачальником якого є гліколітичне розщеплення глюкози. В умовах зменшеного надходження в клітину глюкози (голодування, цукровий діабет) оксалоацетат спрямовується на шлях

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

глюконеогенезу і стає недосяжним для взаємодії з ацетил-КоА в цитратсинтазній реакції. У зазначених метаболічних умовах ацетил-КоА в значній мірі використовується для утворення кетонових тіл – ацетоацетату та  $\beta$ -гідроксибутирату. Сприяє накопиченню в клітинах ацетил-КоА також його підвищене утворення при  $\beta$ -окисленні жирних кислот за рахунок стимуляції в умовах глюкозного голодування ліполізу в жировій тканині. Ці біохімічні закономірності пояснюють давній вислів «Жири згоряють у полум'ї вуглеводів».

## **II. Практична частина**

### **Алгоритм лабораторної роботи № 1**

#### **Якісна реакція на жовчні кислоти (реакція Петенкофера).**

**Принцип методу.** Реакція базується на утворенні забарвлених продуктів конденсації у разі взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом. Останній утворюється з фруктози, що є продуктом гідролізу внаслідок додавання до сахарози концентрованої сульфатної кислоти.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, жовч, 20% розчин сахарози, концентрована сульфатна кислота.

**Порядок виконання роботи.** У пробірку наливають 10 крапель жовчі, додають 10 крапель свіжоприготовленого розчину сахарози і обов'язково струшують. На розчин, що містить жовч, обережно, по стінках, нашаровують приблизно 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Через 5...10 хв на межі розподілу рідин утворюється осад жовчних кислот і з'являється червоно-фіолетове кільце. У разі легкого струшування рідина набуває вишнево-червоного забарвлення.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** Головним емульгатором ліпідів є жовч, яка містить жовчні кислоти, що утворюються в печінці (10...15 г за добу). До них належать: холева, дезоксихолева, хенодезоксихолева, літохолева та інші, які виділяються з жовчу у вільному стані, у вигляді солей та парних жовчних кислот, які зв'язані з гліцином або з таурином. Жовчні кислоти емульгують ліпіди, активують панкреатичну ліпазу, беруть активну участь у процесі всмоктування жирних кислот, утворюють холеїнові комплекси, стабілізують холестерол. Дефіцит жовчі в кишківнику може бути пов'язаний із порушенням її синтезу і виведення, тобто захворюваннями печінки (механічна жовтяниця, гепатити, цироз), жовчного міхура або жовчних шляхів

(жовчокам'яна хвороба, пухлини жовчовивідних шляхів). При копрологічних дослідженнях спостерігають зменшення або відсутність у калі жовчних пігментів (ахолічний кал) та високий вміст мил, особливо кальцієвих.

#### **Алгоритм лабораторної роботи № 2**

**Виявлення ацетону (кетонівих тіл) в сечі (реакціями з нітропрусидом натрію).**

**Принцип методу.** Ацетон та ацетооцтова кислота при взаємодії з нітропрусидом натрію ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6\text{NO}]$ ) в лужному середовищі утворюють продукти реакції оранжевого кольору. При підкисленні льодяною (100%) оцтовою кислотою ці продукти набувають вишневого кольору.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, водяна баня, термометр, досліджувана сеча, 10% розчин лугу (NaOH), 0,5% розчин нітропрусиду натрію, льодяна оцтова кислота.

**Порядок виконання роботи.** В центрифужну пробірку наливають 0,5 мл досліджуваної сечі, потім 0,5 мл 10% розчину лугу (NaOH) та 0,5 мл розчину нітропрусиду натрію. При перемішуванні розвивається оранжеве забарвлення. Додавання 0,5 мл льодяної оцтової кислоти викликає вишневе забарвлення.

В крові концентрація кетонівих тіл дорівнює 0,034...0,043 ммоль/л (1...2 мг%).

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** В нормі в сечі кетоніві тіла не виявляються. Вони з'являються при цукровому та стероїдному діабеті, при голодуванні, при нестачі вуглеводів в харчуванні.

### **III. Питання для самопідготовки**

#### **3.1. Розкрити питання**

1. Розкрити хімічну будову, класифікацію, біологічні функції простих та складних ліпідів.
2. Пояснити біохімічні основи перетравлення ліпідів та функцію жовчних кислот у механізмі перетравлення та всмоктування ліпідів у шлунково-кишковому тракті.
3. Класифікація, склад, функцію ліпопротеїнів плазми крові та методи їх дослідження.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

4. Основні шляхи та біохімічні закономірності внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів, ферментативні реакції катаболізму та біосинтезу триацилгліцеролів.

5. Основні шляхи метаболізму ліпідів за умов нормального функціонування людського організму та при патології.

6. Пояснити гормональну регуляцію обміну ліпідів.

7. В чому полягає принцип методу та клініко-діагностичне значення виявлення ацетону (кетонівих тіл) в сечі.

### **3.2. Розв'язати ситуаційні завдання**

**Завдання 1.** У спортсмена при бігу на довгу дистанцію в тканинах відбувається перемикання з вуглеводного обміну на ліпідний. У скільки разів підвищиться вихід АТФ при окисненні 1 молекули трипальмітину в порівнянні з 1 молекулою глюкози?

**Завдання 2.** У дітей нормальний рівень кетонівих тіл в крові і головному мозку вдвічі вищий, ніж у дорослих, що проявляється частим ацетонемічним блюванням. Поясніть це явище.

**Завдання 3.** У хворих, що страждають важкою формою діабету і не одержують інсулін, спостерігається метаболічний ацидоз. Підвищення концентрації яких метаболітів це зумовлює?

### **3.3. Відповісти на тестові питання**

1. Серед антиатеросклеротичних препаратів, що застосовуються з метою профілактики та лікування атеросклерозу, є левостатин. Він діє шляхом:

- A. Гальмування біосинтезу холестерину
- B. Пригнічене всмоктування холестерину в кишківнику
- C. Активації метаболізму холестерину
- D. Стимулювання екскреції холестерину з організму
- E. Усіма наведеними шляхами

2. У хворого хлопчика 12-ти років вміст холестерину в сироватці крові до 25 ммоль/л. В анамнезі – спадкова сімейна гіперхолестеринемія, причиною якої є порушення синтезу білків-рецепторів до:

- A. Ліпопротеїнів низької щільності
- B. Ліпопротеїнів високої щільності
- C. Хіломікронів
- D. Ліпопротеїнів дуже низької щільності
- E. Ліпопротеїнів проміжної щільності



3. До біорегуляторів клітинних функцій ліпідної природи належать тромбоксани. Джерелом для синтезу цих сполук є:

- A. Арахідонова кислота
- B. Стеаринова кислота
- C. Пальмітинова кислота
- D. Фосфатидна кислота
- E. Пальмітоолеїнова кислота

4. У чоловіка 35 років феохромоцитом. В крові виявляється підвищений рівень адреналіну та норадреналіну, концентрація вільних жирних кислот зростає в 11 разів. Вкажіть, активація якого ферменту під впливом адреналіну підвищує ліполіз?

- A. ТАГ-ліпази
- B. Ліпопротеїдліпази
- C. Фосфоліпази A2
- D. Фосфоліпази C
- E. Холестеролестерази

5. Для профілактики атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, порушень мозкового кровообігу рекомендується споживання жирів із високим вмістом поліненасичених жирних кислот. Однією з таких жирних кислот є:

- A. Лінолева
- B. Олеїнова
- C. Лауринова
- D. Пальмітоолеїнова
- E. Стеаринова

6. Хворому з метою попередження жирової дистрофії печінки лікар призначив ліпотропний препарат – донор метильних груп. Це імовірно:

- A. S-Аденозилметіонін
- B. Холестерин
- C. Білірубін
- D. Валін
- E. Глюкоза

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

7. Молода людина 25-ти років споживає надмірну кількість вуглеводів (600 г на добу), що перевищує її енергетичні потреби. Який процес буде активуватися в організмі людини у даному випадку?

- A. Ліпогенез
- B. Гліколіз
- C. Ліполіз
- D. Глюконеогенез
- E. Окиснення жирних кислот

8. Сфінголіпіди – це складні ліпіди, що є естерами багатоатомного спирту сфінгозину та ВЖК. Також в їх складі є залишки холіну і фосфатної кислоти. Сфінголіпіди присутні в організмі людини переважно у складі:

- A. Печінки
- B. Скелетних м'язів
- C. Сполучної тканини
- D. Нервової тканини
- E. Плазми крові

9. Чоловік 42 років страждає ревматоїдним артритом. До комплексу призначених йому лікувальних препаратів включений аспірин – інгібітор простагландинсинтетази. З якої кислоти утворюються простагландини?

- A. Арахідонової
- B. Нейрамінової
- C. Ліноленової
- D. Лінолевої
- E. Пропіонової

10. Хворий після прийому жирної їжі відчуває нудоту, млявість, з часом з'явилися ознаки стеатореї. Вміст холестерину в крові 9,4 ммоль/л. Причиною такого стану є дефіцит:

- A. Жирних кислот
- B. Жовчних кислот
- C. Триацилгліцеролів
- D. Фосфогліцероліпідів
- E. Хіломікронів

11. У хворої на жовчнокам'яну хворобу має місце стеаторея – наявність крапель жиру в калових масах. Причиною порушення гідролізу жирів в кишечнику є дефіцит:

- A. Жирних кислот
- B. Жовчних кислот
- C. Гліцеролу
- D. Нейтральних жирів
- E. Фосфоліпідів

12. В лікарню поступила людина, що довгий час знаходилась у стресовому стані. Рівень жирних кислот в крові значно перевищує норму, що ймовірно обумовлене підвищенням активності:

- A. Панкреатичної тригліцеридліпази
- B. Тканинної тригліцеридліпази
- C. Ліпопротеїнліпази
- D. Ацетил-КоА-карбоксилази
- E. Фосфоліпази А2

13. При постійному фізичному навантаженні вміст жиру в жирових депо зменшується. Жир виходить в кров у формі:

- A. Вільних жирних кислот і гліцеролу
- B. Хіломікронів
- C. Ліпопротеїнів
- D. Кетонових тіл
- E. Глюкози

14. Пацієнту похилого віку з метою попередження розвитку жирової інфільтрації печінки рекомендовано вживати в їжу сир. Яка незамінна амінокислота, що необхідна для синтезу фосфоліпідів, є у цьому продукті?

- A. Валін
- B. Аргінін
- C. Лізин
- D. Метіонін
- E. Пролін

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

15. При цукровому діабеті та голодуванні в крові підвищується вміст ацетонових тіл, які використовуються як енергетичний матеріал. З якої речовини вони синтезуються?

- A. Малату
- B. Цитрату
- C. Сукциніл-КоА
- D.  $\alpha$ -Кетоглутарату
- E. Ацетил-КоА

16. Дефіцит якого ензиму найчастіше є причиною неповного перетравлення жирів у травній системі та підвищення вмісту нейтрального жиру в калі?

- A. Ентерокинази
- B. Кишкової ліпази
- C. Фосфоліпази
- D. Панкреатичної ліпази
- E. Шлункової ліпази

17. У хворого через наявність каменя у загальній жовчній протоці припинилося надходження жовчі у кишку. Порушення якого процесу спостерігається при цьому?

- A. Всмокткування вуглеводів
- B. Перетравлювання білків
- C. Перетравлювання вуглеводів
- D. Всмокткування білків
- E. Перетравлювання жирів

18. Хворий після вживання жирної їжі відчуває нудоту, млявість, з часом з'явилися ознаки стеатореї. У крові вміст холестерину – 9,2 ммоль/л. Причиною такого стану є нестача у кишечнику:

After intake of rich food a patient feels nausea and sluggishness: with time there appeared signs of steatorrhea. Blood cholesterol concentration is 9,2 mmol/l. This condition was caused by lack of:

- A. Chylomicrones
- B. Triglycerides
- C. Fatty acids
- D. Phospholipids
- E. Bile acids

19. Чоловік 70-ти років хворіє на атеросклероз судин нижніх кінцівок та ішемічну хворобу серця. Під час обстеження виявлено порушення ліпідного складу крові. Надлишок яких ліпопротеїнів є головною ланкою в патогенезі атеросклерозу?

A 70 year old man is ill with vascular atherosclerosis of lower extremities and coronary heart disease. Examination revealed disturbance of lipid blood composition. The main factor of atherosclerosis pathogenesis is the excess of the following lipoproteins:

- A. Chylomicrons
- B. Cholesterol
- C. High-density lipoproteins
- D. Intermediate density lipoproteins
- E. Low-density lipoproteins

20. У хворого на хронічний гепатит виявлено значне зниження синтезу і секреції жовчних кислот. Який процес у найбільшій мірі буде порушений у кишечнику цього хворого?

Examination of a patient suffering from chronic hepatitis revealed a significant decrease in the synthesis and secretion of bile acids. What process will be mainly disturbed in the patient's bowels?

- A. Fat emulsification
- B. Protein digestion
- C. Carbohydrate digestion
- D. Glycerin absorption
- E. Amino acid absorption

21. При копрологічному дослідженні встановлено, що кал знебарвлений, у ньому знайдено краплі нейтрального жиру. Найбільш вірогідною причиною цього є порушення:

A coprological survey revealed light-colored feces containing drops of neutral fat. The most likely reason for this condition is the disorder of:

- A. Gastric juice acidity
- B. Pancreatic juice secretion
- C. Intestinal juice secretion
- D. Bile inflow into the bowel
- E. Intestinal absorption

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

22. У чоловіка 35-ти років феохромоцитома. В крові виявляється підвищений рівень адреналіну та норадреналіну, концентрація вільних жирних кислот зросла в 11 разів. Активація якого ферменту під впливом адреналіну підвищує ліполіз?

A 35-year-old man with pheochromocytoma has high levels of epinephrine and norepinephrine registered in the blood. The concentration of free fatty acids is increased by a factor of eleven. Which of the following enzymes accelerates the lipolysis under the action of epinephrine?

- A. Phospholipase A2
- B. Lipoprotein lipase
- C. Triacylglycerol lipase
- D. Phospholipase C
- E. Cholesterol esterase

23. До клініки потрапила дитина 1-го року з ознаками ураження м'язів кінцівок та тулуба. Після обстеження виявлений дефіцит карнітину в м'язах. Біохімічною основою цієї патології є порушення процесу:

A 1-year-old baby has been hospitalized with symptoms of body and limbs lesions. Examination revealed carnitine deficiency in the child's muscles. A biochemical reason for this pathology is the disorder of:

- A. Transport of fatty acids to mitochondria
- B. Regulation of  $Ca^{2+}$  level in mitochondria
- C. Substrate-linked phosphorylation
- D. Utilization of lactic acid
- E. Oxidative phosphorylation

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

Because of present gallstone in the common bile duct, a patient has no bile excretion into duodenum. What disorder can it cause?

- A. Lipids digestion
- B. Proteins digestion
- C. Carbohydrates digestion
- D. Proteins absorption
- E. Carbohydrates absorption

25. Підвищення вмісту ЛПВЩ призводить до зниження ризику захворювання на атеросклероз. Який механізм антиатерогенної дії ЛПВЩ?

Increased HDL levels decrease the risk of atherosclerosis. What is the mechanism of HDL anti-atherogenic action?

- A. They promote absorption of cholesterol in the intestine
- B. They supply tissues with cholesterol
- C. They are involved in the breakdown of cholesterol
- D. They activate the conversion of cholesterol to bile acids
- E. They remove cholesterol from tissues

## Практичне заняття № 10

### **ТЕМА: ОБМІН СКЛАДНИХ ЛІПІДІВ: ГЛІЦЕРОФОСФОЛІПІДІВ ТА СТЕРОЇДІВ. РЕГУЛЯЦІЯ ТА ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ЛІПІДІВ**

**Навчальна мета:** вивчити основні шляхи метаболізму і біотрансформації холестеролу, що необхідні для глибокого аналізу різних форм патології ліпідного обміну, які складають молекулярну основу найбільш розповсюджених захворювань людства.

**Знати:** основні методи дослідження показників ліпідного обміну, що є необхідним для діагностики та лікування різних захворювань, біохімічні основи виникнення та розвитку генетичних аномалій обміну ліпідів, ліпопротеїнів, холестеролу (ліпопротеїнемії), а також набуті порушення обміну ліпідів: атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет.

**Вміти:** трактувати біохімічні закономірності регуляції біосинтезу холестеролу та його біотрансформації: етерифікація, утворення жовчних кислот, стероїдних гормонів, вітаміну D<sub>3</sub>, аналізувати зміни в системі циркуляторних транспортних ліпідів при патології обміну ліпідів (атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет), пояснювати біохімічні основи розвитку патології обміну ліпідів: генетичних та набутих (атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет).

Таблиця 1

#### **План самостійної роботи студента з навчально-методичною літературою при підготовці до заняття**

<b>Основні напрямки теми</b>	<b>Зміст та послідовність розгляду питань</b>	
<b>Опанування теоретичних питань</b>	<b>Джерело</b>	
1. Метаболізм складних ліпідів	1.1. Дія фосфоліпаз, що гідролізують естерні зв'язки у молекулах гліцерофосфоліпідів. 1.2. Метаболізм продуктів фосфоліполізу.	[1]159–190, [2]217–230, [3]293–316 [5] – №8.
2. Біосинтез холестеролу.	2.1. Біологічна роль холестеролу. 2.2. Циркуляторний транспорт холестеролу. Норма вмісту	[1]159–190, [2]217–230, [3]293–316 [5] – №8.



	<p>холестеролу в сироватці крові. Транспорт холестеролу, зміни в системі ліпопротеїнів при патології, їх функціональне значення.</p> <p>2.3. Схема реакцій синтезу холестеролу. Ключова реакція біосинтезу.</p> <p>2.4. Регуляція синтезу холестеролу.</p>	
3. Шляхи біотрансформації холестеролу.	<p>3.1. Механізм етерифікації холестеролу.</p> <p>3.2. Біосинтез жовчних кислот із холестеролу.</p> <p>3.3. Біосинтез стероїдних гормонів із холестеролу.</p> <p>3.4. Утворення вітаміну D<sub>3</sub> із холестеролу.</p>	[1]159–190, [2]217–230, [3]293–316 [5] – №8.
4. Патологія ліпідного обміну.	<p>4.1. Механізми розвитку атеросклерозу.</p> <p>4.2. Механізми розвитку ожиріння.</p> <p>4.3. Порушення ліпідного обміну при цукрово-му діабеті (макроангіопатії, кетоз), механізми їх розвитку.</p> <p>4.4. Стеаторея, механізм розвитку.</p>	[1]159–190, [2]217–230, [3]293–316 [5] – №8.
<b>Набуття практичних знань та експериментальних навичок</b>		
<b>Зміст лабораторних досліджень</b>	<b>Порядок навчальних дій</b>	
1. Практичне вивчення фізико-хімічних властивостей ліпідів та визначення	<p>1.1. Вивчення фізико-хімічних властивостей ліпідів</p> <p>1.1.1. Виявлення ненасиченості ліпідів.</p> <p>1.1.2. Утворення вільних жирних кислот.</p> <p>1.1.3. Утворення нерозчинних кальцієвих мил.</p>	

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

холестеролу в сироватці крові за Льком.	1.1.4. Отримання емульсії жиру. 1.2. Визначення вмісту холестеролу в сироватці крові.
-----------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------

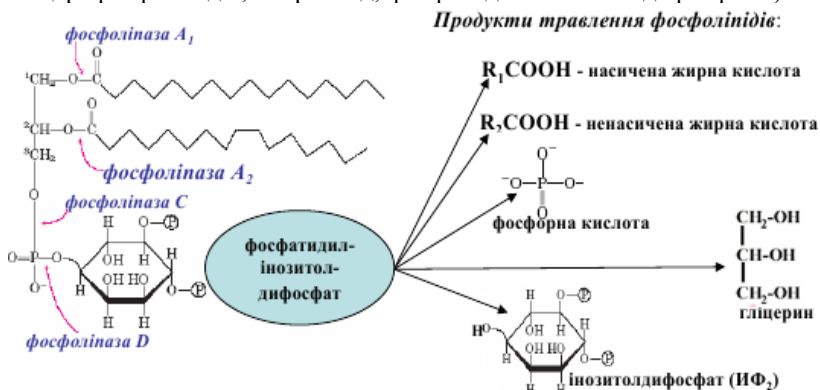
## I. Короткі теоретичні відомості

### 1. Потреба організму у ліпідах

Добова потреба організму людини в ліпідах становить в нормі  $\approx 80 \dots 100$  г, у тому числі 25 г рослинних, біля 5...6 г фосфатидів і 0,3...0,6 г холестеролу. Екзогенний холестерин надходить із продуктами, а ендогенний синтезується в організмі в кількості 0,8...2 г за добу. Холестерин синтезується в печінці, нирках, надниркових залозах, артеріальній стінці.

### 2. Метаболізм складних ліпідів на прикладі гліцерофосфоліпідів

В тонкому кишківнику гліцерофосфоліпідів (ФЛ) перетравлюються за допомогою *фосфоліпаз*, які гідролізують естерні зв'язки у молекулах гліцерофосфоліпідів, наприклад, фосфатидил-інозитол-дифосфатів).



Панкреатична *фосфоліпаза A<sub>2</sub>* надходить до тонкої кишки у неактивній формі та активується *трипсином* шляхом часткового протеолізу. Внаслідок її дії утворюються токсичні *лізофосфоліпідів*, які не накопичуються, тому що майже водночас на фосфоліпідів діють кишечні *фосфоліпази A<sub>1</sub>, C і D*.

Продукти фосфоліполізу всмоктуються у стінку кишечника у вигляді міцел із амфіфільними жовчаними кислотами та холестеринном. У епітелії слизової оболонці кишечника міцела розпадається, а із МАГ,

гліцеролу і частини жирних кислот відбувається ресинтез специфічних для людини ТАГ.

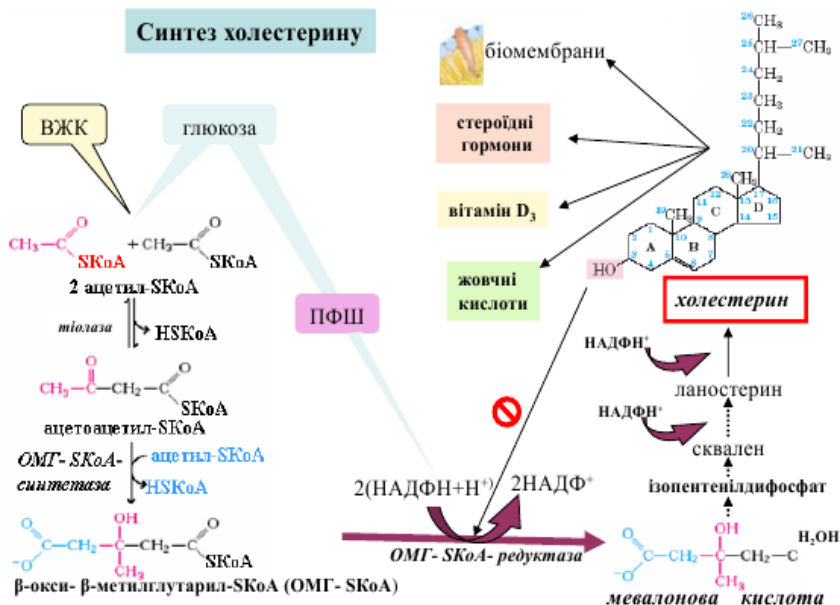
### 3. Травлення естерів холестеролу

Естери холестеролу, які надходять у складі продуктів тваринного походження, (рослинні стероїди *не засвоюються!*), частково гідролізуються кишковою або панкреатичною *холестеролестеразою* до вільних жирних кислот и холестерину.

Після перетворення в травному каналі та всмоктування ентероцитами кишечника естери холестерину та продукти їх гідролізу транспортуються кров'ю до печінки, де використовуються відповідно до фізіологічних потреб організму.

### 4. Біосинтез та біотрансформації холестеролу

Синтез ендogenous холестерину переважно відбувається у печінці (50...80%), кишечнику (10...15%), а також у шкірі (до 5%), корі наднирників і репродуктивних органах. Біосинтез холестерину починається з ацетил-КоА.



**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

---

У синтезі холестерину можна виділити три основні стадії:

I – перетворення активного ацетату у мевалонову кислоту,

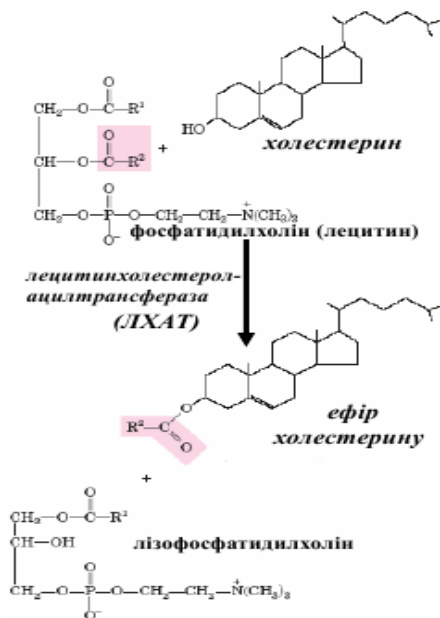
II – утворення сквалена з мевалонОВОЇ кислоти,

III – циклізація сквалену в холестерин.

Детально матеріал розглянутий в лекції №8 «Ліпіди».

Нижче представлена загальна схема цього процесу.

Естери утворюються в реакції естерифікації холестерину з ненасиченою жирною кислотою (із лецитину) за допомогою ферменту *лецитинхолестерол-ацилтрансферази (ЛХАТ)* або в реакції ацилювання холестерину за допомогою ацил-КоА та *ацилхолестеролацилтрансферази (АХАТ)*.



В організмі дорослої людини міститься приблизно 160 г холестерину, з котрих більш ніж 90% міститься у тканинах, особливо у нервовій, м'язовій, сполучній і жировій, а також у наднирниках. До 10% холестерину міститься у плазмі крові та лімфі у складі ліпопротеїнів (складає частка у вигляді естерів).

З віком холестерин накопичується у організмі, тому дорослих концентрація холестерину у плазмі крові вище у порівнянні з дітьми і складає в нормі 3,88...6,46 ммоль/л.

Надлишок холестеролу в організмі (*холестериноз*) є передумовою атеросклерозу, але патогенетичним є і недостатність холестерину (*холестеринодефіцит*), що є причиною ризику розвитку пухлинних та вірусних захворювань.

Холестерин – дуже важлива сполука у організмі людини. Крім структурної функції (компонент клітинних мембран), холестерин є попередником багатьох біологічно значущих речовин: стероїдних гормонів

(кортикостероїдів, статевих гормонів), антирахітичного вітаміну  $D_3$ , а також жовчних кислот, тобто усіх стероїдів у організмі.

**5. Патології ліпідного обміну (стеаторея, ожиріння, атеросклероз, цукровий діабет).**

Існує поширена група порушень ліпідного обміну, що характеризуються гіперліпемією, розвиток яких визначається складними і недостатньо з'ясованими взаємовідносинами між факторами спадковості і умовами життя людини, і які є основною причиною захворюваності та смертності більшості населення земної кулі.

Це – атеросклероз, ожиріння та цукровий діабет, що складають найбільший відсоток так званих «головних хвороб» сучасної людини.

**Атеросклероз**

Атеросклероз – хвороба, головним проявом якої є відкладання в судинних стінках ліпідних утворень – «бляшок», основними біохімічними компонентами яких є холестерин та його ефіри. Навкруги ліпідних бляшок в інтимі судин виникає клітинна реакція, що включає в себе утворення фіброзної тканини та проліферацію гладком'язових клітин.

Атеросклеротичні бляшки спричиняють звуження кровоносних судин, посилене згортання крові в ділянках їх локалізації та, як результат, порушення кровопостачання відповідних органів і тканин.

Як наслідок атеросклерозу розвиваються ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда й порушення церебрального кровообігу, що стають важливою причиною смерті людей дорослого та похилого віку (див. схему лекції №7).

Біохімічною основою розвитку атеросклерозу є підвищена концентрація в крові людини холестерину – *гіперхолестеринемія*, спричинена різними факторами – дієтарними, ендокринними, генетичними.

**Ожиріння**

*Ожиріння* – стан, що характеризується надмірним накопиченням у жировій тканині триацилгліцеролів. Як і атеросклероз спричинена різними факторами – дієтарними, ендокринними, генетичними.

При ожирінні збільшується кількість жирових клітин (адипоцитів) або їх розмір. Загальна маса нейтральних жирів в організмі людини за умов ожиріння може досягати значних кількостей.

Ожиріння розвивається внаслідок перевищення надходження та біосинтезу в тканинах нейтральних жирів (та інших біомолекул, які можуть перетворюватися в жири) над реальними енергетичними потребами організму в цих видах метаболічного палива. Найбільш

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

несприятливе значення для розвитку ожиріння має постійне надмірне надходження з продуктами харчування вуглеводів (особливо глюкози та фруктози) в кількостях, більших за ті, що безпосередньо окислюються в клітинах і можуть депонуватися у вигляді резервів глікогену.

***Цукровий діабет***

Цукровий діабет традиційно розглядається як патологія, що повинно пов'язана з порушеннями вуглеводного обміну. Дійсно, найбільш характерним біохімічним проявом різних типів цукрового діабету в клініці є гіперглікемія (гіперглюкоземія), яка розвивається внаслідок втрати специфічного впливу інсуліну на проникність клітинних мембран для глюкози. Але метаболічні ефекти інсуліну розповсюджуються на багато аспектів обміну глюкози, ліпідів та амінокислот, у зв'язку з чим цукровий діабет є хворобою, при якому відбуваються глибокі порушення не тільки вуглеводного, але й ліпідного та білкового обмінів.

Як уже зазначалось, розрізняють інсулінозалежний цукровий діабет (діабет I типу, ювенільний діабет) та інсулінонезалежний цукровий діабет (діабет II типу, діабет похилого віку).

## **II. Практична частина**

### **Алгоритм лабораторної роботи № 1**

#### ***Дослідження фізико-хімічних властивостей ліпідів.***

##### ***Дослід 1.*** Виявлення ненасиченості ліпідів.

В одну пробірку внести 1 мл розчину соняшникової олії у хлороформі, в другу – 1 мл вершкового масла у хлороформі. Потім в кожному пробірку додати по краплям бромну воду до припинення знебарвлення. Зафіксувати кількість бромної води, яку додано в кожному з пробірок. Зробити висновок.

##### ***Дослід 2.*** Утворення вільних жирних кислот.

У пробірку внести 2 мл розчину калієвого мила, потім додати 0,5 мл  $\text{HCl}_{(\text{нас.})}$ . Зробити висновок та записати свої спостереження.

##### ***Дослід 3.*** Утворення нерозчинних кальцієвих мил.

У пробірку внести 2 мл розчину калієвого мила та додати 1 мл  $\text{CaCl}_2$ . Зробити висновок та записати свої спостереження.

##### ***Дослід 4.*** Отримання емульсії жиру.

***Принцип методу.*** Поверхнево активні речовини-емульгатори (фосфоліпіди, сфінголіпіди, жовчні кислоти, білки, мила) мають здатність утворювати дрібнодисперсну емульсію.

**Прилади та реактиви:** штатив з пробірками, піпетки, жовч, розчин мила, розчин білка, 1 % розчин натрію гідрокарбонату, рослинна олія, дистильована вода.

**Порядок виконання роботи.** Для досліду готують 5 пробірок. У першу наливають 15 крапель дистильованої води, у другу – 15 крапель розведеної жовчі, у третю – 15 крапель розчину білка, у четверту – 15 крапель розчину мила і в п'яту – 15 крапель 1% розчину натрію гідрокарбонату. У кожную пробірку додають по 3...4 краплі рослинної олії й одночасно струшують вміст усіх пробірок. У першій спостерігають розшарування нестійкої емульсії на жир та воду, а в інших – утворення емульсії. Емульгування жиру натрію гідрокарбонатом зумовлене утворенням мила в результаті взаємодії натрію гідрокарбонату з присутніми в жирі вільними жирними кислотами.

**Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.**

#### **Алгоритм лабораторної роботи № 2**

##### **Кількісне визначення холестеролу в крові за Ільком.**

**Принцип методу.** Холестерол при взаємодії з оцтовим ангідридом в присутності концентрованих сульфатної та оцтової кислот утворює продукти реакції синьо-зеленого кольору. Густина забарвлення прямо пропорційна кількості холестеролу.

**Прилади та реактиви:** штатив з центрифужним мірними пробірками, ФЕК, кювети 10 мм, піпетки, стандартний розчин холестеролу, досліджувана сироватка,

**Порядок виконання роботи.** Пробірки та мікропіпетки повинні бути сухими. В дві центрифужні мірні пробірки наливають по 2 мл реактиву Ілька (Обережно, концентровані кислоти!!!); потім в одну з них відміряють 0,1 мл стандартного розчину холестеролу, а в другу – 0,1 мл досліджуваної сироватки. Вміст пробірок обережно струшують для перемішування та залишають на 20 хвилин. Потім розчини фотометрують на ФЕК при червоному світлофільтрі ( $\lambda = 630-690$  нм). За знайденими величинами оптичної густини (екстинкції) стандарту та сироватки складають пропорцію та розраховують концентрацію холестеролу в досліджуваній сироватці.

В нормі концентрація холестеролу (загального) в сироватці дорослої людини дорівнює 3,1...5,2 ммоль/л (120...250 мг %). Естерозв'язаний холестерол сироватки складає 2/3 загального холестеролу.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

**Значення для фармації та клінічної діагностики.** У нормі в крові людини міститься 3...7 ммоль/л загального холестерину. Згідно із сучасними дослідженнями, верхня межа вмісту холестерину в плазмі крові практично здорових людей у віці 20...29 років – 5,17 ммоль/л. Високий рівень розвитку коронарного атеросклерозу в людей віком 30...39 років і понад 40 років спостерігають за рівнів холестерину, що перевищують, відповідно, 6,21 та 6,72 ммоль/л. У чоловіків віком понад 60 років вміст холестерину в сироватці крові дещо нижчий, ніж у чоловіків 50...60 років. Це пов'язано зі зниженням продукції і секреції у кров статевих гормонів. Вміст холестерину в сироватці крові жінок дітородного періоду нижчий, ніж у чоловіків; після 60 років статеві відмінності у вмісті холестерину зникають,

**Гіперхолестеринемія (гіперхолестеролемія).** Збільшення вмісту холестерину у крові (гіперхолестеринемія, гіперхолестеролемія) – найбільш достовірний фактор ризику розвитку коронарного атеросклерозу, ішемічної хвороби серця та інфаркту міокарда. Найвищий рівень холестерину зафіксовано при генетичних порушеннях в обміні ліпопротеїнів: сімейній гомо- та гетерозиготній гіперхолестеринеміях, сімейній комбінованій гіперліпідемії, полігенній гіперхолестеролемії.

При низці патологічних станів розвивається вторинна гіперхолестеринемія. Це відмічено при захворюваннях печінки, що супроводжується внутрішньо- та позапечінковим холестазом, при ураженнях нирок (гломерулонефриті, нефротичному синдромі з набряками, хронічній нирковій недостатності), злоякісних пухлинах підшлункової залози, простатиті, подагрі, ішемічній хворобі серця, гострому інфаркті міокарда, гіпертензивній хворобі, ендокринних розладах (гіпотиреозі, цукровому діабеті, хронічному алкоголізмі, глікотенозі I типу, ожирінні (50...80% випадків), авітамінозі В. Дуже високий вміст холестерину в крові відмічено при цукровому діабеті й ліпоїдному нефрозі (26 ммоль/л і вище).

**Гіпохолестеринемію (гіпохолестеролемію)** – зниження вмісту холестерину у плазмі – спостерігають у хворих із ураженнями ЦНС, розумовою відсталістю, у період голодування, хронічній недостатності серцево-судинної системи, кахексії (раковій), гіпотиреозі, гострих інфекційних захворюваннях, гострому панкреатиті, гострих гнійно-запальних процесах у м'яких тканинах, при лихоманці, легеневому туберкульозі, неспецифічній пневмонії, саркоїдозі органів дихання, бронхіті, анемії, гемолітичній жовтяниці, гострому гепатиті, злоякісних пухлинах



печінки та інших органів (кишок), ревматизмі, абеталіпопротеїнемії, дефіциті  $\alpha$ -ліпопротеїнів.

Вважають, що гіпохолестеринемія, сприяючи запобіганню появи атеросклеротичних уражень вінцевих (коронарних) серцевих судин, створює умови для розвитку онкологічної патології (або супроводжує її розвиток).

***Підвести підсумки проведених експериментів і зроблених спостережень.***

### **III. Питання для самопідготовки**

#### ***3.1. Розкрити питання***

1. Що таке ліпіди, жири, ліпоїди?
2. Які форми жиру розрізняють в організмі?
3. Вказати на відмінності в структурі та властивості насичених і ненасичених кислот.
4. Дати визначення фосфоліпідів.
5. Написати загальну формулу нейтрального жиру.
6. Яка класифікація ліпідів?
7. Чим відрізняються рослинні жири від тваринних?
8. Який енергетичний баланс окиснення ліпідів?

#### ***3.2. Розв'язати ситуаційні завдання***

***Завдання 1.*** У жінок вміст загального холестеролу в крові та частота захворювання на атеросклероз нижче, ніж у чоловіків, проте жовчнокам'яна хвороба у них зустрічається в 3...4 рази частіше. Поясніть ці особливості. Для цього перерахуйте фактори, що сприяють і перешкоджають утворенню жовчного каміння. Опишіть, як впливають естрогени на обмін холестеролу.

***Завдання 2.*** У хворого за результатами біопсії в гепатоцитах були виявлені вакуолі з жиром і був поставлений діагноз жирової інфільтрації печінки. Поясніть можливі механізми цього явища. Яку дієту Ви рекомендуєте при цьому? Чому метіонін використовується при лікуванні низки захворювань печінки, зокрема як речовина, що зменшує ризик розвитку жирового переродження печінки.

***Завдання 3.*** Чоловік, 45 років, огрядний, звернувся зі скаргами на періодичні болі у ділянці серця та задишку. Аналіз ліпідів крові натще показав: вміст загального холестеролу – 6,5 ммоль/л, холестеролу ЛПВЩ – 1,4 ммоль/л, ТАГ – 8 ммоль/л (норма – 1,5-2,5 ммоль/л).

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

1. Для якої патології характерні перелічені зміни у показниках плазми?
2. Що таке коефіцієнт атерогенності? Яке його значення у нормі?
3. Чому дорівнює коефіцієнт атерогенності у даному випадку?
4. На чому ґрунтується дія препаратів, що знижують вміст холестеролу в крові?
5. Чому огрядним людям рекомендують дієту зі зниженою кількістю вуглеводів?

**3.3. Відповіді на тестові питання**

1. Хворий 49-ти років був доставлений до лікарні в коматозному стані. В анамнезі – цукровий діабет. Об'єктивно: дихання Кусмауля, зниження артеріального тиску, у видихуваному повітрі запах ацетону. Після проведеної невідкладної терапії стан покращився. Який препарат було введено хворому?

- A. Глібенкламід
- B. Адреналін
- C. Ізадрин
- D. Букаркам
- E. Інсулін

2. Для підвищення результатів спортсмену рекомендували застосувати препарат, який містить у собі карнітин. Який процес в найбільшій ступені активується карнітином?

- A. Синтез кетонів
- B. Транспорт жирних кислот в мітохондрії
- C. Синтез ліпідів
- D. Тканинне дихання
- E. Синтез стероїдних гормонів

3. У хворого нормально забарвлений кал, у складі якого знаходиться велика кількість вільних жирних кислот. Причиною цього є порушення:

- A. Всмоктування жирів
- B. Гідролізу жирів
- C. Жовчовиділення
- D. Жовчоутворення
- E. Секреції ліпаз

4. Хвора 39-ти років, з цукровим діабетом в анамнезі, госпіталізована до клініки у прекоматозному стані кетоацидотичного типу. Збільшення вмісту якого метаболіту до цього призвело?

- A. Малонат
- B. Аспартат
- C. Цитрат
- D. Ацетоацетат
- E. Альфа-кетоглутарат

5. Для підвищення результатів спортсмену рекомендовано застосувати препарат, що містить карнітин. Який процес у найбільшому ступені активується карнітином?

- A. Синтез ліпідів
- B. Транспорт жирних кислот у мітохондрії
- C. Синтез кетонних тіл
- D. Тканинне дихання
- E. Синтез стероїдних гормонів

6. У людини порушено всмоктування продуктів гідролізу жирів. Причиною цього може бути дефіцит у порожнині тонкої кишки:

- A. Жиророзчинних вітамінів
- B. Жовчних пігментів
- C. Ліполітичних ферментів
- D. Іонів натрію
- E. Жовчних кислот

7. Спадкова гіперліпопротеїнемія I типу обумовлена недостатністю ліпопротеїнази. Підвищення рівня яких транспортних форм ліпідів в плазмі навіть натщесерце є характерним?

- A. Ліпопротеїни низької густини
- B. Хіломікрони
- C. Ліпопротеїни дуже низької густини
- D. Ліпопротеїни високої густини
- E. Модифіковані ліпопротеїни

8. До складу біомембран входять гліцерофосфоліпіди, які формують ліпідний бішар завдяки тому, що їх молекули є:

- A. Амфільними

*Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.*  
*Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,*  
*ліпідів та його регуляція*

---

- В. Гідрофобними
- С. Гідрофільними
- Д. Циклічними
- Е. Неполярними

9. Посилення пероксидного окиснення ліпідів та біополімерів є одним із основних механізмів пошкодження структури та функції клітинних мембран і загибелі клітини. Причиною цього є:

- А. Гіпервітаміноз В1
- В. Гіповітаміноз В1
- С. Посилене утворення вільних радикалів кисню та пригнічення антиоксидантних систем
- Д. Гіповітаміноз В12
- Е. Гіпервітаміноз В12

10. Під час дослідження плазми крові пацієнта через 4 години після прийому ним жирної їжі встановлено, що вона є каламутною. Найбільш ймовірною причиною даного стану є підвищення концентрації в плазмі:

- А. ЛПНЩ
- В. Хіломікронів
- С. ЛПВЩ
- Д. Холестерину
- Е. Фосфоліпідів

11. При збільшенні в раціоні жирів виникає гіперліпідемія, що характеризується зростанням в сироватці крові таких транспортних форм ліпідів як:

- А. Комплекс жирних кислот із альбумінами
- В. ЛПДНЩ
- С. ЛПНЩ
- Д. Хіломікрони
- Е. ЛПВЩ

12. В організмі людини основним місцем депонування триацилгліцеролів (ТАГ) є жирова тканина. Разом з тим їх синтез відбувається в гепатоцитах. У вигляді чого проходить транспорт ТАГ із печінки в жирову тканину?

- А. Комплексу з альбуміном

- В. Хіломікронів
- С. ЛПНЩ
- Д. ЛПВЩ
- Е. ЛПДНЩ

13. Пацієнтці з ожирінням як харчову добавку рекомендовано карнітин, який:

- А. Сприяє окисненню жирних кислот
- В. Посилює розпад холестерину
- С. Активує жирні кислоти
- Д. Сприяє розпаду глюкози
- Е. Активує внутрішньоклітинний ліполіз

14. Інактивує внутрішньоклітинну тригліцеридліпазу шляхом дефосфорилювання фермент:

- А. Гуанілатциклаза
- В. Фосфорилаза
- С. Протеїнкіназа
- Д. Протеїнофосфатаза
- Е. Аденілатциклаза

15. У хворого на атеросклероз, що переніс інфаркт міокарда, в плазмі крові виявлено порушення співвідношення фракцій ліпопротеїнів. Концентрація яких ліпопротеїнів знижена при даній патології?

- А. ЛПНЩ
- В. ЛПВЩ
- С. ЛПДНЩ
- Д. Хіломікронів
- Е. Холестерину

16. У крові пацієнта, який зазнав радіаційного впливу, виявили підвищений вміст малонового діальдегіду, що свідчить про активацію пероксидного окиснення ліпідів. Цей процес може спричинити деструкцію біологічних мембран внаслідок:

- А. Активації  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази
- В. Зміни структури транспортних білків
- С. Деградації фосfolіпідів
- Д. Руйнування вуглеводних компонентів
- Е. Окиснення холестерину

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

17. Хворий відзначає часті проноси, особливо після вживання жирної їжі, схуднення. Лабораторні дослідження показали наявність стеатореї; кал гіпохолічний. Що може бути причиною такого етапу:

A patient complains of frequent diarrheas, especially after consumption of fattening food, and of body weight loss. Laboratory examination revealed steatorrhea; hypocholic feces. What can be the cause of this condition?

- A. Lack of pancreatic phospholipase
- B. Mucous membrane inflammation of small intestine
- C. Lack of pancreatic lipase
- D. Obturation of biliary tracts
- E. Unbalanced diet

18. Експериментальній тварині давали надлишкову кількість глюкози, міченої за вуглецем, протягом тижня. У якій сполуці можна вивити мітку?

An experimental animal has been given excessive amount of carbon-labeled glucose for a week. What compound can the label be found in?

- A. Palmitic acid
- B. Methionine
- C. Vitamin A
- D. Choline
- E. Arachidonic acid

19. Пацієнтці з високим ступенем ожиріння у якості харчової добавки було рекомендовано карнітин для прискорення «спалювання» жиру. Яку безпосередню участь бере карнітин у процесі окиснення жирів?

A patient with high rate of obesity was advised to use carnitine as a food additive in order to enhance "fat burning". What is the role of carnitine in the process of fat oxidation?

- A. It takes part in one of reactions of FFA beta-oxidation
- B. Transport of FFA from fat depots to the tissues
- C. Transport of FFA (free fatty acids) from cytosol to the mitochondria
- D. FFA activation
- E. Activation of intracellular lipolysis

20. Чоловік 58-ми років хворіє на атеросклероз судин головного мозку. При обстеженні виявлена гіперліпідемія. Вміст якого класу ліпопротеїдів у сироватці крові даного чоловіка найбільш вірогідно буде підвищений?

A 58-year-old patient suffers from the cerebral atherosclerosis. Examination revealed hyperlipidemia. What class of lipoproteins will most probably show increase in concentration in this patient's blood serum?

- A. High-density lipoproteins
- B. Low-density lipoproteins
- C. Fatty acid complexes with albumins
- D. Chylomicrons
- E. Cholesterol

21. У хворого хлопчика 12-ти років вміст холестерину в сироватці крові до 25 ммоль/л. В анамнезі – спадкова сімейна гіперхолесгеринемія. причиною якої є порушення синтезу білків-рецепторів до:

Cholesterol content in blood serum of a 12-year-old boy is 25 mmol/l. Anamnesis states hereditary familial hypercholesterolemia caused by synthesis disruption of receptor-related proteins for:

- A. High-density lipoproteins (HDL)
- B. Low-density lipoproteins (LDL)
- C. Chylomicrons
- D. Very low-density lipoproteins (VLDL)
- E. Intermediate-density lipoproteins (IDL)

22. Порушення процесів мієлінізації нервових волокон призводить до неврологічних розладів і розумової відсталості. Такі симптоми характерні для спадкових і набутих порушень обміну:

Disruption of nerve fiber myelinogenesis causes neurological disorders and mental retardation. These symptoms are typical for hereditary and acquired

alterations in the metabolism of:

- A. Sphingolipids
- B. Neutral fats
- C. Higher fatty acids
- D. Cholesterol
- E. Phosphatide acid

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

23. У експериментальної тварини, що знаходиться на безбілковому раціоні, розвинулася жирова інфільтрація печінки, зокрема, внаслідок дефіциту метилуючих агентів. Назвіть метаболіт, утворення якого порушено у підослідній тварині.

An experimental animal that was kept on protein-free diet developed fatty liver infiltration, in particular as a result of deficiency of methylating agents. This is caused by disturbed generation of the following metabolite:

- A. Acetoacetate
- B. DOPA
- C. Cholesterol
- D. Linoleic acid
- E. Choline

24. У крові хворих на цукровий діабет спостерігається підвищення вміст вільних жирних кислот. Причиною такого стану може бути:

Increased amount of free fatty acids is observed in the blood of the patients with diabetes mellitus. It can be caused by:

- A. Activation of apolipoproteins synthesis
- B. Increased activity of triglyceride lipase in adipocytes
- C. Activation of the ketone bodies utilization
- D. Accumulation of palmitoyl-CoA in cytosol
- E. Decreased activity of phosphatidylcholine-cholesterol-acyltransferase blood plasma

25. При обстеженні хворого виявили застій жовчі в печінці та жовчні камені в жовчному міхурі. Вкажіть основний компонент жовчних каменів, які утворюються в цьому стані.

Complaints and objective data allow to suggest that a patient has inflammation in his gallbladder. bile colloidoclasia. probability of gallstones formation. What can be the main cause of gallstones formation?

- A. Mineral salts
- B. Triacylglycerols
- C. Bilirubin
- D. Cholesterol
- E. Protein.



## Список рекомендованої літератури

### *Основна (базова)*

1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда, В. І. Жуков та ін./за ред. Ю. І. Губського, І. В. Ніженковської. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – 544 с.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія: підручник. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
3. Біологічна хімія: навчальний посібник. / Л. В. Вороніна, В. Ф. Десенко, Н. Н. Мадієвська та ін. – Харків: Вид-во НФАУ «Основа», 2000. – 608 с.
4. Зіменковський Б. С., Музиченко В. А., Ніженковська І. В. Біологічна та біоорганічна хімія. Книга 2: – Київ: Медицина, 2014. – 418 с.

### *Допоміжна*

5. Збірник лекцій (текст) з біологічної хімії (блок 1) для студентів спеціальності 226 «Фармація. Промислова фармація» на платформі moodle3.chmnu.edu.ua (посилання уточнюється щосеместрово).
6. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження: підручник / О. Я. Склярів, Н. В. Фартушок, Л. Д. Сойка, І. С. Смачило. – К.: Медицина, 2009. – 352 с.
7. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі / за редакцією О. Я. Склярів, Видавництво «Світ». – Львів, 2006. – 271с.
9. Клінічна біохімія / Бойків Д. П., Бондарчук Т. І., Іванків О. Л. та ін. / за ред. Склярів О. Я. – К.: Медицина, 2006. – 432 с.
10. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі: навч. посіб. / Т. І. Бондарчук, Н. М. Гринчишин, Л. І. Кобилінська та ін./ за ред. О. Я. Склярів. – К.: ВСВ «Медицина», 2010. – 360 с.
11. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі: навч. посіб. / за ред. О. Я. Склярів. – Львів.: Видавництво ЛНМУ, 2015. – 474с.
12. Гонський Я. І., Максимчук Т. П., Калинський М. І. Біохімія людини: підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
13. Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В. М. Сучасні методи біохімічних досліджень. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – 424 с.
14. Popova L. Biochemistry / Popova L., Polikarpova A. – Kharkiv: KNMU, 2012. – 540 p.

## ДОДАТКИ

### *Додаток 1*

#### **Охорона праці та техніка безпеки під час роботи в хімічній навчальній лабораторії**

##### ***1. Вимоги безпеки перед початком роботи***

1.1. Студент може бути допущений до виконання практичних робіт тільки після того, як ознайомиться з правилами роботи для працюючих у лабораторії, пройде інструктаж з охорони праці та техніки безпеки (засвідчується підписом у журналі з ОП та ТБ) і отримає дозвіл викладача.

1.2. Заходить в навчальну хімічну лабораторію тільки з дозволу викладача (завідуючого лабораторією).

1.3. Під час практичних занять у лабораторії студент має бути у халаті стандартної довжини, застігнутому на всі гудзики.

1.4. Довге волосся має бути сховане під головним убором чи зібране в зачіску.

1.5. Перш ніж приступати до виконання практикуму студент має бути обізнаний з принципом методу та покроковим алгоритмом методики виконання дослідів, призначених до виконання.

1.6. Необхідні попередні нотатки мають бути внесені у зошит завчасно і є необхідною умовою отримання студентом дозволу викладача приступати до виконання роботи.

1.7. До початку заняття черговий студент перевіряє наявність реактивів, хімічного посуду, отримує лабораторне приладдя, яке повинен здати лаборанту по закінченню заняття.

1.8. Студент має бути обізнаний щодо основних шкідливих факторів та небезпечних ситуацій, які можуть виникнути під час проведення практичних робіт.

1.9. Кожний працюючий повинен знати, де знаходяться в лабораторії засоби протипожежного захисту та аптечка.

##### ***2. Вимоги безпеки під час роботи***

2.1. Під час практичного заняття необхідно дотримуватись чистоти, тиші, порядку та положень даної Інструкції.

2.2. Студент повинен мати закріплене робоче місце. Робоче місце слід тримати в чистоті, не захарашувати його сторонніми предметами, які не потрібні для цієї роботи, дотримуватись правила **«Моє робоче місце завжди чисте!»**.

- 2.3. Під час виконання робіт слід обов'язково дотримуватись вказівок щодо використання всіх необхідних засобів захисту. Досліди виконувати виключно на робочому столі, під час роботи додержуватися тиші.
- 2.4. Розпочинати виконання лабораторного практикуму дозволяється лише після попередньої теоретичної підготовки, засвоєння матеріалу теми з використанням рекомендованих джерел. Контроль підготовки до заняття викладач проводить на початку практичного заняття.
- 2.5. Студент виконує практичну роботу ретельно дотримуючись методичних вказівок за присутності викладача та повідомляє йому про результати дослідження.
- 2.6. Потрібні для роботи реактиви, хімічний посуд мають знаходитися на лабораторних столах.
- 2.7. Куштувати реактиви на смак категорично забороняється!
- 2.8. Забороняється використовувати реактиви із склянок на яких відсутні етикетки.
- 2.9. У лабораторії забороняється їсти, пити воду з хімічного посуду, палити.
- 2.10. Не дозволяється нахилитись над посудом, що містить речовину, яка нагрівається, спрямовувати отвір цього посуду на себе чи інших працюючих у лабораторії. Під час нагрівання речовин в пробірках слід направляти їх отвір в бік від себе та оточуючих.
- 2.11. Для визначення запаху потрібно легким рухом долоні спрямувати потік повітря від отвору посуду до себе й обережно понюхати.
- 2.12. Категорично забороняється виконувати досліди, які не передбачені методичними вказівками для даної роботи.
- 2.13. Всі електроприлади в лабораторії мають бути заземлені. Працювати тільки зі справними приладами.
- 2.14. Досліди потрібно проводити тільки в чистому посуді. Після закінчення роботи посуд відразу вимити і поставити на просушку.
- 2.15. Досліди з легкозаймистими речовинами проводити якомога далі від полум'я та електроприладів.
- 2.16. Слід пам'ятати, що більшість реакцій відбувається лише у разі створення певних умов. У зв'язку з цим, як правило, реактив слід добавляти лише тоді, коли для цієї мети підготовлено досліджуваний об'єкт (створено відповідне середовище, досягнуто необхідної температури тощо).
- 2.17. Не слід класти піпетки на поверхню робочого столу, їх слід ставити у спеціальні штативи.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

2.18. Під час роботи з концентрованими розчинами кислот і лугів слід користуватися захисними окулярами та гумовими рукавичками.

2.19. Під час роботи з легкозаймистими речовинами не можна доливати їх до суміші реагуючих речовин із хімічних склянок великого розміру. Потрібну кількість цих речовин чи їх розчинів слід наливати в чисту пробірку, а потім із неї доливати ці рідини до досліджуваного розчину.

2.20. В процесі роботи необхідно пильнувати, щоб речовини не потрапляли на шкіру рук та обличчя, особливо в очі.

### **3. Правила поводження з реактивами**

3.1. Реактиви зберігають у закритих корком хімічних склянках для запобігання їх забрудненню. Органічні реактиви слід зберігати в окремій шафі в щільно закритих невеликих склянках.

3.2. Насичені розчини кислот та лугів, леткі речовини слід зберігати у витяжній шафі окремо один від одного, де з ними і працюють. Виносити їх з шафи на робочий стіл забороняється.

3.3. Під час роботи з діетиловим етером, спиртами, бенzenом та іншими горючими речовинами їх нагрівають на водяній бані в колбі зі зворотним холодильником.

3.4. Слід пам'ятати, що деякі гази (водень, ацетилен та ін.), а також леткі речовини (бензен, спирти, гексан тощо) під час випаровування утворюють з повітрям, а також із киснем вибухові суміші. Щоб їх пари не накопичувались у приміщенні лабораторії в небезпечних кількостях, працювати з цими речовинами потрібно при витяжній вентиляції.

3.5. На всіх склянках, контейнерах та іншому посуді, де зберігаються реактиви, повинні бути назви реактивів. Не можна користуватись реактивами із склянок без етикеток.

3.6. Перед застосуванням реактиву слід уважно прочитати етикетку на хімічній склянці.

3.7. Наливаючи рідину в посудину (пробірку), склянку з реактивом беруть так, щоб етикетка була зверху.

3.8. Для проведення досліду досліджувані розчини та тверді речовини, інші реагенти беруть у кількостях, які визначені методикою експерименту. Для виконання більшості дослідів потрібно брати від кількох крапель до 0,5 мл досліджуваного розчину.

3.9. Тверді реактиви обережно відбирають шпателем (ложечкою), не слід брати одним шпателем без спеціального очищення кілька реактивів.

3.10. Рідкі реактиви, що знаходяться в крапельницях, відміряють краплями.

3.11. Невикористаний реактив забороняється виливати або висипати назад у хімічну склянку, з якого його було взято, щоб запобігти забрудненню реактиву.

3.12. Корки від посуду з реактивами слід класти на робоче місце столу так, щоб вони не торкалися поверхні столу своєю внутрішньою поверхнею. Категорично забороняється закривати посуд корками від іншого посуду.

3.13. Забороняється виносити реактиви з приміщення лабораторії.

3.14. Відпрацьовані безпечні розчини обережно виливають у раковину. Відпрацьовані розчини кислот, лугів, органічних розчинників, сполук дорогих металів виливають у склянки з відповідними написами «Злив реагенту...», які знаходяться у витяжній шафі.

#### **4. Вимоги безпеки після закінчення роботи**

4.1. По закінченню роботи слід:

- вимкнути прилади, особливо нагрівні, зайве електричне освітлення;
- помити і поставити сушити посуд,
- розставити хімічні склянки з реактивами по місцях на робочому столі, або здати їх разом з приладами, якими користувались, черговому,
- прибрати своє робоче місце, вимити руки.

4.2. З дозволу викладача покинути лабораторне приміщення.

4.3. Слід пам'ятати, що **точність, економіність, охайність – гарантія успішного виконання практичної роботи.**

#### **5. Вимоги безпеки в аварійних ситуаціях**

##### **5.1. Правила надання першої допомоги**

- Під час роботи в лабораторії слід дотримуватись усіх заходів безпеки згідно з правилами та даною Інструкцією.
- У разі термічних опіків слід зробити примочки розчином калій перманганату. При порізах рану слід обробити спиртовим розчином йоду та перев'язати.
- При опіках шкіри, слизових оболонок чи очей кислотами спочатку промити вражене місце водою впродовж 10...15 хв., потім 2% розчином натрій гідрокарбонату і знову водою.
- У разі опіків їдкими лугами вражену ділянку ретельно промити водою, а потім 1% розчином оцтової чи лимонної кислоти.

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,  
ліпідів та його регуляція**

---

- У разі сильних опіків, поранень чи отруєнь слід негайно викликати «Швидку допомогу» і потерпілого відправити у лікарню. До її приїзду слід надати першу допомогу.

**5.2. Правила поведінки в разі виникнення пожежі в лабораторії**

- У разі виникнення пожежі в лабораторії студенти повинні негайно сповістити про це викладачу (лаборанту) і далі терміново, без паніки, організовано, допомагаючи один одному, покинути її. За межами лабораторії згідно плану евакуації покинути навчальний корпус.

- У разі, якщо загорівся одяг, не можна бігти, необхідно накинути на місце загорання на постраждалому спеціальну протипожежну ковдру, що знаходяться у доступному місці. За її відсутності для цієї цілі можна застосувати халат (тільки не синтетичний). Ковдру не слід знімати до повного згасання полум'я. За обтяжливих обставин з цією метою можна використовувати вогнегасник, але не слід направляти потік речовини в обличчя постраждалому.

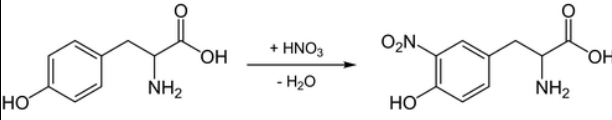
- Персоналу кафедри потрібно терміново вимкнути всі електричні прилади, витягну вентиляцію, прибрати в безпечне місце горючі речовини.

- Персоналу кафедри необхідно вжити термінових заходів щодо ліквідації загоряння або, принаймні, його локалізації, використовуючи вогнегасники, пісок, протипожежну ковдру. За необхідності повідомити пожежну команду за номером телефону 101.

Еталони відповідей на ситуаційні завдання

№ завдання	Зміст еталону відповіді
<b>Практичне заняття № 1</b>	
1	<p>Біуретова реакція доводить наявність у молекулах білків пептидних зв'язків (–CO–NH–). Сполуки, які мають у своєму складі не менше двох пептидних зв'язків (білки, пептиди), у лужному середовищі утворюють із купрум сульфатом хелатні комплекси синьо-фіолетового кольору.</p> <p>Альбуміни та імуноглобуліни є білками. Але, порівняно з імуноглобулінами, молекули альбумінів у своєму складі містять менше залишків амінокислот, оскільки мають суттєво меншу молекулярну масу і, відповідно, меншу кількість пептидних зв'язків. Таким чином, інтенсивність забарвлення розчину, що є похідною концентрації хелатних комплексів, в разі альбуміну буде меншою.</p>
2	<p>Амінокислотний склад пептиду відрізняється високим вмістом діаміномонокарбонових кислот – лізину та аргініну, в той же час, у структурі пептиду відсутні ароматичні та гетероциклічні амінокислоти – фенілаланін, тирозин, гістидин та триптофан, що дають позитивну реакцію.</p> <p>Зазначені електрофоретичні властивості досліджуваного пептиду свідчать про те, що позитивний заряд колоїдних частинок пептиду у слабкокислому середовищі і нейтральний у лужному зумовлений перевагою в структурі радикалів з аміно-групами. Тобто, амінокислотний склад пептиду відрізняється високим вмістом діаміномонокарбонових кислот – лізину та аргініну. Поряд з тим, негативна ксантопротеїнова проба може бути зумовлена відсутністю в ланцюгу амінокислот з ароматичними та гетероциклічними радикалами – фенілаланіну, тирозину, гістидину та триптофану, що дають позитивну реакцію з нітратною кислотою. При цьому утворюються ароматичні</p>

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

	<p>нітропохідні, що мають жовте забарвлення, наприклад, похідна тирозину:</p>  <p style="text-align: center;"> <chem>Nc(Cc1ccc(O)cc1)C(=O)O + HNO3 &gt;&gt; Nc(Cc1ccc(O)[N+](=O)[O-])C(=O)O + H2O</chem> </p>
3	<p>Завдяки великим розмірам молекул білки утворюють у воді колоїдні розчини, стійкість яких залежить від наявності на поверхні білку певного електричного заряду та гідратних оболонок. Знак та величина заряду поверхні зумовлені перевагою в дисоціації карбоксильних (кислотних) або аміно- (основних) груп. У сильнокислому та лужному середовищі осадженню білків перешкоджає заряд їх поверхні (позитивний у кислому та негативний у лужному). При певному значенні рН середовища (слабокисла реакція) ці кислотні та лужні групи нейтралізуються, молекула стає нейтральною і нестабільною (ізоелектрична точка білка), і при нагріванні білки зсідаються, утворюються осадки. Тому, якщо рН досліджуваної сечі не відповідає слабокислій реакції, можна отримати помилково негативний результат.</p>
<b>Практичне заняття № 2</b>	
1	<p>Як і більшість протеолітичних ферментів, трипсин має певну специфічність дії – цей фермент активний щодо пептидних зв'язків, утворених карбоксильною групою аргініну та лізину. Молекули трипсину не атакують одне одного тому, що амінокислотні послідовності ділянок, що лежать на поверхні глобули трипсину не відповідають його специфічності.</p>
2	<p>Згідно з теорією індукованої відповідності (теорії Кошленду), зв'язуючись з активним центром, субстрат викликає зміну просторової форми молекули ферменту і переводить його в більш стійку, стабільну конформацію.</p>
3	<p>Наявність сильного позитивного заряду, велика кількість вільних орбіталей (отже, здатність пов'язувати</p>



	велику кількість лігандів), можливість виступати в ролі як акцептора, так і донора електронів – всі ці властивості перехідних металів зумовлюють їхню участь у біокаталізі як кофактори.
<b>Практичне заняття № 3</b>	
1	Сульфаніламідні належать до хіміотерапевтичних засобів широкого спектра дії. Найчутливішими до них є бактерії – стрептококи, стафілококи, пневмококи тощо. Механізм протимікробної дії сучасних сульфаніламідних препаратів ґрунтується на конкурентному антагонізмі сульфаніламідних засобів і параамінобензойної кислоти. Вплив сульфаніламідних засобів і параамінобензойної кислоти на життєдіяльність мікроорганізмів є прямо протилежним. Сульфаніламідні препарати діють за механізмом конкурентного інгібування. Вони є структурними аналогами параамінобензойної кислоти, яка є основою для зростання хвороботворних мікроорганізмів. Тому сульфаніламідні препарати конкурують з параамінобензойною кислотою, витісняють її з активного центру ферменту, проявляючи антикоферментну дію, тим самим припиняють розвиток і розмноження мікроорганізмів.
2	Протеолітичні ферменти синтезуються підшлунковою залозою у неактивній формі (проферменти або зимогени), а потім надходять у тонку кишку, де активуються шляхом часткового протеолізу, тобто шляхом гідролізу одного пептидного зв'язку з наступним відщепленням інгібуючого N-кінцевого пептиду. При панкреатиті відбувається передчасна активація проферментів безпосередньо у самій підшлунковій залозі. Так як ці ферменти мають високу протеолітичну активність, це призводить до аутоперетравлення тканини підшлункової залози. Інгібітори протеолітичних ферментів використовують із метою зниження їх передчасного активування.
3	Визначення активності ферментів у сироватці (плазмі) крові має велике значення при патології печінки, оскільки зміна їх активності, частіше у вигляді

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів,**  
**ліпідів та його регуляція**

	гіперферментемії, настає швидше за інші показники (білірубину, альбуміну, колоїдо-осадових проб). Вихід (елімінація) ферментів аланінамінотрансферази та ЛДГ <sub>4,5</sub> печінки у кров є ознакою цитолізу – руйнування клітин або порушення проникності їхніх мембран. Тому можна припустити, що у хворого безжовтянична форма гепатиту.
<b>Практичне заняття № 4</b>	
1	Лактатдегідрогеназа існує у вигляді 5 ізоферментів. Ізоферменти - це множинні форми одного і того ж ферменту, що відрізняються за амінокислотним складом, фізико-хімічними властивостями, але каталізують одну і ту ж реакцію. Це маркерні ферменти, тобто. їх форми перебувають у певних органах. Так ЛДГ <sub>1,2</sub> міститься здебільшого у серцевому м'язі, ЛДГ <sub>4,5</sub> – у печінці. Вразі руйнування мембран гепатоцитів велика кількість ЛДГ <sub>4,5</sub> надходить у кров, де різко підвищується їх активність. Відповідно пошкодження клітин серцевого м'язу супроводжується гіперферментемією ЛДГ <sub>1,2</sub> . Лактатдегідрогеназа відноситься до 1 класу за класифікацією (оксидоредуктази) і каталізує окисно-відновні реакції.
2	Мультиферментні комплекси (піруватдегідрогеназний, $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназний), до складу яких входить тіамініпірофосфат, беруть участь в окисному декарбоксилюванні альфа-кетокислот і відносяться до класу ліаз. До складу цього коферменту входить вітамін В <sub>1</sub> . Крім нього, коферментні функції виконують наступні вітаміни: В <sub>2</sub> (рибофлавін) – входить до складу ФМН та ФАД; В <sub>3</sub> (пантотенова к-та) – –//– Коензима А (КоА); В <sub>6</sub> (піридоксин) – –//– піридоксальфосфату; В <sub>6</sub> (фолієва к-та) – –//– тетрагідрофолієвої к-ти; РР (нікотинова к-та) – –//– НАД та НАДФ.

3	<p>Регуляція синтезу глікогену здійснюється через регулювання активності глікогенсинтази. Глікогенсинтаза у клітинах присутня у двох формах: глікогенсинтаза нефосфорильована – активна форма, глікогенсинтаза фосфорильована – неактивна форма. Перехід із однієї форми до іншої є оборотним. При введенні в систему, що містить активну форму ферменту, фосфорилуючого агента – АТФ та ферменту фосфорильовання – кінази глікогенсинтази, відбувається перехід глікогенсинтази з активної (нефосфорильованої) форми в неактивну (фосфорильовану). Зворотний перехід можливий за умови видалення АТФ та введення в систему надлишку фосфорилази глікогенсинтази.</p>
<p><b>Практичне заняття № 5</b></p>	
1	<p>Оскільки відновлені коферменти НАДН<sub>2</sub> і ФАДН<sub>2</sub>, утворені в ЦТК за нормальних умов, переносять електрони у дихальний ланцюг мітохондрій, в кінці якого електрони поступають на кисень – кінцевий акцептор електронів. Якщо його немає, то відновлені коферменти будуть накопичуватися та інгібувати ЦТК за алостеричним типом. За анаеробних умов гліколіз буде продуктувати лактат, а не піруват – основне джерело ацетилКоА. I, відповідно, дефіцит ацетил-КоА негативно позначиться на перебігу ЦТК.</p>
2	<p>Неможливий з причини енергодефіциту в клітині. На перетворення 2 моль пірувату на 1 моль глюкози в процесі глюконеогенезу витрачається енергія макроергів (4 моль АТФ і 2 ГТФ) за участі 2 моль відновлених коферментів НАДН<sub>2</sub>. Необхідна енергія та відновлені коферменти утворюється в ЦТК і подальшому окисному фосфолуванні. За умови їх інгібування глюконеогенез теж блокується.</p>
3	<p>1. Сукцинат постачає електрони в дихальний ланцюг мітохондрій, стимулюючи, таким чином, споживання кисню та пов'язаний з ним синтез АТФ. 2. На шостій стадії ЦТК відбувається окиснення сукцинату до фумарату, що каталізується сукцинатдегідрогеназою.</p>

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

	<p>3. Малонат</p> <p>4. Конкурентне інгібування</p> <p>5. Убіхінон є сполучною ланкою у дихальному ланцюгу, тобто є переносником електронів з комплексів I та II на цитохроми.</p>
<b>Практичне заняття № 6</b>	
1	<p>Снодійні препарати похідні амінобарбіталу пригнічують функції компонентів дихального ланцюга митахондрій. Це призводить до зниження швидкості вироблення АТФ і як результат швидкої стомлюваності, м'язової слабкості. Для відновлення функції організму потрібно виключити прийом барбітуратів і включити в раціон поживні субстрати окислення (вуглеводні та жирів).</p>
2	<p>1. Антибіотик граміцидин достатньо простий білок (у молекулі всього п'ять амінокислотних залишків, що повторюються двічі) завдяки циклічній структурі молекули може вбудовуватись у мембрану бактерій, утворюючи канал з двох спіральних молекул антибіотика. Через цей канал можуть вільно проникати катіони калію, натрій та ін.), що призводить до вирівнювання заряду на мембрані та зміни її проникності.</p> <p>2. В організмі людини граміцидин викликає роз'єднання дихального ланцюга митахондрій та окисного фосфорилування. Змінюється <math>\Delta\mu\text{H}^+</math> та знижується біосинтез АТФ.</p> <p>3. На матричні біосинтези.</p>
<b>Практичне заняття № 7</b>	
1	<p>1. У спринтерів – анаеробний гліколіз, у стаєрів – аеробний шлях розпаду глюкози.</p> <p>2. Аеробний шлях розпаду глюкози (дихотомічний) включає три етапи: 1) гліколіз – розпад глюкози до ПВК; 2) окисне декарбосиловання ПВК; 3) ЦТК, дихальний ланцюг митахондрій, окисне фосфорилування.</p> <p>3. <math>\text{ПВК} + \text{HS-KoA} + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{ацетил-KoA} + \text{CO}_2 + \text{НАДН} + \text{H}^+</math>.</p>

	4. В анаеробних умовах відбувається гліколітична оксидоредукція з відновленням цитоплазматичним НАДН+Н <sup>+</sup> ПВК до лактату. В аеробних умовах відбувається перенесення відновлених еквівалентів з цитоплазми до мітохондрій за допомогою човникових механізмів з подальшим включенням їх у дихальний ланцюг мітохондрій.
2	Гліколіз. Так як у еритроцитів відсутні такі органели клітини, як мітохондрії, необхідна кількість АТФ утворюється за рахунок анаеробного гліколізу (субстратна АТФ).
3	У здорової тренованої людини надлишок лактату швидко використовується у відновному періоді при достатньому поступленні кисню.
<b>Практичне заняття № 8</b>	
1	Порушення глікогендепонуючої функції печінки. Глюкоза депонується в печінці у вигляді глікогену. Адреналін (за аденілатциклазним механізмом) активує регуляторний фермент розпаду глікогену (глікогенолізу) в печінці – глікоген фосфорилазу. Як наслідок в крові підвищується рівень глюкози. Гіпоглікемія та відсутність реакції на адреналін свідчать про порушення глікогендепонуючої функції печінки.
2	У хворого м'язова форма глікогенозу. Цей стан викликано відсутністю ферменту – м'язової фосфорилази. Відсутність м'язової фосфорилази призводить до неможливості використовувати «енергетичні» запаси глікогену. Це і призводить до болю і втоми при фізичних навантаженнях. Ензимопатії – загальна назва хвороб або патологічних станів, що розвиваються внаслідок відсутності або порушення активності будь-яких ферментів. Ензимопатії можуть бути спадковими або викликатися хронічними розладами харчування.
3	Глікоген у працюючому м'язі розщеплюється з утворенням лактату і енергії. Лактат надходить у кров і переноситься в печінку, де перетворюється в

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

	глюкозу, яка потім надходить у м'язи. Таким чином, опосередковуючим органом є печінка. Стимулює розпад глікогену адреналін. Оскільки він діє на всі м'язи, то і в непрацюючому м'язі теж буде розщеплюватися глікоген.
<b>Практичне заняття № 9</b>	
1	Окислення 1 молекули глюкози утворює 38 АТФ. Трипальмітин складається з 3 молекул пальмітинової кислоти і гліцерину. Окиснення пальмітинової кислоти призводить до утворення 130 АТФ, окиснення гліцерину дає 21 АТФ. Таким чином, окиснення трипальмітину призводить до утворення $130 \cdot 3 + 21 = 411$ АТФ. Це в 10,8 разу більше, ніж при окисненні глюкози.
2	Схильність дітей до ацетонемічних станів пояснюється певними фізіологічними особливостями: діти ростуть, багато рухаються. Тому потреба в енергії у них набагато вище ніж у дорослих. На відміну від дорослих у дітей немає значних запасів глюкози у вигляді глікогену, у них відзначається фізіологічна нестача ферментів, що приймають участь у процесі знешкодження токсичних кетонових речовин.
3	Кетонові тіла. При важкій формі цукрового діабету погіршується окислення ацетил-глутамілкарбоксилази-КоА у ЦТК, тому з нього посилюється у гепатоцитах синтез кетонових тіл: ацетону, ацетоацетату і $\beta$ -глутамілкарбоксилази гідроксибутирату. Два останні є кислотами, тому їх накопичення і призводить до метаболічного кетоацидозу.
<b>Практичне заняття № 10</b>	
1	Виділення холестеролу в жовч має супроводжуватися пропорційним виділенням жовчних кислот і фосфоліпідів, що утримують гідрофобні молекули холестеролу в розчиненому у вигляді міцел жовчі стані. При зменшенні утворення жовчних кислот і збільшенні кількості жовчі холестерину, останній випадає в осад, який поступово стає більш твердим. Естрогени активують на рівні транскрипції ГМГ-КоА-редуктазу–

	<p>регуляторний фермент синтезу холестеролу в печінці та репресують 7-<math>\alpha</math>- гідроксилазу регуляторний фермент синтезу жовчних кислот. Такий вплив естрогенів пояснює, чому жовчнокам'яна хвороба у жінок трапляється частіше, ніж у чоловіків. Крім того, естрогени активують на рівні транскрипції синтез ЛПНЩ-рецепторів гепатоцитів, що призводить до зменшення вмісту ЛПНЩ та загального холестеролу в крові та збільшення холестеролу в печінці, і пояснює те, що частота захворювання на атеросклероз у жінок нижча в порівнянні з чоловіками.</p>
2	<p>Жирова інфільтрація печінки розвивається при порушенні балансу між швидкістю синтезу жирів у печінці та швидкістю виведення їх з печінки в кров у складі ЛПДНЩ. Особливо закономірно жирова інфільтрація печінки виникає при хронічній алкогольній та іншій інтоксикації, при декомпенсованому цукровому діабеті, ожирінні, білковій недостатності, у тому числі аліментарній, при отруєнні різними токсичними сполуками (тетрахлорометан, фосфор тощо.), при дефіциті ліпотропних речовин. Відомі два основні типи жирової інфільтрації печінки: 1) стимуляція ліполізу в жировій тканині, в ЛПДНЩ і ХМ підвищує концентрацію вільних жирних кислот (ВЖК), у тому числі синтез триацилгліцеринів (ТАГ), тільки частина ТАГ секретується у складі ЛПДНЩ, інші накопичуються. 2) порушення утворення ліпопротеїнів (ЛП) з різних причин: а) інгібування синтезу білкової частини ЛП (наприклад, хлороформом, важкими металами, тетра-хлорометаном); б) блок утворення ЛП з ліпідів та білків; в) порушення синтезу фосфоліпідів, що є важливими компонентами ЛП. Синтез фосфоліпідів може лімітуватися дефіцитом ненасичених РК, холіну або донорів метильних груп (метіонін тощо), які називаються ліпотропними речовинами; в) порушення власне секреторного механізму. Для профілактики та лікування призначається дієта з підвищеним вмістом білків, обмеженням жирів, особливо тугоплавкого</p>

**Практичні заняття з біологічної хімії. Частина I.**  
**Загальні закономірності метаболізму. Метаболізм вуглеводів, ліпідів та його регуляція**

	гваринного походження. Рекомендується сир, білок якого казеїн містить багато метіоніну – незамінної амінокислоти, яка є донором метильних груп, необхідних для синтезу фосфатидилхоліну.
3	<p>1. Гіперхолестеринемія та гіперліпемія характерні для атеросклерозу та ожиріння.</p> <p>2. Коефіцієнт атерогенності розраховується за формулою:          (Загальний ХС – ХС<sub>ЛПВЩ</sub>)/ ХС<sub>ЛПВЩ</sub>          У нормі КА ≤ 3.</p> <p>3. КА = (6,5 - 1,4): 1,4 = 3,6, тобто. вище за норму.</p> <p>4. Це інгібітори ОМГ-КоА-редуктази – ключового ферменту біосинтезу холестеролу. Зменшується його надходження у кров у складі ЛПДНЩ→ЛПНЩ та відкладення у стінках судин.</p> <p>5. При окисненні вуглеводів утворюються вихідні метаболіти для синтезу жирних кислот, ТАГ та холестеролу – ацетил-КоА та фосфодіоксацетон; при надлишку цих речовин вони витрачаються на синтез жирів.</p>



# ДЛЯ НОТАТОК

---

# ДЛЯ НОТАТОК

---

# ДЛЯ НОТАТОК

---

*Навчальне видання*

**Олександр Георгійович  
НЕВИНСЬКИЙ**

**ПРАКТИЧНІ ЗАНЯТТЯ З  
БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ. ЧАСТИНА І.  
ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ  
МЕТАБОЛІЗМУ. МЕТАБОЛІЗМ  
ВУГЛЕВОДІВ, ЛІПІДІВ ТА ЙОГО  
РЕГУЛЯЦІЯ**

*Методичні рекомендації*

**Випуск 432**

---

Редактор, технічний редактор *О. Михайлова*  
Комп'ютерна верстка, дизайн обкладинки *К. Гросу-Грабарчук*  
Друк *С. Волинець*. Фальцювальньо-палітурні роботи *О. Мішалкіна*.

Підп. до друку 26.02.2024.  
Формат 60x84<sup>1/16</sup>. Папір офсет.  
Гарнітура «Times New Roman». Друк ризограф.  
Ум. друк. арк. 14,2. Обл.-вид. арк. 8,3.  
Тираж 50 пр. Зам. № 6697.

Видавець і виготовлювач: ЧНУ ім. Петра Могили.  
54003, м. Миколаїв, вул. 68 Десантників, 10.  
Тел.: 8 (0512) 50–03–32, 8 (0512) 76–55–81,  
e-mail: rector@chmnu.edu.ua.  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 6124 від 05.04.2018.