

**ВВЕДЕННЯ В БІОХІМІЮ.
БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ КЛІТИНИ.
ОСНОВИ БІОКАТАЛІЗУ.
БІОХІМІЯ ФЕРМЕНТІВ**

*Методичні вказівки
для самостійної роботи студентів 2-х курсів
за спеціальностями «Медицина» та «Стоматологія»*

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

ВВЕДЕННЯ В БІОХІМІЮ.
БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ КЛІТИНИ.
ОСНОВИ БІОКАТАЛІЗУ.
БІОХІМІЯ ФЕРМЕНТІВ

Методичні вказівки
для самостійної роботи студентів 2-х курсів
за спеціальностями «Медицина» та «Стоматологія»

Затверджено
Вченою радою ХНМУ
Протокол № 16 від 27.11.2025.

Харків
ХНМУ
2025

Введення в біохімію. Біохімічні компоненти клітини. Основи біокаталізу. Біохімія ферментів : метод. вказ. для самот. роботи студ. 2-х курсів за спец. «Медицина» та «Стоматологія» / упоряд. О. А. Наконечна, Р. О. Бачинський, Н. В. Ярмиш, І. М. Васильєва. Харків : ХНМУ, 2025. 40 с.

Упорядники О. А. Наконечна
 Р. О. Бачинський
 Н. В. Ярмиш
 І. М. Васильєва

ЗАНЯТТЯ 1 (4 год)

ТЕМА 1 (2 год). Введення в біохімію. Розвиток біохімії як науки. Біохімічні компоненти клітини. Особливості роботи в біохімічній лабораторії

Актуальність. Біохімія – це наука про молекулярну сутність життя. Вона вивчає хімічну природу речовин, що входять до складу живих організмів, їх перетворення, а також зв'язок цих перетворень з діяльністю клітин, органів і тканин організму в цілому. Біохімія, що вивчає хімічні основи життєдіяльності організмів у нормі та при патології, має важливе практичне значення для медицини.

Мета. Вивчити етапи становлення біохімії як фундаментальної медико-біологічної науки та визначити роль біохімічних досліджень функціонального стану організму людини в нормі та при патології. Вивчити основні біохімічні функції класів біомолекул клітин організму. Засвоїти правила з техніки безпеки при роботі в біохімічній лабораторії.

Теоретичні питання

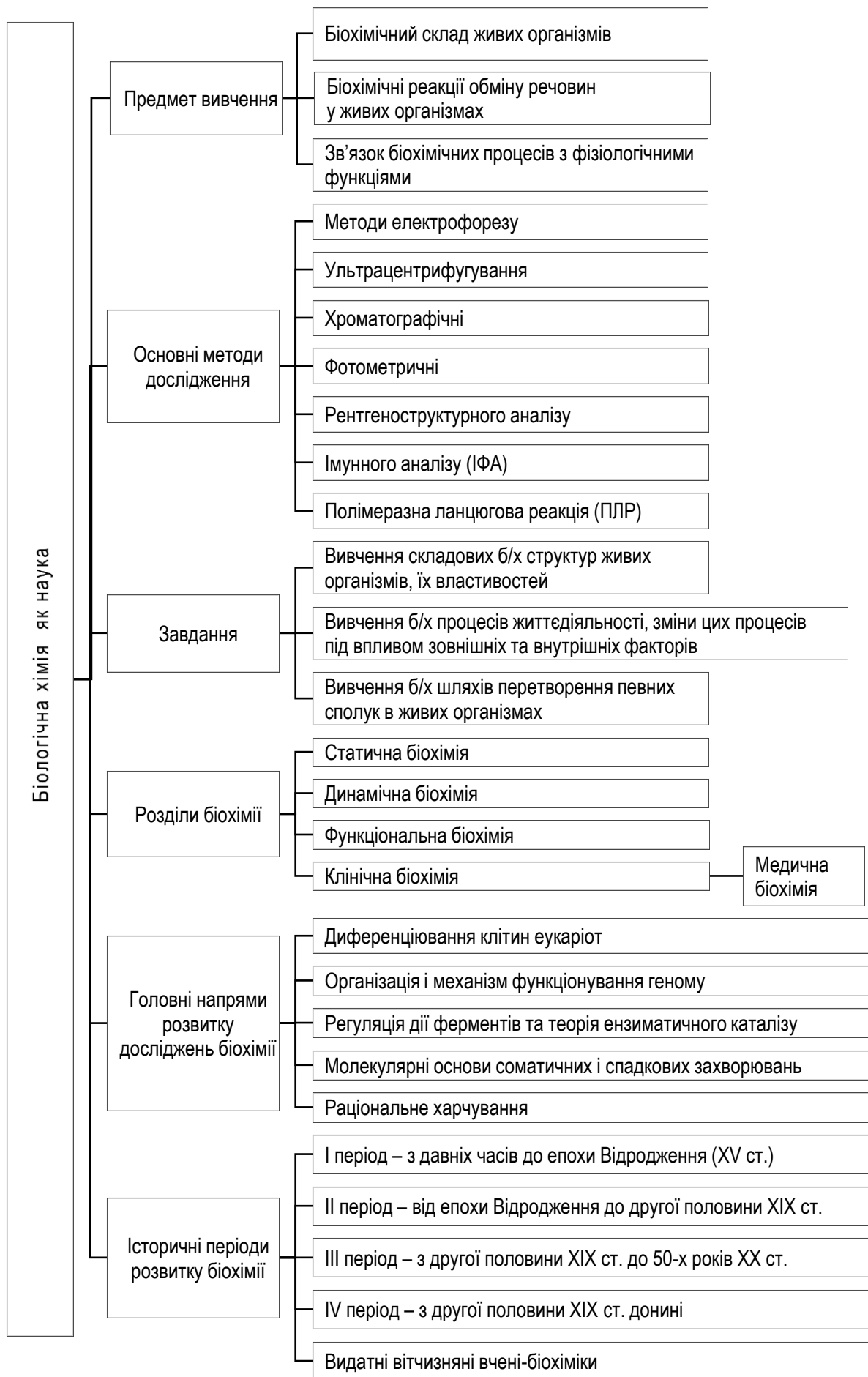
1. Біологічна хімія як наука. Предмет, завдання, основні історичні етапи і сучасні напрямки розвитку біохімії. Основні розділи біохімії: статична, динамічна, функціональна біохімія, медична та клінічна біохімія.
2. Мета і методи проведення біохімічних досліджень, їх клініко-діагностичне значення.
3. Зв'язок біохімії з іншими медико-біологічними науками. Клінічна біохімія. Біохімічна лабораторна діагностика.¹
4. Світова історія біохімії та розвиток біохімічних досліджень в Україні.¹
5. Хімічний склад живих організмів, його особливості порівняно з об'єктами неживої природи. Хімічний склад організму людини.¹
6. Біохімічні компоненти клітини. Біомолекули (білки, вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти, гормони, вітаміни тощо), їх біохімічні функції.¹
7. Будова прокариотичних та еукариотичних клітин.¹
8. Аутотрофні та гетеротрофні організми.¹

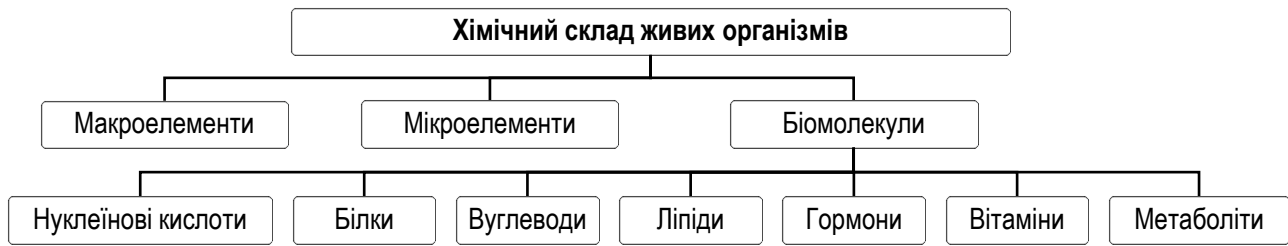
Питання до контролю вихідного рівня знань

1. Загальні поняття біоорганічної хімії: полярність, гідрофобність і гідрофільність органічних молекул; кислотні, основні і амфотерні властивості органічних молекул.
2. Характерні особливості структури спиртів, альдегідів, кетонів, карбонових кислот та амінів.
3. Структура окремих представників класів органічних речовин: етанол, гліцерол; оцтова, бурштинова, фумарова, пальмітинова, олеїнова, піровиноградна, шавлевооцтова, кетоглутарова, молочна, яблучна кислоти; оцтовий альдегід, ацетон, етаноламін, холін.
4. Механізм утворення естерів на прикладі триацилгліцеролів, їх біологічна роль.
5. Загальні уявлення про ліпіди та їх класифікацію. Біологічна роль різних класів ліпідів.
6. Особливості структури і біологічна роль моносахаридів (глюкози, фруктози, галактози, рибози, дезоксирибози), олігосахаридів (лактози, сахарози, мальтози), полісахаридів (крохмалю, глікогену, целюлози).
7. Класифікації та властивості α -амінокислот. Структура окремих представників (гліцин, аланін, цистеїн, серин, глутамінова кислота, лізин, фенілаланін, триптофан, метіонін).
8. Білки: механізм утворення пептидного зв'язку, рівні структурної організації, біологічна роль.
9. Нуклеїнові кислоти, нуклеозиди, нуклеотиди: особливості структури і складу. Біологічна роль.

¹ Питання для самостійного вивчення.

ГРАФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ТЕМИ





Словник ключових наукових термінів

Доядерні або **прокаріоти** (*Prokaryotes*, від давньогрецького *pro-* перед + *karyon* горіх або ядро, посилаючись на ядро клітини + суфікс *-otos*, рл. *-otes*; також може писатися як «procaaryotes») – організми без ядра клітини; здебільшого також без жодних інших мембранних органел, як-от мітохондрії чи ендоплазматичний ретикулум (але є винятки).

Еукаріоти (інколи **евкаріоти**, від грец. *εὖ-* – повністю, добре й грец. *Κάρυον* – ядро) або **ядерні** (лат. *Eukaryota* Whittaker & Margulis, 1978) – домен одно- та багатоклітинних організмів, що характеризуються переважно полігеномними клітинами, морфологічно сформованим ядром та наявністю мембранних субклітинних органел.

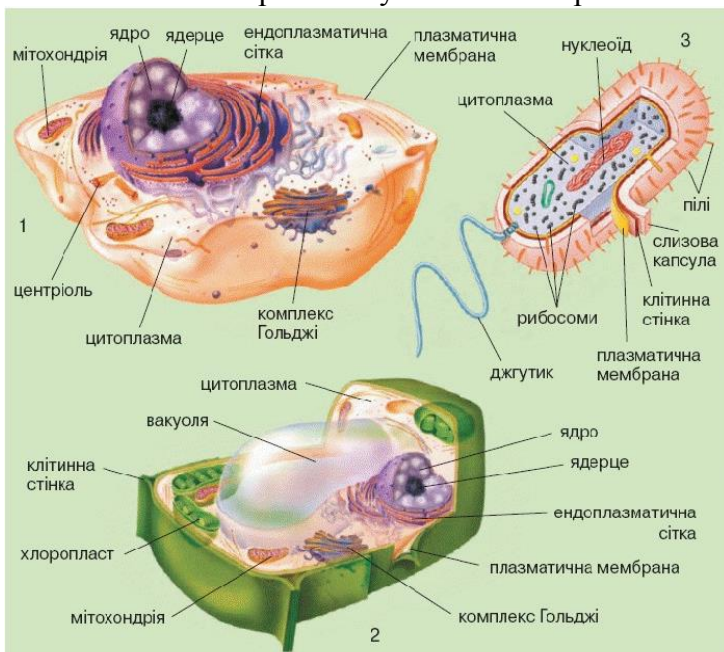


Рис. 1. Будова клітин: тваринної (1); рослинної (2); бактеріальної (3)

Відмінність між еукаріотичною та прокаріотичною клітиною

Ознаки	Прокаріоти	Еукаріоти
Розміри клітини	Діаметр у середньому складає 0,5–5,0 мкм	Діаметр зазвичай складає до 40 мкм; об'єм клітини у 1000–10 000 разів більший, ніж у прокаріот
Форма	Одноклітинні	Одноклітинні і багатоклітинні
Генетичний матеріал	Кільцева ДНК знаходиться в цитоплазмі і нічим не захищена. Ядра, хромосом і ядерця немає	Є оформлене ядро, в якому лінійні молекули ДНК зв'язані з білками і РНК і утворюють хромосоми. Всередині ядра знаходиться ядерце

Бактерії (Bacteria, від гр. *βακτήριον* – паличка) – одна з основних груп живих організмів. До кінця 1970-х років термін «бактерії» був синонімом прокаріотів, але в 1977 році на підставі даних молекулярної систематики прокаріоти були розділені на царства Архебактерій (Archeobacteria) і Еубактерій (Eubacteria). Згодом, щоб підкреслити відмінності між ними, вони були перекласифіковані на домени Археї і Бактерій відповідно. Бактерії – мікроскопічні, переважно одноклітинні, організми, для яких характерна наявність клітинної стінки, цитоплазми, різних включень, відсутність ядра, мітохондрій, пластид та інших органел (рис. 2). Більшість з них дуже малі, зазвичай тільки 0,5–5,0 мкм.

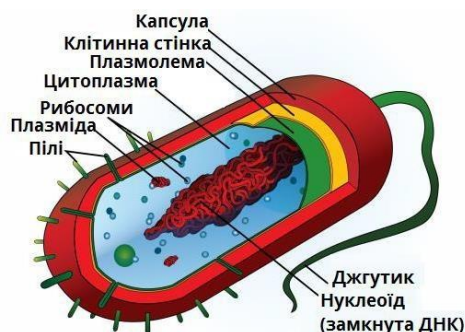


Рис. 2. Структура клітини бактерії – одної з двох груп прокаріотичного життя

Археї (лат. *Archaea*, від грец. *αρχαία* – «старі», також **архебактерії** – *Archaeobacteria*) – одна з груп живих організмів, до якої належать мікроскопічні одноклітинні прокаріоти, що дуже відрізняються від справжніх бактерій (еубактерій) низкою фізіолого-біохімічних ознак (рис. 3).

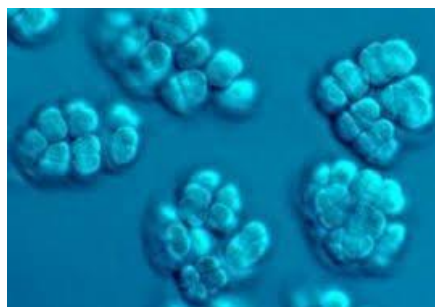


Рис. 3. Археї

Протисти (дав. гр. *πρωτίστος*) (Protista) – парафілетична група різноманітних еукаріотичних організмів, що не входять до складу тварин, рослин, і грибів. Традиційно протисти поділяють на найпростіших (Protozoa), водоростей (Algae) і грибоподібних організмів (рис. 4).

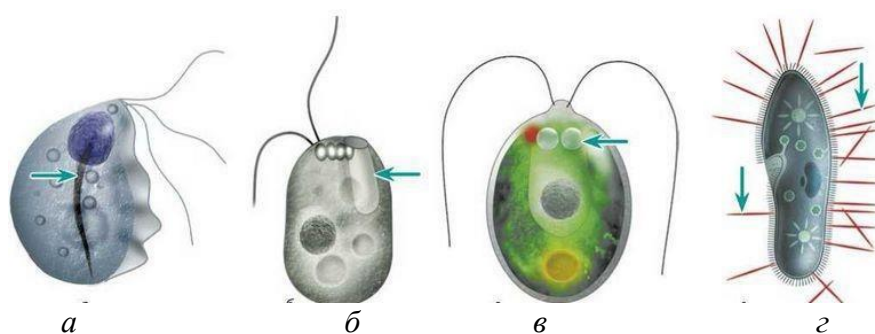


Рис. 4. Спеціалізовані органели протистів:

- а* – аксостиль, органела опори у трихомонади;
- б* – цитостом, органела живлення у евглени (гіомонади);
- в* – скоротлива вакуоля, органела виділення у хламідомонади;
- г* – трихоцисти, органели захисту в інфузорії (у вільному стані)

Порівняльна характеристика автотрофів і гетеротрофів

№	Відмінні ознаки	Автотрофи	Гетеротрофи
1	Походження назви	Грец. <i>autos</i> – сам + <i>trophe</i> – їжа, живлення	Грец. <i>heteros</i> – інший + <i>trophe</i> – їжа, живлення
2	Синтез органічних речовин з неорганічних	Здатні	Не здатні
3	Джерело вуглецю	Вуглекислий газ і карбонати	Вуглекислий газ і карбонати
4	Спосіб отримання енергії	Використовують сонячну і хімічну енергію	Використовують енергію готових органічних речовин
5	Роль в екосистемах	Продуценти	Консументи, редуценти
6	Представники	Всі зелені рослини, деякі бактерії	Більшість бактерій, гриби, деякі вищі паразитичні рослини, тварини, людина

Імуноферментний аналіз (ІФА) – імунологічний метод для визначення речовин із низькою та дуже низькою концентрацією за утворенням антитіл. Основою цього методу є реакція «антиген–антитіло», тобто специфічне зв'язування антитіла з певною речовиною. При цьому один із компонентів, кон'югованих із ферментом, у результаті реакції з відповідним хромогенним субстратом утворює забарвлений продукт. За допомогою імуноферментного аналізатора спектрофотометрично визначається шукана в матеріалі сполука або речовина. Об'єктами дослідження ІФА є як низькомолекулярні, так і високомолекулярні сполуки, віруси і бактерії. Даний метод дозволяє ідентифікувати такі біологічно активні речовини організму людини, як: гормони, ферменти, нейропептиди, продукти імунної системи та інші, а також призначений для виявлення чужорідних антигенів та антитіл.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – це високоспецифічний метод експрес-діагностики, що дозволяє множити певні нуклеотидні послідовності до утворення необмеженого числа копій генів у таких кількостях, які можна виявити методом молекулярної гібридизації за допомогою електрофорезу. ПЛР базується на багатократному повторюванні циклів синтезу (ампліфікації) специфічної ділянки ДНК–мішені з дезоксинуклеозидтрифосфатів у присутності термостабільної ДНК-полімерази, відповідного сольового буфера та олігонуклеотидних затравок (праймерів), що визначають кордони ампліфікованої ділянки ДНК–мішені. ПЛР застосовується в клініці для діагностики гонореї, трихомоніазу, цитомегаловірусу, мікоплазмозу, уреоплазмозу, герпесу тощо.

Електрофорез – метод розділення заряджених частинок в електричному полі, метод розділення великих заряджених органічних молекул (білків, нуклеїнових кислот), у якому використовується різниця електрофоретичних швидкостей їхнього руху в нерухомій рідкій фазі.

ПРИКЛАДИ ТЕСТІВ ТА СИТУАЦІЙНИХ ЗАВДАНЬ ІЗ АЛГОРИТМАМИ ВИРІШЕННЯ

1. Що використовують для кількісного розділення і визначення відносного вмісту кожної амінокислоти в гідролізаті білків?

A. Електрофорез.*

D. Ультрацентрифугування.

B. Розподільну хроматографію.

E. Гель-фільтрацію.

C. Іонообмінну хроматографію.

2. Лікар призначив пацієнту аналіз білкових фракцій крові. У лабораторії був використаний метод електрофорезу. Яка властивість білків дає змогу застосовувати даний метод?

A. Наявність електричного заряду.*

D. Здатність до набухання.

B. Оптична активність.

E. Висока в'язкість.

C. Високий онкотичний тиск.

3. Катіонні глікопротеїни є основними компонентами слини привушних залоз. Які амінокислоти зумовлюють їх позитивний заряд?

A. Лізин, аргінін, гістидин.*

D. Глутамат, валін, лейцин.

B. Аспартат, глутамат, гліцин.

E. Цистеїн, гліцин, пролін.

C. Аспартат, аргінін, глутамат.

* правильна відповідь

4. В клініку доставлено хворого у важкому стані після отруєння солями п्लомбуму. Яка з перелічених речовин може застосовуватися як акцептор п्लомбуму і таким чином зменшувати інтоксикацію організму?

A. Розчин білка.*

B. Вода.

C. Анальгетики.

D. Розчин глюкози.

E. Фізіологічний розчин.

Завдання 1. Чому по-різному взаємодіють із реактивом Фелінга глюкоза і лактоза, з одного боку, та сахароза, з іншого?

Реакцію Фелінга досить часто використовують для виявлення моносахаридів у біологічних рідинах.

Реактив Фелінга, так само як і аміачний розчин оксиду аргентуму, служить для якісного визначення альдегідної групи в цукрах. Глюкоза і лактоза є альдогексозами, тобто мають вільну альдегідну групу, тому при нагріванні до кипіння розчинів глюкози або лактози з реактивом Фелінга спостерігають утворення червоного осаду. У дисахариді сахарозі альдегідна група задіяна в утворенні глікозидного зв'язку, тому сахароза не взаємодіє з реактивом Фелінга.

Завдання 2. Якою є якісна реакція на крохмаль? Зробити висновки.

Крохмаль взаємодіяє зі спиртовим розчином йоду. При цьому з'являється характерне темно-синє забарвлення. Це називають йодо-крохмальною пробою. З хімічної точки зору крохмаль складається з двох фракцій: амілози (20–30 %) і амілопектину (70–80 %), сильно розгалужений полімер, утворює спіраль.

Молекули йоду проникають у кристалічну структуру амілози і амілопектину та змінюють забарвлення амілози на синьо-фіолетовий, а амілопектину – на фіолетово-червоний колір. Саме тому, якщо капнути розчин йоду на картоплю, вона забарвлюється інтенсивно темно-синім кольором.

Завдання 3. Як і чому зміниться колір розчину KMnO_4 при додаванні олеїнової кислоти?

Олеїнова кислота є одноосновною вищою мононенасиченою карбоною кислотою. У слабо-кислотному середовищі калій перманганат окислює подвійний зв'язок більшості сполук до гліколей (реакція Вагнера), відновлюючись при цьому до манган(IV) оксиду – знебарвлення розчину KMnO_4 .

ІНСТРУКЦІЯ

з техніки безпеки при роботі в лабораторіях кафедри біохімії ХНМУ

Загальні правила

1. Всі роботи в лабораторії проводити у робочому одязі – халаті та шапочці. Під час роботи з реактивами звертати увагу на напис на етикетці.
2. Усі процедури (відмірювання реактивів, їх переливання, нагрівання тощо) дозволяється проводити лише на хімічному столі або у витяжній шафі.
3. Не проводити реакцій, результат яких невідомий.
4. Усі досліди з отрутами і речовинами з різким або неприємним запахом проводити у витяжній шафі («під тягою»).
5. Не пересуватися лабораторією з концентрованими кислотами – наливати їх слід лише у спеціально відведеному для цього місці.
6. Під час розпізнавання за запахом газу, що виділяється, вдихати його лише здалеку, спрямовуючи струмінь повітря рухом руки від посудини до себе.
7. Не забруднювати реактиви під час роботи (не плутати пробки від склянок, що містять різні реактиви; надлишок реактиву не виливати назад у склянку; користуючись піпеткою, набирати кожен реактив лише призначеною для нього піпеткою, ніколи не плутаючи їх).
8. Після роботи поставити реактиви на місце, вимити посуд, прибрати робочий стіл.
9. Після завершення роботи обов'язково вимити руки.
10. Не приймати їжу на робочому місці.
11. У разі виникнення пожежі в лабораторії загасити полум'я, прикривши його тканиною або засипавши піском.

Робота з кислотами, лугами та іншими сильнодіючими реактивами

1. Уважно стежити, щоб реактиви (особливо кислоти та луги) не потрапляли на обличчя, руки чи одяг.
2. Усі роботи з використанням кислот, лугів та інших сильнодіючих реактивів проводити максимально уважно й обережно.
3. Забороняється відмірювати сильні кислоти і луги (10 %-ві і вище), а також інші сильнодіючі реактиви шляхом всмоктування їх ротом у піпетку – це може призвести до хімічного опіку порожнини рота. Відмірювання таких реактивів здійснювати за допомогою груші, мірного циліндра або крапельниці.
4. Під час відмірювання реактиву піпеткою занурювати її до самого дна склянки.
5. Після відмірювання реактиву піпеткою не класти її на стіл, а опустити у посудину для промивання.
6. Відпрацьовані горючі рідини збирати у спеціальну герметичну тару для подальшої регенерації або знешкодження. Злив реактивів у каналізацію заборонено.
7. З метою уникнення контакту з інфекційними збудниками бактеріального чи вірусного походження (зокрема SARS-CoV-2) перебувати в лабораторії слід у респіраторі або масці, а практичну роботу виконувати в гумових чи латексних рукавичках.
8. Під час заняття мобільні телефони повинні бути вимкнені.
9. Якщо реактив потрапив у ротову порожнину або на шкіру, уражене місце промити водою, а потім нейтралізувати 3 %-им розчином Na_2CO_3 (у разі потрапляння кислоти) або 3 %-им розчином оцтової кислоти (у разі потрапляння лугу).
10. Якщо реактив потрапив на стіл, нейтралізувати кислоту содою, а луг – слабким розчином оцтової кислоти, після чого протерти поверхню водою.

Робота з відкритим полум'ям

1. Під час нагрівання рідини тримати пробірку отвором від себе, не торкатися пробіркою гнота, що горить. Завжди бути обережними при нагріванні, щоб уникнути вихлюпування рідини (періодично відводити пробірку від полум'я, не нагрівати її у вертикальному положенні). Не наближати обличчя до посудини, в якій нагрівається рідина.
2. При закипанні рідини в пробірці негайно винести її з полум'я.
3. Під час тривалого кип'ятіння користуватися спеціальними затискачами для пробірок.
4. У разі опіку шкіри накласти на уражене місце вату, змочену спиртом.

Робота з електронагрівальними приладами

1. Поблизу електронагрівальних приладів не повинні знаходитися горючі речовини (ефір, бензин, спирт тощо).
2. Колбочки з киплячою рідиною знімати з плитки лише за допомогою спеціальних затискачів.
3. Не торкатися електроприладів мокрими руками.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вітаміни та їхні похідні беруть участь в обміні речовин як:
 - A. Ферменти.
 - B. Коферменти.
 - C. Гормони.
 - D. Окисники.
 - E. Відновники.
2. В організмі йони кальцію беруть участь у:
 - A. Синтезі статевих гормонів.
 - B. Перенесенні кисню.
 - C. Згортанні крові.
 - D. Перенесенні вуглекислого газу.
 - E. Структурі гемоглобіну.
3. До складу яких молекул входить фосфор, необхідний для всіх живих організмів?
 - A. Моносахаридів.
 - B. Жирів.
 - C. Полісахаридів.
 - D. Нуклеїнових кислот.
 - E. Поліпептидів.

4. До якої групи належать біологічно активні речовини: тіамін, рибофлавін, піридоксин?
A. Амінокислоти. D. Нейромедіатори.
B. Гормони щитоподібної залози. E. Ферменти.
C. Вітаміни.
5. Рослинну клітину помістили в концентрований розчин кухонної солі. Процес, що відбувається під час цього в клітині, це:
A. Плазмоліз. C. Деплазмоліз. E. Гемоліз.
B. Піноцитоз. D. Фагоцитоз.
6. Під час обстеження ендокринолог виявив, що в організмі пацієнта гормон тироксин виробляється менше від норми. Причиною цього може бути недостатнє надходження з їжею чи водою:
A. Флуору. C. Феруму. E. Калію.
B. Кальцію. D. Йоду.
7. Регулярне вживання в їжу продуктів із низьким умістом йоду може спричинювати виникнення:
A. Флюорозу. C. Рахіту. E. Панкреатиту.
B. Ендемічного зоба. D. Поліомієліту.
8. В організмі людини майже 99 % кількості цього хімічного елемента входить до складу нерозчинних солей, забезпечуючи, зокрема, опорну функцію. Його іони також беруть участь у регуляції скорочень скелетних м'язів, діяльності серця. Укажіть цей хімічний елемент.
A. Калій. C. Силіцій. E. Стронцій.
B. Натрій. D. Кальцій.
9. Атоми нітрогену й фосфору є складниками молекули:
A. Пірвіноградної кислоти. D. АТФ.
B. Глікогену. E. Метіоніна.
C. Глюкози.
10. Назвіть ліпідні сполуки, що є структурними компонентами клітинних мембран.
A. Воски. C. Стероїди. E. Нуклеотиди.
B. Жири. D. Фосфоліпіди.
11. Які з наведених біомолекул не є полімерами?
A. ДНК. C. Вітаміни. E. Гетерополісахариди.
B. Білки. D. РНК.
12. Який з наведених хімічних елементів не є макроелементом?
A. Карбон. C. Оксиген. E. Фосфор.
B. Ферум. D. Нітроген.
13. Які елементи входять до складу живих організмів у найбільшій кількості?
A. Оксиген, силіцій, алюміній, ферум. D. Нітроген, фосфор, сульфур, карбон.
B. Гідроген, силіцій, оксиген, алюміній. E. Натрій, калій, кальцій, хлор.
C. Гідроген, оксиген, карбон, нітроген.
14. Яка спільна характерна ознака прокаріотів і еукаріотів?
A. Наявність ядра.
B. Наявність мітохондрій.
C. Збереження спадкової інформації за допомогою нуклеїнових кислот.
D. Подвійність ядерної мембрани.
E. Однаковий розмір клітин.

Завдання 1. Назвіть предмет вивчення і завдання біохімії. Охарактеризуйте основні напрями та розділи біохімії: статична, динамічна, функціональна біохімія, медична та клінічна біохімія.

Завдання 2. Назвіть і охарактеризуйте історичні періоди розвитку біохімії.

Завдання 3. Біомолекули (білки, вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти, гормони, вітаміни, метаболіти), їх біохімічні функції.

ТЕМА 2 (2 год). Основи біокаталізу. Будова і фізико-хімічні властивості ферментів. Класифікація та номенклатура ферментів. Вивчення впливу температури та рН середовища на активність ферментів.

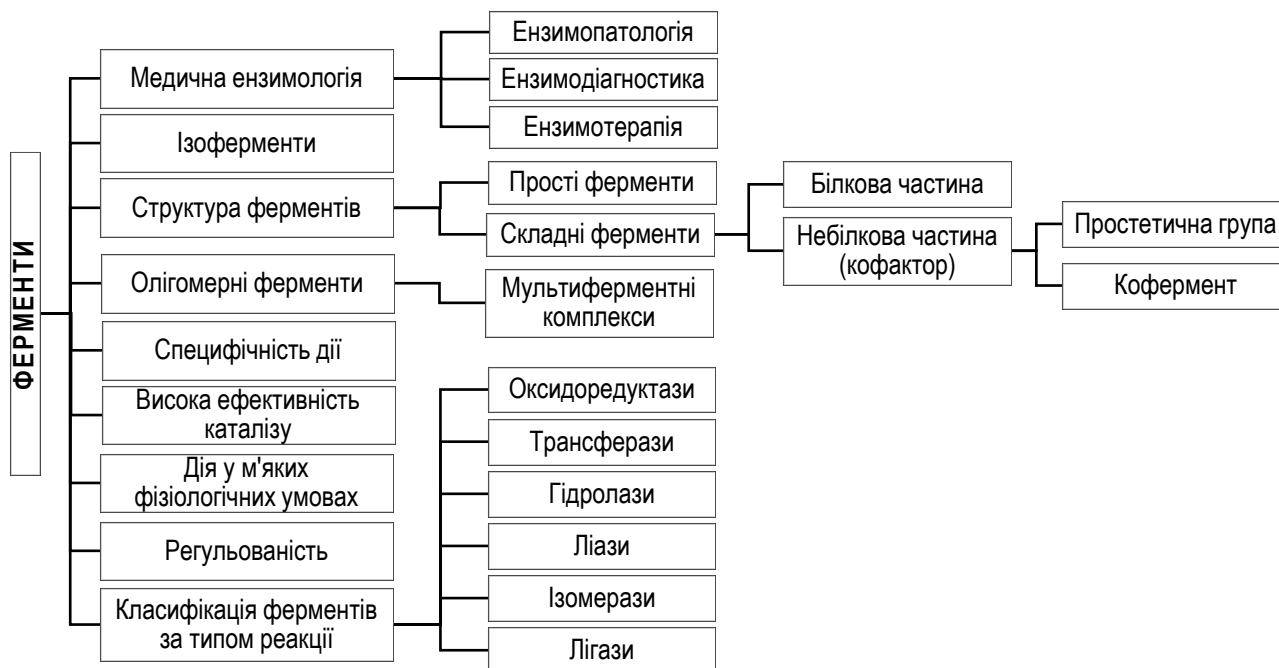
Актуальність. Ферменти (ензими) – біологічні каталізатори, які містяться в усіх клітинах, тканинах і біологічних рідинах, забезпечують перебіг хімічних реакцій в організмі. На відміну від неорганічних каталізаторів (металів, кислот тощо) ферменти мають високу ефективність та специфічність дії, здатність прискорювати реакції у м'яких умовах. Ферменти термолабільні, їх активність залежить від рН середовища. Синтез та каталітична активність ферментів контролюється різними регуляторними механізмами. Сучасні методи виділення та очищення ферментів дозволили вивчити їх структуру, умови прояву активності, механізм дії. Ферментам належить провідна роль в діагностиці захворювань.

Мета. Визначити основні принципи каталізу. Вивчити біохімічні закономірності будови та функціонування різних класів ферментів. Вміти показати на прикладах відмінність ферментів від неорганічних каталізаторів (специфічність дії, висока ефективність каталізу, здатність діяти в м'яких умовах, регульованість та ін.). Вивчити вплив температури та рН середовища на активність α -амілази слини.

Теоретичні питання

1. Загальні уявлення про каталіз. Основні принципи каталізу.
2. Теорія біологічного каталізу.
3. Хімічна природа ферментів. Чим зумовлена різноманітність ферментів?
4. Відмінність дії ферментів від неорганічних каталізаторів.
5. Структура простих і складних ферментів. Поняття про апофермент, кофактор, кофермент і простетичну групу. Вітамінні кофактори. Особливості структури активного центру простих і складних ферментів. Алостеричний центр.
6. Загальні властивості ферментів: термолабільність, залежність від рН, специфічність дії.
7. Олігомерні білки-ферменти, мультиензимні комплекси та мембрано-асоційовані ферменти.¹
8. Ізоферменти: особливості структури, локалізація синтезу в організмі людини (на прикладі ізоферментів лактатдегідрогенази, креатинфосфокінази; роль в діагностиці захворювань).¹
9. Класифікація і номенклатура ферментів. Характеристика типів хімічних реакцій, що лежать в основі класифікації ферментів.

ГРАФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ТЕМИ



Словник ключових наукових термінів

Каталіз – зміна швидкості реакції під впливом невеликих добавок специфічних речовин, кількість яких в ході реакції не змінюється.

Енергія активації (ЕА) – мінімальна енергія, яка необхідна для протікання реакції (рис. 5).

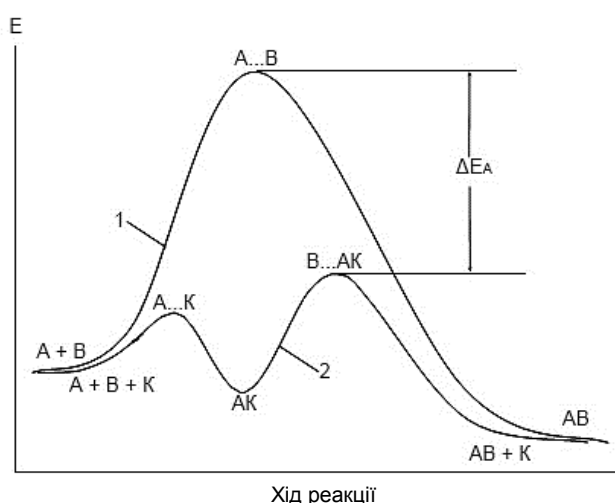


Рис. 5. Зменшення енергії активації під дією каталізатора

Ферменти – специфічні речовини білкової природи, присутні у тканинах і клітинах усіх живих організмів і здатні у багато разів прискорювати хімічні реакції, що протікають у них. За хімічною природою ферменти – це білки, виключення – рибозими (пре-іРНК).

Прості, або однокомпонентні, ферменти містять у своєму складі тільки амінокислоти. Наприклад, пепсин, трипсин, лізоцим, уреаза. **Складні ферменти (холоферменти)** (рис. 6) мають у своєму складі білкову частину, яка складається з амінокислот – **апофермент**, і небілкову частину – **кофактор**. Молекулярний комплекс білкової частини апоферменту та кофактора називається **холоферментом**.

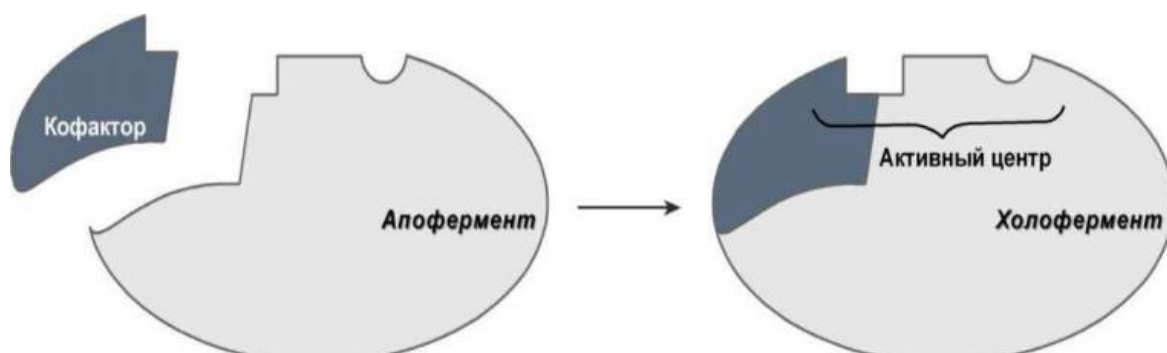


Рис. 6. Схема формування складного ферменту (холоферменту)

Кофактори – біоорганічні сполуки небілкової природи, що є необхідними для здійснення каталітичної активності ферменту, тобто перетворення субстрату в каталітичному акті. Органічні кофактори зазвичай називають **коферментами**, більшість з них є похідними вітамінів.

Схожість та відмінність ферментів і неорганічних каталізаторів

Схожість	Відмінність
1. Каталізують тільки енергетично можливі реакції.	1. Висока швидкість ферментативної реакції.
2. Не змінюють напрямку реакції.	2. Висока специфічність.
3. Прискорюють настання рівноваги реакції, але не зрушують її.	3. Проявляють активність у м'яких умовах.
4. Не витрачаються у процесі реакції	4. Можливість регулювання швидкості реакції.
	5. Швидкість ферментативної реакції пропорційна кількості ферменту.
	6. Ферменти є білками, що мають велику Мг (від 10 тис. до 1 млн а.о.м.).

Олігомерні білки-ферменти складаються з декількох поліпептидних ланцюгів (субодиниць, протомерів), сполучених між собою нековалентними зв'язками (рис. 7).

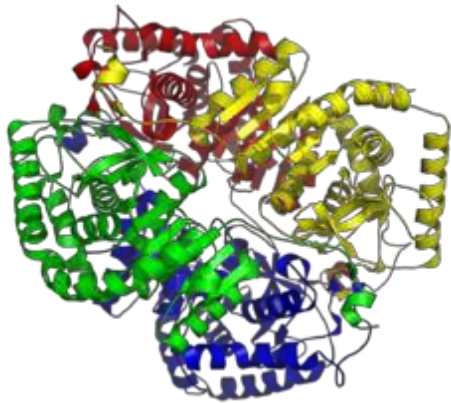


Рис. 7. Олігомерний білок-фермент лактатдегідрогеназа (ЛДГ)

Мультиензимні (поліферментні) комплекси каталізують реакції послідовного перетворення субстрату (рис. 8). Біологічний сенс об'єднання декількох ензимів у комплекс: різко скорочуються відстані, на які молекули проміжних продуктів повинні переміщатися від ферменту до ферменту; внаслідок цього забезпечується досить висока сумарна швидкість метаболічних шляхів.

Типи у клітині:

- розчинні мультиензимні комплекси, в яких відсутня постійна асоціація між ензимами, а субстрати та продукти реакцій дифундують між окремими ензимами;
- мультиензимні комплекси, в яких ензими сполучені між собою нековалентними зв'язками, що полегшує передавання між ними субстратів та продуктів;
- мультиензимні комплекси, в яких окремі ензими зв'язані з ліпідним бішаром субклітинних органел.

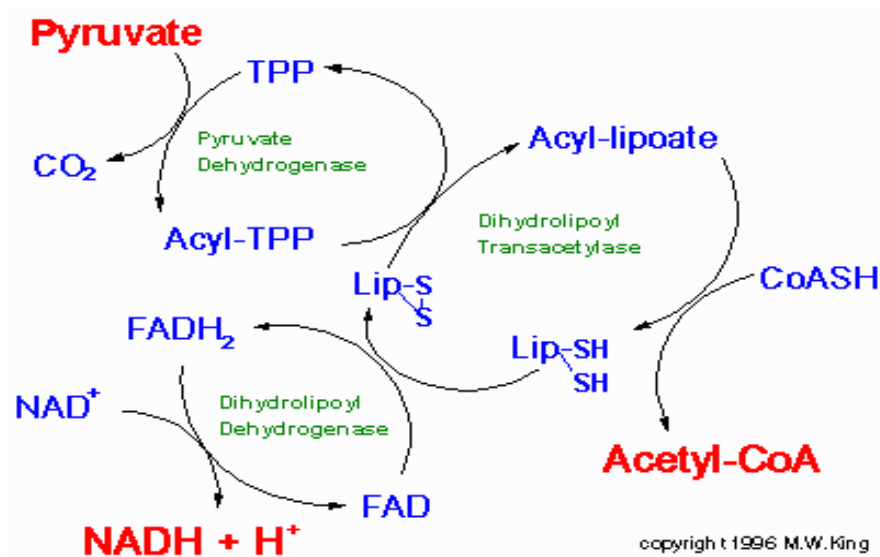


Рис. 8. Піруватдегідрогеназний комплекс

Мембрано-асоційовані ферменти – це ферменти, асоційовані з ліпідним бішаром плазматичної мембрани та мембранами клітинних органел (мітохондрій, ЕПР тощо).

Асоціація ферментів з мембранами забезпечує: їх локалізацію у визначеній частині клітини і/або у тій області мембрани, де концентрується субстрат (наприклад, ацетилхолінестераза у пресинаптичних мембранах, де концентрується ацетилхолін); можливість для спряження процесів каталізу та трансмембранного переносу (Na^+ , K^+ -АТФаза) (рис. 9); доступність нерозчинних у воді субстратів (наприклад, протеїнкіназа С, піруватоксидаза, фосфоліпази); формування оптимального мікрооточення, що створює нативну конформацію та каталітичну активність мембрано-асоційованих ферментів.

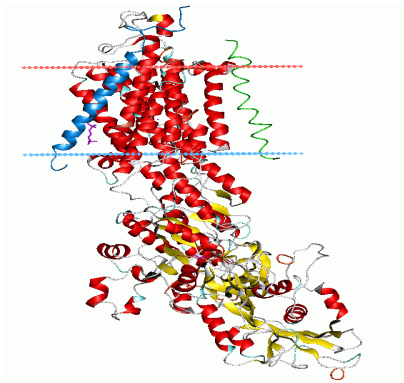


Рис. 9. Натрій-калієва аденозинтрифосфатаза (Na⁺, K⁺-АТФаза)

Ізоферменти (ізоензими) – це множинні молекулярні форми одного й того ж ферменту, які розрізняються за своєю первинною структурою, фізико-хімічними властивостями, умовами активації, але каталізують одну й ту ж біохімічну реакцію. Ізоферменти – результат експресії різних генетичних локусів.

Олігомерна будова:

– лактатдегідрогеназа (ЛДГ) – тетрамер; має протомери двох типів: Н (серцевий) і М (м'язовий): ЛДГ1 (Н₄), ЛДГ2 (Н₃М₁), ЛДГ3 (Н₂М₂), ЛДГ4 (Н₁М₃), ЛДГ5 (М₄) → визначення активності ізоформ у крові має діагностичне значення (ЛДГ1,2 – інфаркт міокарда, ЛДГ4,5 – інфекційний або токсичний гепатит; цироз печінки);

– креатинфосфокіназа (КФК, КК) – димер (*рис. 10*); має протомери двох типів: М (м'язовий) і В (мозковий): ВВ-ізоформа КФК (мозок), МВ-ізоформа КФК (серце), ММ-ізоформа КФК (м'язи) → визначення активності ізоформ у крові має діагностичне значення (МВ-КФК – інфаркт міокарда; ММ-КФК – травматичне ураження м'язів та м'язові дистрофії; ВВ-ізоформа КФК не має діагностичного значення, що пов'язано з непроходженням через гематоенцефалічний бар'єр).

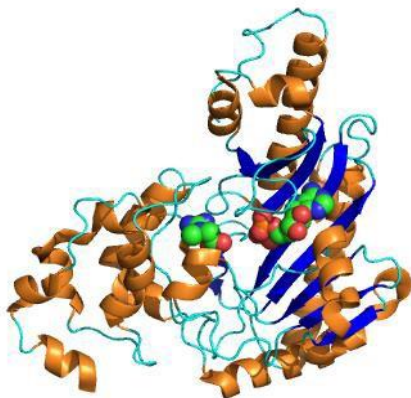


Рис. 10. Креатинфосфокіназа (КФК, КК)

Та частина молекули ферменту, яка сполучається із субстратом, називається **активним центром ферменту** (*рис. 11*). В активному центрі ферменту умовно розрізняють так звану **каталітичну ділянку**, де відбувається каталітичне перетворення субстрату, і контактну, або **якорну ділянку**, що зв'язує фермент з субстратом.



Рис. 11. Схематичне зображення ділянок активного центру ферменту

У ферментах можуть бути ще так звані **алостеричні центри** (від грец. *Allos* – інший, другий; *stereo* – просторовий, структурний). Алостеричні центри служать місцем впливу на фермент різних регуляторних чинників, тому їх ще називають регуляторними центрами, а речовини, що взаємодіють з алостеричним центром, отримали назву ефекторів (рис. 12).

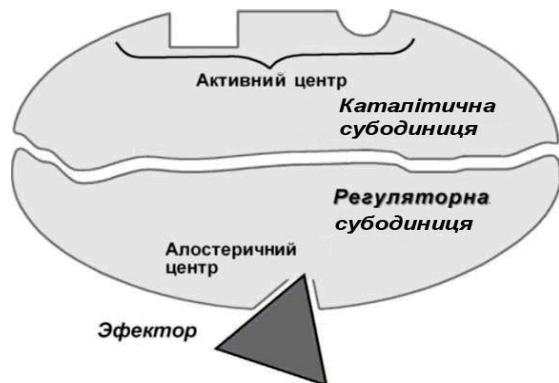


Рис. 12. Схематичне зображення алостеричного ферменту

Класифікація ферментів

№	Клас	Кількість	Тип хімічного перетворення	Приклади ферментів та їх дія
1	Оксидоредуктази	480	Окисно-відновні реакції	Лактатдегідрогеназа – перетворення лактату на піруват. Оксигенази – приєднання молекули кисню до субстрату. Пероксидази – перетворення пероксидних продуктів на окиснений субстрат
2	Трансферази	480	Перенесення функціональних груп від одного субстрату до іншого та іонів крізь біологічні мембрани	Амінотрансфераза – перенесення аміногруп. Піруваткіназа – перенесення фосфатної групи. Na ⁺ , K ⁺ -АТФази – транспорт іонів Na ⁺ , K ⁺ крізь мембрану
3	Гідролази	460	Розрив зв'язків у субстратах з приєднанням води (гідроліз)	АТФаза – гідроліз АТФ. Амілаза – гідроліз вуглеводів. Пепсин – гідроліз білків
4	Ліази	230	Розрив зв'язків у субстратах без приєднання води або окиснення	Піруватдекарбоксилаза – перетворення пірвіноградної кислоти на ацетальдегід і вуглекислий газ
5	Ізомерази	80	Перетворення субстрату на його ізомер	Глюкозофосфатізомераза – перетворення глюкозо-6-фосфату на фруктозо-6-фосфат
6	Лігази (синтетази)	80	Реакції сполучення двох молекул (синтез) з використанням енергії АТФ	Аспарагінсинтетаза – утворення аспарагіну з аспартату і амоніаку

ПРИКЛАДИ ТЕСТІВ ТА СИТУАЦІЙНИХ ЗАВДАНЬ З АЛГОРИТМАМИ ВИРІШЕННЯ

- Ферменти, що розщеплюють білки, відносяться до класу:
 - Оксидоредуктази.
 - Трансферази.
 - Гідролази.*
 - Ліази.
 - Ізомерази.
- Приєднання води по подвійному зв'язку до молекули субстрату каталізує фермент з класу:
 - Оксидоредуктази.
 - Трансферази.
 - Гідролази.
 - Ліаз.*
 - Ізомерази.
- Назва небілкової групи, міцно пов'язаної з білковою частиною ферменту:
 - Шаперони.
 - Холоферменти.
 - Апоферменти.
 - Протетична група.*
 - Гістони.
- Ферменти з класу оксидоредуктази здійснюють:
 - Перенесення електронів.*
 - Перенесення груп атомів.
 - Реакції гідролізу.
 - Приєднання груп по подвійним зв'язкам.
 - Розщеплення по подвійним зв'язкам.

5. Як ферменти впливають на енергію активації реакції?
 А. Збільшують. С. Не змінюють.
 В. Знижують.* D. Спочатку збільшують, а потім знижують.
6. Як ферменти впливають на константу рівноваги реакції?
 А. Збільшують. С. Не змінюють.*
 В. Знижують. D. Спочатку збільшують, а потім знижують.
7. Чим характеризується відносна субстратна специфічність?
 А. Перетворенням субстрату по одному з шляхів.
 В. Взаємодією ферменту тільки з одним субстратом.
 С. Декілька різних перетворень одного й того ж субстрату.
 D. Взаємодією ферменту з групою подібних субстратів.*
 E. Взаємодією тільки з одним із стереоізомерів для даної сполуки.
8. Протомери це:
 А. Попередники активних ферментів. С. Протеолітичні ферменти.
 В. Субодиниці олігомерних білків.* D. Білки, що зв'язуються з нуклеїновими кислотами.
9. Апофермент – це:
 А. Небілкова частина складного ферменту. С. Білкова частина складного ферменту.*
 В. Фермент, пов'язаний з субстратом. D. Інактивований фермент.
10. Трипсин відноситься до класу:
 А. Оксидоредуктази. С. Гідролаз.* E. Ізомерази.
 В. Трансферази. D. Ліази.

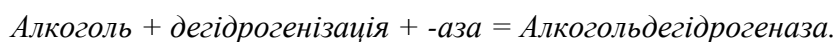
Завдання 1. Пояснити відмінності між коферментом та простетичною групою, навести приклади.

Кофактори – біоорганічні сполуки небілкової природи, що є необхідними для здійснення каталітичної активності ферменту, тобто перетворення субстрату в каталітичному акті. Органічні кофактори зазвичай називають **коферментами**, більшість з них є похідними вітамінів.

Роль **кофакторів** можуть відігравати біоорганічні сполуки різної хімічної природи або іони металів (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Cu^{1+} та інші). Кофактори можуть сполучатися з білковою частиною (апоферментом) міцно, ковалентними зв'язками – в цьому випадку вони є **простетичними групами** ферментного білка (піридоксальфосфат, ліпоева кислота тощо); або утворюють комплекси з апоферментом лише в ході каталітичного процесу за допомогою нековалентних фізико-хімічних зв'язків – **коферменти** ($НАД^+$, $НАДФ^+$ та інші).

Завдання 2. Пояснити як утворюється систематична та тривіальна назви ферментів, навести приклади.

Назву ферментів за тривіальною номенклатурою утворюють так: спочатку називають *субстрат*, на який діє фермент, потім *тип реакції*, яку він каталізує, і додають закінчення *-аза*. Наприклад, назва ферменту, що каталізує окиснення спиртів, утворюється так:



Для деяких давно відомих ферментів залишають раніше вживані традиційні назви, наприклад: пепсин, трипсин, каталаза, амілаза тощо.

У 1961 р. Міжнародна комісія з номенклатури ферментів представила V Міжнародному біологічному конгресу проект номенклатури, побудований на строго наукових принципах. Проект був затверджений конгресом, і нова номенклатура міцно увійшла до ферментології. Згідно з цією номенклатурою назву ферментів складають з хімічної назви субстрату і назви тієї реакції, яку каталізує фермент. Якщо хімічна реакція, що прискорюється ферментом, супроводжується перенесенням угруповання атомів від субстрату до акцептора, назва ферменту включає також хімічну назву акцептора.

Наприклад, піридоксальфермент, що каталізує реакцію трансамінування між L-аланіном і α -кетоглутаровою кислотою, має назву L-аланін-2-оксоглутарат-амінотрансфераза. У даній назві відмічені одразу три особливості: 1) субстратом є L-аланін; 2) акцептором служить 2-оксоглутарова кислота; 3) від субстрату до акцептора передається аміногрупа.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

Виявлення ферментів у біологічних об'єктах.

Вивчення впливу температури та рН середовища на активність ферментів

Завдання 1. Виявити у слині фермент α -амілазу, який гідролізує крохмаль до дисахариду мальтози та декстринів.

α -Амілаза слини (α -1,4-глюкан-4-глюканогідролаза; КФ 3.2.1.1.), маючи відносну групову специфічність, розщеплює α -1,4-глікозидні зв'язки у полісахаридах і не діє на дисахариди.

Принцип. Про активність ферменту судять за його дією на субстрат: за зникненням субстрату або за появою продуктів його розщеплення. Розщеплення крохмалю виявляють за негативною реакцією з реактивом Люголя (розчин I_2 в KI).

Хід роботи. У пробірку вносять 0,5–1,0 мл слини, додають 3–5 мл 1 %-ого розчину крохмалю, перемішують і ставлять у термостат при 37 °С на 15–20 хв. Після цього у пробірку вносять 3–4 краплі реактиву Люголя.

Завдання 2. Перевірити термолабільність амілази.

Принцип: той же.

Хід роботи. У пробірку вносять 0,5–1 мл слини і додають 1 мл дистильованої води. Кип'ятять у полум'ї горілки, охолоджують; потім додають – 3–5 мл 1 % розчину крохмалю, перемішують і ставлять у термостат при 37°С на 15–20 хвилин. Після цього у пробірку вносять 3–4 краплі реактиву Люголя.

Завдання 3. Перевірити вплив рН середовища на активність амілази.

Принцип: той же.

Хід роботи. У дві пробірки вносять по 0,5–1 мл слини; в одну пробірку додають 1 мл 0,4 %-ого розчину NaOH, в другу – 1 мл 0,4 %-ого HCl; в дві пробірки додають по 3–5 мл 1 %-ого розчину крохмалю і ставлять у термостат при 37 °С на 15–20 хвилин. Враховуючи, що NaOH реагує з I_2 ($NaOH + I_2 \rightarrow NaI + H_2O$), перед додаванням реактиву Люголя у пробірку з NaOH вносять 1 мл 0,4 %-ого HCl для нейтралізації лугу.

Оформлення роботи: заповнити таблицю.

№ пробірки	Фермент	Субстрат	Умови досліду	Результати реакції	Висновки
------------	---------	----------	---------------	--------------------	----------

Практичне значення роботи. Вивчення загальних властивостей є необхідним для підбору оптимальних умов дії ферментів при визначенні їх активності в наукових та клінічних дослідженнях. Невірно підібрані стандартні умови призводять до помилок при діагностиці захворювань та контролі за якістю ферментативних лікарських засобів.

ТЕСТОВІ ТА СИТУАЦІЙНІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Чоловік звернувся до лікаря після появи болю в грудній клітині. У сироватці крові виявлено значне наростання активності ферментів: креатин-фосфокінази та її MB-ізоформи, аспартат-амінотрансферази. Про розвиток патологічного процесу в якій тканині свідчать ці зміни?

A. Легені.

C. Скелетні м'язи.

E. Гладкі м'язи.

B. Серцевий м'яз.

D. Печінка.

2. Біологічне окиснення є основним молекулярним механізмом, за рахунок якого забезпечуються енергетичні потреби живих організмів. Який клас ферментів каталізує цей процес?

A. Гідролази.

C. Оксидоредуктази.

E. Трансферази.

B. Ліази.

D. Лігази.

3. Біогенні аміни утворюються за допомогою декарбоксілази. До якого класу відносяться ці ферменти?

A. Ліази.

C. Оксидоредуктази.

E. Трансферази.

B. Ізомерази.

D. Гідролази.

4. Із сироватки крові людини виділили п'ять ізоферментних форм лактатдегідрогенази та вивчили їх властивості. Яка властивість доводить, що виділено ізоферментні форми одного й того ж ферменту?

A. Однакова молекулярна маса.

D. Каталізують одну й ту ж реакцію.

B. Тканинна локалізація.

E. Однакова електрофоретична рухомість.

C. Однакові фізико-хімічні властивості.

5. Структурною особливістю регуляторних ферментів є наявність алостеричного центру. Укажіть його роль.
- A. Зв'язує субстрат. D. Сприяє дисоціації коферменту.
 B. Змінює структуру субстрату. E. Зв'язує кофермент.
 C. Зв'язує регуляторний ефектор.
6. До якого класу ферментів відноситься глюкокіназа, що каталізує реакцію переносу фосфатної групи з АТФ на глюкозу?
- A. Трансферази. C. Ізомерази. E. Ліази.
 B. Оксидоредуктази. D. Гідролази.
7. Фермент оксидаза D-амінокислот каталізує дезамінування тільки D-амінокислот. Яка властивість ферментів проявляється при цьому?
- A. Стереохімічна специфічність. D. Залежність від рН.
 B. Термолабільність. E. Абсолютна специфічність.
 C. Відносна специфічність.
8. Перетворення проліну на гідроксипролін і лізину на гідроксилізін у молекулі колагену каталізують ферменти:
- A. Гідроксилази. C. Дегідрогенази. E. Дегідратази.
 B. Гідролази. D. Оксидази.
9. У крові хворого спостерігається підвищення активності ЛДГ4, ЛДГ5, аланінамінотрансферази, карбоаміорнітінтрансферази. У якому органі можна передбачати розвиток патологічного процесу?
- A. Серцевому м'язі (можливий інфаркт міокарда). D. Нирках.
 B. Скелетних м'язах. E. Сполучній тканині.
 C. Печінці (можливий гепатит).
10. Для біохімічної діагностики інфаркту міокарда визначають активність в крові ряду ферментів та їх ізоферментних форм. Який ферментативний тест вважається найкращим для підтвердження або виключення діагнозу інфаркту в ранній період після появи болю у грудній клітці?
- A. Ізофермент ММ креатинкінази.
 B. Ізофермент ЛДГ1 лактатдегідрогенази.
 C. Ізофермент МВ креатинкінази.
 D. Ізофермент ЛДГ5 лактатдегідрогенази.
 E. Цитоплазматичний ізофермент аспаратамінотрансферази.
11. Виберіть речовину, яка не здатна виконати функцію субстрату для ферментів організму людини.
- A. Глюкоза. D. Оцтова кислота в активній формі.
 B. Вища жирна кислота. E. Глікоген.
 C. Нітратна кислота.
12. Укажіть субстрат, руйнування якого здійснює клас ферментів – гідролази.
- A. Вищі жирні кислоти. D. Піровиноградна кислота.
 B. Білки. E. Вуглекислий газ.
 C. Глюкоза.
13. Укажіть ознаку, яку покладено в основу класифікації ферментів.
- A. Оборотність реакції. D. Тип каталізуємої реакції.
 B. Хімічна структура ферменту. E. Хімічна структура субстрату.
 C. Тип специфічності ферменту.
14. Фермент уреаза здатний руйнувати тільки структуру сечовини. Укажіть його тип специфічності.
- A. Стереохімічний. C. Абсолютний груповий.
 B. Абсолютний. D. Відносний груповий.
15. Як називають ферменти, які каталізують одну й ту ж реакцію, але відрізняються первинною структурою і фізико-хімічними властивостями?
- A. Ізоферменти D. Кофактори
 B. Холоферменти E. Апоферменти
 C. Проферменти

16. Яка з перелічених властивостей характерна тільки для біологічних каталізаторів?
 А. Підвищують швидкість реакції, але не витрачаються та не зазнають незворотних змін.
 В. Підвищують швидкість реакції, знижуючи енергію активації.
 С. Не змінюють стан рівноваги хімічної реакції.
 D. Здатність до регуляції.
17. Укажіть субстрат для амілази слини.
 А Білок.. D. Глюкоза.
 В. Крохмаль. E. Амінокислота.
 С. Сахароза.
18. Дайте повну назву складному ферменту, в якому поліпептидні ланцюги приєднуються до небілкової частини.
 А. Протетична група. D. Апофермент.
 В. Кофактор. E. Холофермент.
 С. Кофермент.
19. Виберіть небілкову частину ферментів, яка використовується для утворення активних форм ацилів різних кислот.
 А. КоQ. D. НАДФ.
 В. НSКоА. E. ФМН.
 С. ТПФ.
20. Ферменти підвищують швидкість реакції, так як:
 А. Змінюють вільну енергію реакції. С. Зменшують енергію активації.
 В. Зменшують швидкість зворотної реакції. D. Змінюють стан рівноваги реакції.
21. Який оптимум рН має фермент пепсин?
 А. 1,5–2,5. D. 8–9.
 В. 4–5. E. 10–11.
 С. 6–7.
22. Який оптимум рН має фермент амілаза?
 А. 1,5–2,0. D. 3,5–4,0.
 В. 7,0–7,5. E. 4,5–5,0.
 С. 8–9.
23. Яка температура є оптимальною для дії більшості ферментів?
 А. 50–60 °С. С. 80–100 °С.
 В. 15–20 °С. D. 35–40 °С.

Завдання 1. Назвати класи ферментів, типи каталізованих ними реакцій, привести приклади ферментів, що належать до певних класів.

Завдання 2. Пояснити будову та значення активного центру ферменту, розташування та значення алостеричного центру ферменту.

Завдання 3. Навести спільні та відмінні риси між ферментами та неорганічними каталізаторами.

Завдання 4. Пояснити біологічний сенс утворення мультиензимних комплексів, назвати типи мультиензимних комплексів у клітині. Навести приклади.

Завдання 5. Дати визначення і навести приклади ізоферментів. Роль ізоферментів у діагностиці захворювань.

Завдання для індивідуальної самостійної роботи

1. Підготувати реферативне повідомлення на тему: «Виникнення гіперамілаземії та гіперамілазурії при порушенні функціонування підшлункової залози».

2. Підготувати реферат на тему: «Рибозими – біологічні каталізатори небілкової природи».

ЗАНЯТТЯ 2 (4 год)

ТЕМА 3 (2 год). Механізм дії та визначення активності ферментів. Кінетика ферментативного каталізу. Визначення специфічності дії ферментів

Актуальність. Сучасна біохімія характеризується широким застосуванням методів визначення активності ферментів в біологічних рідинах та тканинах. Це дозволяє встановити патогенез багатьох захворювань і запропонувати методи їх лікування з використанням сучасних лікарських засобів.

Мета. Вивчити та вміти аналізувати механізми дії ферментів та кінетику ферментативних реакцій. Ознайомитися з методами якісного та кількісного визначення активності ферментів у біологічних об'єктах, що дозволяють не тільки вивчити властивості ферментів, особливості їхньої дії та регуляції, але й складають основу діагнозу та прогнозу багатьох захворювань. Визначити специфічність дії ферментів α -амілази слини та сахарази дріжджів.

Теоретичні питання

1. Сучасні положення про механізм дії ферментів: поняття про енергію активації реакції; утворення фермент-субстратного комплексу і механізми отримання продуктів ферментативної реакції (ковалентний та кислотно-лужний каталіз). Значення робіт Е. Фішера і Д. Кошленда.

2. Активність ферментів. Одиниці виміру активності та кількості ферментів: міжнародні одиниці, катал, питома активність ферменту.

3. Фактори, що впливають на активність ферментів: концентрація субстрату, ферменту та продуктів реакції, температура, рН середовища.

4. Методи виділення ферментів з біооб'єктів, їх фракціонування (ультрацентрифугування, гель- та іонообмінна хроматографія, афінна хроматографія, електрофорез) і аналіз активності ферментів.

5. Методи визначення активності ферментів: за кількістю продукту, який утворюється за умов дії ферменту за одиницю часу, за кількістю витраченого субстрату за одиницю часу. Спектрофотометричні методи визначення активності ферментів та візуалізація результатів ферментативної реакції.

6. Кінетика ферментативних реакцій: вплив концентрації субстрату і ферменту на швидкість ферментативної реакції (графічні залежності). Рівняння Міхаеліса-Ментен. Константа Міхаеліса, її визначення і значення.

ГРАФ ЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ТЕМИ



Словник основних наукових термінів

Кислотно-основний каталіз – в активному центрі ферменту знаходяться групи специфічних амінокислотних залишків, які є донорами або акцепторами протонів. Такі групи є потужними каталізаторами багатьох біохімічних реакцій.

Донори та акцептори протонів

Донори	Акцептори
-COOH	-COO ⁻
-NH ₃ ⁺	-NH ₂
-SH	-S ⁻

Ковалентний каталіз – це процес, під час якого ферменти реагують зі своїми субстратами, утворюючи за допомогою ковалентних зв'язків нестабільні фермент-субстратні комплекси, з яких у ході внутрішньомолекулярних перебудов утворюються продукти реакції.

Специфічність ферментів ґрунтується на комплементарності структури субстрату і активного центру ферменту. Розрізняють:

- **стереохімічну субстратну специфічність** – фермент каталізує перетворення тільки одного з можливих стереоізомерів субстрату;
- **абсолютну субстратну специфічність** – фермент каталізує тільки одну речовину;
- **абсолютну групову субстратну специфічність** – каталітичне перетворення подібної хімічної групи;
- **відносну групову субстратну специфічність** – фермент специфічно діє на окремі зв'язки певної групи субстратів;
- **відносна субстратна специфічність** – перетворення субстратів з деякими загальними ознаками.

Каталітична специфічність – фермент каталізує перетворення приєданого субстрату за одним з можливих шляхів його перетворення. Ця властивість забезпечується будовою каталітичної ділянки активного центру ферменту.

Вплив концентрації субстрату на швидкість ферментативної реакції – при низьких концентраціях субстрату ферментативна реакція має перший порядок, а при високих – нульовий, і швидкість досягає максимального значення (рис. 13).

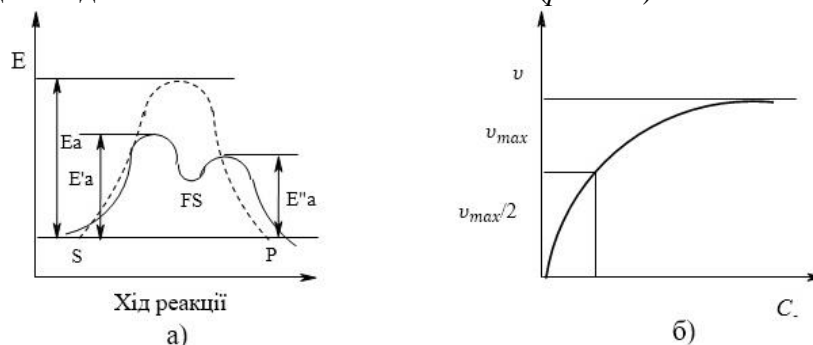


Рис. 13. Енергетичний профіль ферментативної реакції (а) та залежність швидкості реакції від концентрації субстрату за Міхаелісом–Ментен (б)

Константа Міхаеліса (K_m). Її величина залежить від pH , температури й природи субстрату. У кінетичних дослідженнях K_m знаходиться експериментально й дорівнює тій концентрації субстрату, при якій швидкість реакції дорівнює половині максимальної:

$$v = \frac{v_{max}}{2} = K_m,$$

де K_m та v_{max} – важливі характеристики ферменту;

v_{max} – постійна для кожного ферменту та характеризує ефективність його дії;

K_m – відрізняється для різних ферментів та характеризує спорідненість ферменту до субстрату.

При оцінці спорідненості ферменту до субстрату слід пам'ятати, що чим нижче K_m , тим швидше та переважніше субстрат зв'язується з ферментом, тобто тим вище його спорідненість до даного субстрату.

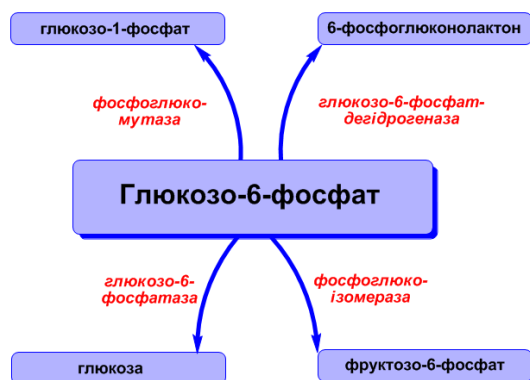


Рис. 14. Каталітична специфічність ферментів на прикладі перетворень глюкозо-6-фосфату

Завдання 2. Назвати одиниці 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).

1. У біохімічній практиці загальноприйнятими є **одиниці активності ферменту**.

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

$$1 U = 1 \text{ мкмоль/хв.}$$

2. При використанні одиниць системи СІ (SI) активність ферменту виражають в *каталах* (кат). 1 катал – така кількість ферменту, яка каталізує перетворення 1 моля субстрату за 1 с:

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль/с.}$$

3. Розповсюдженою одиницею є *питома активність ферменту*, яка визначається кількістю одиниць ферментної активності, що припадають на 1 мг білка в біологічному об'єкті ($U/\text{мг}$ білка).

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

ПРАКТИЧНА РОБОТА

Визначення специфічності дії ферментів α -амілази слини (α -1,4-глюкан-4-глюканогідролази; КФ 3.2.1.1) та сахарози дріжджів (β -D-фруктофуранозидфруктогідролази; КФ 3.1.1.26)

Завдання 1. Приготувати екстракт з дріжджів, який містить фермент сахарозу.

Хід роботи. Розтерти у ступці шматочок дріжджів з 10–15 мл дистильованої води та профільтрувати.

Завдання 2. Перевірити дію амілази на крохмаль і на сахарозу.

Принцип. Про активність ферменту судять за його дією на субстрат: за зникненням субстрату або за появою продуктів його розщеплення. Розщеплення крохмалю виявляють за негативною реакцією з реактивом Люголя. Розщеплення сахарози виявляють за позитивною реакцією з реактивом Фелінга, яку дають продукти гідролізу сахарози (глюкоза і фруктоза), але не дає сахароза.

Хід роботи. У дві пробірки вносять по 0,5–1,0 мл слини: у першу додають 3–5 мл 1 %-го розчину крохмалю, у другу – 3–5 мл 1 %-го розчину сахарози, добре перемішують і ставлять у термостат при 37 °С на 15–20 хвилин. Після цього у першу пробірку додають 3–4 краплі реактиву Люголя і переконуються в гідролізі крохмалю; зі вмістом другої пробірки проводять реакцію Фелінга і переконуються у відсутності гідролізу сахарози.

Техніка реакції Фелінга: до 1–2 мл досліджуваного розчину додають однаковий об'єм реактиву Фелінга ($\text{CuSO}_4 + \text{NaOH}$) та кип'ятять у полум'ї горілки. При наявності у розчині моносахаридів випадає осад червоного кольору (Cu_2O), який утворюється в результаті відновлення міді за рахунок окиснення карбонільних груп моносахаридів.

Завдання 3. Перевірити дію сахарози на крохмаль і сахарозу.

Принцип: той же.

Хід роботи. У дві пробірки вносять по 0,5–1,0 мл екстракту дріжджів; у першу додають 3–5 мл 1 %-го розчину крохмалю, у другу – 3–5 мл 1 %-го розчину сахарози; добре перемішують

і ставлять у термостат при температурі 37 °С на 15–20 хвилин. Після цього у першу пробірku додають 3–4 краплі реактиву Люголя і переконуються у відсутності гідролізу крохмалю; зі вмістом другої пробірki проводять реакцію Фелінга і переконуються у наявності гідролізу сахарози.

Оформлення роботи: заповнити таблицю.

№ пробірki	Фермент	Субстрат	Умови досліду	Результати реакції	Висновки
------------	---------	----------	---------------	--------------------	----------

Практичне значення роботи. Ферменти, що мають абсолютну субстратну специфічність, використовуються в клініці як аналітичні реагенти для визначення речовин, що є їх субстратами. Наприклад, уреаза використовується для визначення сечовини в біологічному матеріалі та лікарських препаратах; глюкозооксидаза – для визначення кількості глюкози в крові та сечі. Ферменти з абсолютною та відносною груповою субстратною специфічністю мають меншу вибірковість дії на субстрати, беруть участь, як правило, у гідролізі поживних речовин або в перетворенні чужорідних сполук. Наприклад, α -амілаза і сахараза проявляють специфічність не до структури субстрату в цілому, а до типу глікозидних зв'язків, що мають місце у відповідних вуглеводах.

ТЕСТОВІ ТА СИТУАЦІЙНІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

- Константа Міхаеліса для ферменту визначає:
 - Степінь спорідненості ферменту до продукту реакції.
 - Степінь спорідненості ферменту до субстрату.
 - Степінь спорідненості ферменту до інгібітора.
 - Середню швидкість ферментативної реакції.
 - Максимальну швидкість ферментативної реакції.
- Продовжити фразу: «Незначна зміна рН середовища впливає на молекулу ферменту, змінюючи...»:
 - Структурний рівень організації молекули ферменту.
 - Степінь поляризації амінокислотних радикалів в активному центрі.
 - Товщину гідратної оболонки ферменту.
 - Оптичні властивості ферменту.
 - Біологічну функцію ферменту.
- Укажіть показник, який використовують при визначенні питомої активності ферменту, знаючи його загальну активність.
 - Концентрація даного ферменту в досліджуваній пробі.
 - Концентрація білка в досліджуваній пробі.
 - Концентрація субстрату в досліджуваній пробі.
 - Константа Міхаеліса для даного ферменту.
 - Максимальна швидкість досліджуваної ферментативної реакції.
- Укажіть прізвище вченого, який запропонував гіпотезу «індукованої відповідності».
 - Кребс Г.
 - Кошленд Д.
 - Ментен М.
 - Крік Ф.
 - Функ К.
- Виберіть фактор, який не впливає на значення константи дисоціації фермент-субстратного комплексу.
 - Концентрація субстрату.
 - Хімічна природа ферменту.
 - Концентрація ферменту.
 - Концентрація фермент-субстратного комплексу.
 - Степінь спорідненості ферменту до субстрату.
- Що відбувається у ході ферментативного каталізу при утворенні фермент-субстратного комплексу?
 - Змінюється конформація субстрату.
 - Змінюється конформація ферменту.
 - Встановлюється індукована комплементарна відповідність між ферментом і субстратом.
 - Зближуються функціональні групи, що приймають участь в каталізі.

7. Яка з перелічених властивостей ферментів лежить в основі їх якісного та кількісного визначення у біологічних об'єктах?
- Здатність проявляти максимальну активність при визначеному рівні рН середовища.
 - Залежність від присутності у середовищі різноманітних активаторів та інгібіторів.
 - Специфічність.
 - Термолабільність.
 - Гальмування реакції її продуктами.
8. У пробірку з невідомим субстратом додали екстракт з дріжджів. Після 15 хвилин інкубації суміш у пробірці дала позитивну реакцію Фелінга. Який субстрат був у пробірці?
- Крохмаль.
 - Сахароза.
 - Лактоза.
 - Глікоген.
 - Целюлоза.
9. Після 10 хвилин інкубації крохмалю зі слиною реакційна суміш дає жовтий колір з йодом і позитивну реакцію Фелінга. Що присутнє у середовищі?
- Амілодекстрини.
 - Фруктоза та глюкоза.
 - Сахароза.
 - Еритродекстрини.
10. Яке явище лежить в основі механізму дії ферментів?
- Зближення груп, які входять до активного центру ферменту.
 - Утворення фермент-субстратного комплексу.
 - Зміна електричного заряду ферменту.
 - Зміна просторової конфігурації.
 - Гідроліз ферменту.
11. Укажіть метод досліджень, який використовується для виділення ферментативних систем окремих субклітинних фракцій з гомогенату тканини.
- Діаліз.
 - Ізоелектричне фокусування.
 - Якісний аналіз.
 - Диференційне центрифугування.
 - Рентгеноструктурний аналіз.
12. Укажіть одиницю активності ферменту, яка визначається кількістю ферменту, що перетворює 1 моль субстрату за 1 секунду в оптимальних умовах.
- Катал.
 - Стандартна міжнародна одиниця.
 - Умовна одиниця.
 - Число оборотів.
 - Молярна активність.

Завдання 1. Дати пояснення особливості взаємодії субстрату з ферментом за теорією «жорсткої матриці» Е. Фішера та гіпотезою «індукованої відповідності» Д. Кошленда.

Завдання 2. Охарактеризувати три етапи ферментативної реакції: утворення фермент-субстратного комплексу, процес перетворення субстрату, утворення продукту реакції.

Завдання 3. Дати визначення терміну «енергія активації» та пояснити відмінність енергії активації для: 1) реакцій без каталізатора; 2) реакцій в присутності небіологічного каталізатора; 3) ферментативних реакцій.

Завдання 4. Пояснити, що таке специфічність дії ферментів та її значення. Дати характеристику субстратній специфічності: абсолютній, відносній та стереоспецифічності, навести приклади до кожного виду специфічності.

Завдання 5. Пояснити залежність швидкості реакції від концентрації субстрату. Рівняння Міхаеліса–Ментен. Значення величини константи Міхаеліса.

Завдання 6. Зниження вмісту феруму в організмі людини викликає зниження активності ряду ферментів. Назвіть, які ферменти містять в якості кофактора ферум.

Завдання 7. Після споживання порції морозива з шоколадною поливкою та молочного коктейлю у дівчини-підлітка значно зріс рівень цукру в крові. Відомо, що в процесі метаболізму глюкози печінкою задіяні два ензими: глюкокіназа ($K_m = 10$ мМ) і гексокіназа ($K_m = 0,10$ мМ). Котрий з ензимів буде більш ефективний в даній ситуації і чому? Яка біологічна роль константи Міхаеліса?

ТЕМА 4 (2 год). Регуляція ферментативних процесів.

Інгібітори та активатори ферментів. Медична ензимологія.

Кількісне визначення активності α -амілази та лактатдегідрогенази у сироватці крові

Актуальність. Досягнення ензимології (науки про ферменти) широко впроваджуються в медицину. Розвиток медичної ензимології відбувається у трьох головних напрямках: ензимопатологія, ензимодіагностика та ензимотерапія, що дозволяє вирішувати проблеми патогенезу ензимопатій, застосовувати ферментні тести для діагностики органічних і функціональних розладів органів та тканин, а також використовувати ферменти і модулятори їхньої дії як лікарські засоби. Так, підвищення активності лужної фосфатази у сироватці крові спостерігається при рахіті, пухлинах кісткової тканини, гіперпаратиреозі, механічній жовтяниці, вірусному гепатиті, а зниження – при гіпотиреозі, гіповітамінозі С та ін. Активність лактатдегідрогенази в крові підвищується при інфаркті міокарда, пошкодженнях скелетних м'язів, нирок, а також при анеміях, пухлинах, гострому гепатиті. Ферменти (пепсин, трипсин, гіалуронідаза та інші) використовуються як лікувальні препарати, а також у клініко-біохімічних лабораторіях як аналітичні реактиви (глюкозооксидаза, уреаза та ін.).

Мета. Вивчити та вміти аналізувати: механізми регуляції ферментативних процесів як основи обміну речовин в організмі в нормі та при патології; зміни перебігу ферментативних процесів та накопичення проміжних продуктів метаболізму при спадкових та набутих вадах метаболізму – ензимопатіях; зміни активності індикаторних ферментів плазми крові при патології певних органів та тканин; застосування ферментів та їх модуляторів як фармакологічних препаратів при певних патологічних станах. Ознайомитися з методами кількісного визначення активності α -амілази і лактатдегідрогенази у сироватці крові та їх клініко-діагностичним значенням.

Теоретичні питання

1. Регуляція ферментативних процесів. Шляхи та механізми регуляції: алостеричні взаємодії у ферментах; ковалентна модифікація ферментів; дія регуляторних білків-ефекторів (кальмодуліну, протеїназ, протеїназних інгібіторів). Циклічні нуклеотиди як регулятори ферментативних реакцій та біологічних функцій клітини.

2. Інгібітори та активатори ферментів. Типи інгібування ферментів: оборотне (конкурентне, неконкурентне, безконкурентне) і необоротне. Приклади.

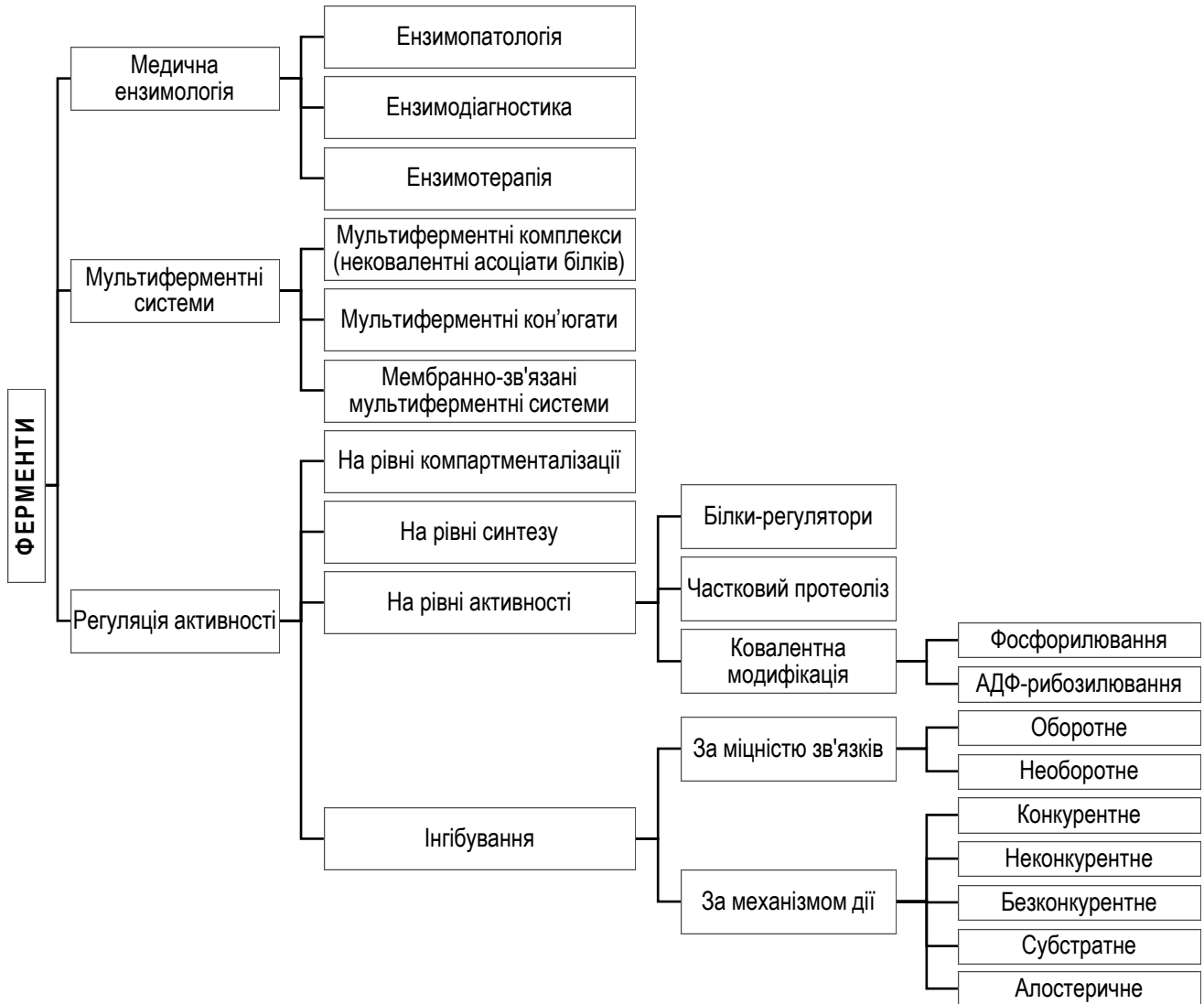
3. Основні аспекти сучасної ензимодіагностики. Індикаторні, секреторні та екскреторні ферменти. Ізоферменти в ензимодіагностиці, тканинна специфічність розподілу ізоферментів. Зміни активності ферментів плазми та сироватки крові як діагностичні показники розвитку патологічних процесів в органах і тканинах.

4. Застосування ензимодіагностики в кардіології, урології, онкології тощо.¹

5. Порушення перебігу ферментативних процесів: спадкові та набуті ензимопатії, природжені вади метаболізму, їх клініко-лабораторна діагностика.¹

6. Ензимотерапія – використання ферментів як лікарських засобів. Фармакологічне застосування ферментів шлунково-кишкового тракту, згортальної та фібринолітичної систем крові, калікреїн-кінінової та ренін-ангіотензинової систем. Інгібітори ферментів як лікарські засоби.¹

ГРАФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ТЕМИ



Словник основних наукових термінів

Розрізняють три типи **мультиферментних систем**:

- 1) мультиферментні комплекси (нековалентні асоціати білків);
- 2) мультиферментні кон'югати;
- 3) мембранно-зв'язані мультиферментні системи.

Прикладом **мультиферментних комплексів** є динамічні комплекси ферментів, які здатні зв'язувати одні і ті ж метаболіти. У таких системах здійснюється пряма передача інтермедіата від активного центру одного ферменту до активного центру іншого за допомогою утворення потрійного комплексу, що містить обидва ферменти і метаболіт.

Прикладом **мультиферментних комплексів** і одночасно **мультиферментних кон'югатів** може слугувати комплекс СЖК – синтетаза жирних кислот, що складається з 7 ферментів і каталізує 8 реакцій циклу біосинтезу жирних кислот (рис. 15).

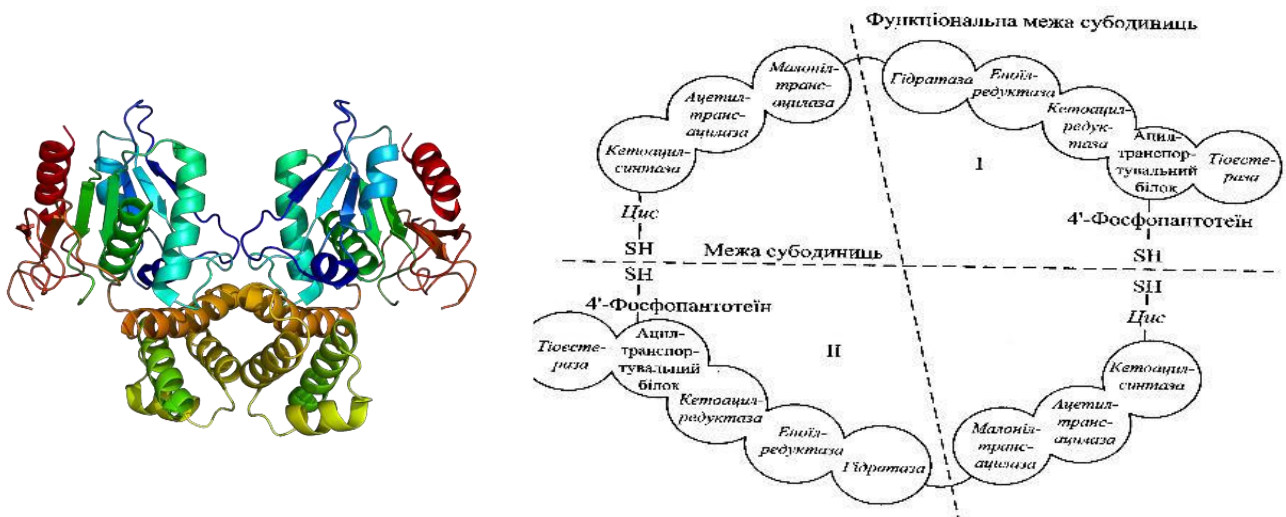


Рис. 15. Мультиферментний комплекс – синтаза жирних кислот

Метаболон – це мобільна структура, в якій об'єднані мультиферментний комплекс і елементи біомембрани (чи іншої клітинної структури, наприклад, цитоскелету). Головна особливість метаболону полягає у тому, що це структура, яка об'єднує всі ферменти певної метаболічної системи та виконує певну метаболічну функцію. Прикладом метаболону може бути інтеграція ферментів циклу Кребса (рис. 16) і внутрішньої мембрани мітохондрій. Якірною ділянкою цієї системи буде один із ферментів – сукцинатдегідрогеназа – інтегральний білок-фермент мітохондріальної мембрани.

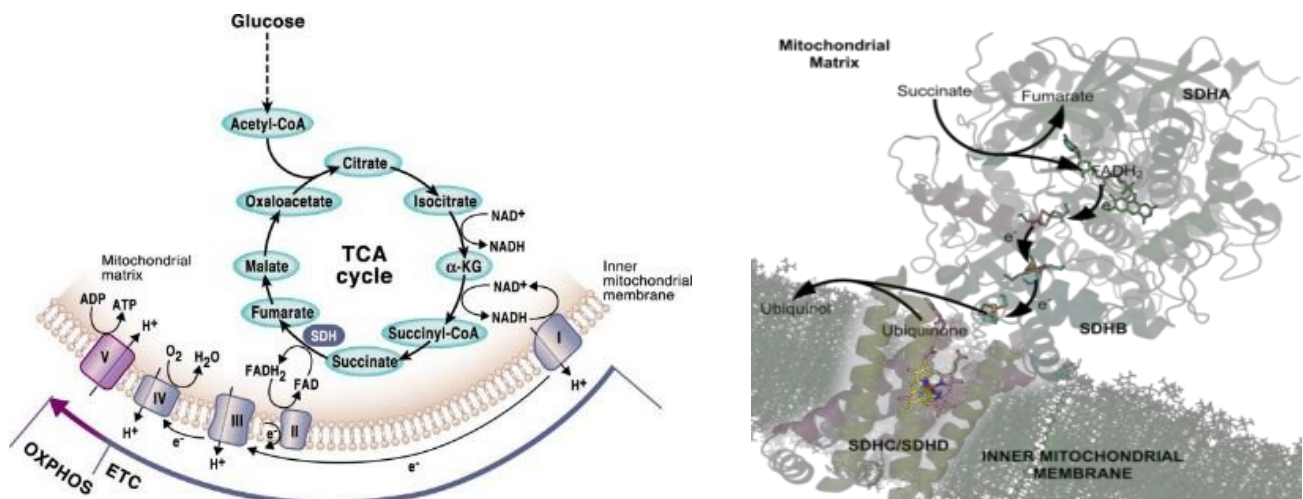


Рис. 16. Цикл Кребса

Компартменталізація – це зосередження ферментів та їх субстратів в одному компартменті (одній органелі).

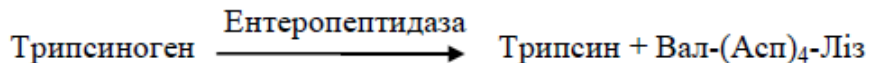
Локалізація деяких ферментів усередині клітини

Цитозоль	Мітохондрії	Лізосоми
Ферменти гліколізу Ферменти пентозофосфатного циклу Ферменти активації амінокислот Мультиферментний комплекс синтезу жирних кислот Ферменти катаболізму пуринових і піримідинових основ Пептидази Амінотрансферази Малатдегідрогеназа	Піруватдегідрогеназний комплекс Цитратсинтаза Ізоцитратдегідрогеназа (НАД-залежна) Малатдегідрогеназа та інші ферменти циклу Кребса Ацил-КоА-дегідрогеназа та інші ферменти окиснення жирних кислот Ферменти дихального ланцюга та окиснювального фосфорилування	Кисла фосфатаза β-глюкуронідаза α-глюкозидаза β-глюкозидаза Катепсини Кисла рибонуклеаза α-галактозидаза Лізоцим Гіалуронідаза Арилсульфатаза

Цитозоль	Мітохондрії	Лізосоми
Ізоцитратдегідрогеназа (НАД-залежна) Глікогенфосфорилаза Глікогенсинтетаза		Колагеназа
Мікросомальна фракція	Плазматична мембрана	Ядро
НАДН- та НАДФН-цитохром С-редуктази, цитохром P ₄₅₀ і цитохром b ₅ -оксидази, глюкозо-6-фосфатази, естерази, нуклеозиддифосфатази, глюкуронілтрансферази, фосфогліцерид- і триацилгліцеридсинтетази, β-глюкуронідази Глюкозо-6-фосфатаза Рибосомні ферменти синтезу білка Ферменти, які беруть участь у реакціях гідроксилювання Ферменти синтезу фосфоліпідів, тригліцеридів, а також деякі ферменти синтезу холестерину	Аденілатциклаза Лужна фосфатаза Na ⁺ -K ⁺ -залежна АТФаза	Ферменти, які беруть участь у процесі реплікації ДНК РНК-полімераза НАД-синтетаза
Ендоплазматичний ретикулум	Комплекс Гольджі	
Глюкозо-6-фосфатаза	Галактозилтрансфераза	

Обмежений (частковий) протеоліз проферментів. Деякі ферменти, що функціонують поза клітинами (у шлунково-кишковому тракті або у плазмі крові), синтезуються у вигляді неактивних попередників і активуються тільки в результаті гідролізу одного або декількох певних пептидних зв'язків, що призводить до відщеплення частини білкової молекули попередника.

В результаті у решті білкової молекули відбувається конформаційна перебудова і формується активний центр (трипсиноген-трипсин, пепсиноген-пепсин, прокарбоксіпептидаза-карбоксіпептидаза, інсулін, чинники згортання крові).



Алостерична регуляція. Алостеричні ферменти побудовані з двох і більше субодиниць: одні субодиниці містять каталітичний центр, інші є регуляторними. Приєднання ефektора до алостеричної (регуляторної) субодиниці змінює конформацію білку і активність каталітичної субодиниці (рис. 17).



Рис. 17. Алостерична активація ферменту

Білок-білкова взаємодія. Білок-білкова взаємодія означає ситуацію, коли в якості регулятора виступають не метаболіти біохімічних процесів, а специфічні білки. Вплив окремих чинників на ці білки змінює їх активність, і вони, у свою чергу, впливають на потрібний фермент (рис. 18).

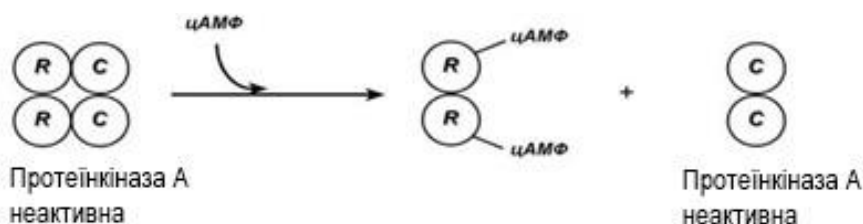


Рис. 18. Активація протеїнкінази А за допомогою цАМФ

Ковалентна (хімічна) модифікація. Ковалентна модифікація полягає у оборотному приєднанні або відщепленні певної групи, завдяки чому змінюється активність ферменту. Найчастіше такою групою є фосфорна кислота, рідше метильні та ацетильні групи. Фосфорилування ферменту відбувається по залишках серину, треоніну, тирозину. Приєднання фосфорної кислоти до білку здійснюють ферменти протеїнкінази, відщеплення – протеїнфосфатази (рис. 19).

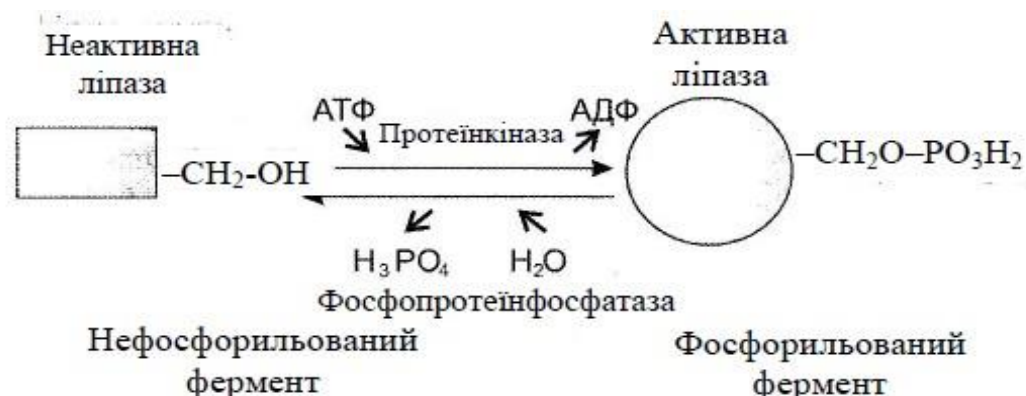


Рис. 19. Регуляція активності ліпази

Інгібітори ферментів. Термін «інгібітор» потрібно використовувати тільки для тієї речовини, яка зумовлює специфічне зниження активності ферменту. Просто факт гальмування реакції ще не свідчить про те, що ми маємо справу з інгібітором. Будь-які денатураційні агенти також спричиняють пригнічення ферментативної реакції, тому в разі дії денатураційних речовин правильно говорити не про «інгібування», а про «інактивацію». Нерідко речовина у невеликих концентраціях є інгібітором, а у великих – інактиватором, отже, цей поділ дещо умовний.

Конкурентне інгібування (рис. 20) відбувається у разі, коли молекула інгібітору за структурою схожа на молекулу субстрату і конкурує з ним за активний центр ферменту. У разі, коли у середовищі знаходяться молекули інгібітору, вони зв'язуються з активним центром та перешкоджають зв'язуванню молекул субстрату. Для конкурентного інгібування характерні такі основні кінетичні характеристики ферменту: K_m – збільшується, v_{max} – залишається без змін.

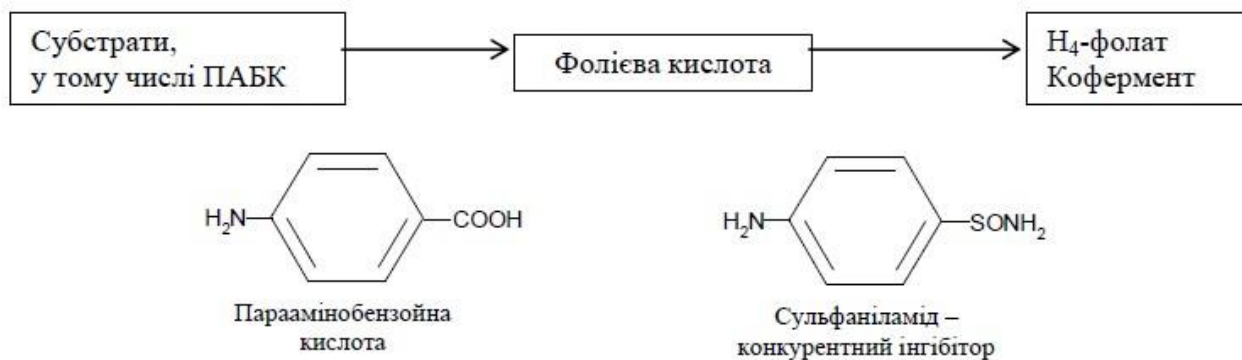


Рис. 20. Приклад конкурентного інгібування

Так, наприклад, структурні аналоги пара-амінобензойної кислоти (ПАБК) – сульфаніламідні – мають антибактеріальну дію, тому що конкурентно інгібують в бактеріальних клітинах утворення дегідрофолієвої кислоти (ДФК). Ця кислота є попередником синтезу тетрагідрофолієвої кислоти (ТГФК), яка, у свою чергу, необхідна для синтезу нуклеїнових кислот. Таким чином, сульфаніламідні препарати мають бактеріостатичну дію.

Неконкурентним інгібуванням ферментів називають гальмування, пов'язане з впливом інгібітору на каталітичне перетворення, але не на зв'язування субстрату з ферментом. При неконкурентному інгібуванні K_m – не змінюється, v_{max} – зменшується.

Прикладами неконкурентного інгібування можуть бути дія іонів важких металів (ртуті, свинцю, кадмію та ін.), які блокують SH-групи активного центру. Зняти таке інгібування допомагають реактиватори – SH-комплексони (цистеїн, димеркаптопропанол). Ці сполуки містять SH-групи, які зв'язують іони важких металів (рис. 21).

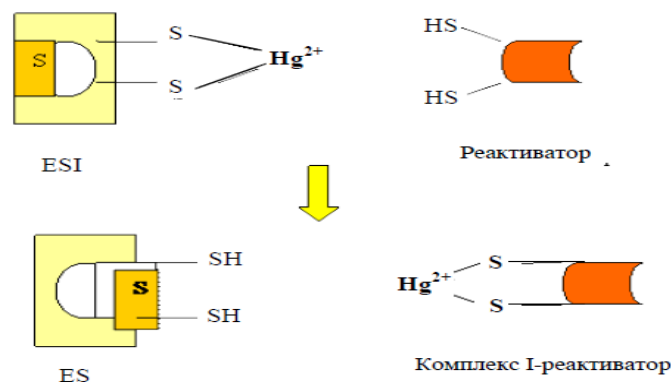


Рис. 21. Механізм дії реактиватора

Безконкурентним інгібуванням називають гальмування ферментативної реакції, яке зумовлене приєднанням інгібітору лише до комплексу фермент-субстрат.

Субстратне інгібування – це гальмування ферментативної реакції, спричинене надлишком субстрату, що відбувається унаслідок утворення фермент-субстратного комплексу, не здатного зазнавати каталітичних перетворень.

Алостеричні інгібітори зв'язуються з окремими ділянками ферменту поза активним центром. Алостерична регуляція характерна тільки для особливої групи ферментів з четвертинною структурою, що мають регуляторні центри для зв'язування алостеричних ефекторів.

Ензимодіагностика дає змогу використовувати визначення активності ферментів у біологічних рідинах людини для встановлення діагнозу. Найчастіше використовується визначення активності ферментів крові.

Зміна активності ферментів сироватки крові

№	Фермент	Хвороби та стани, які супроводжуються зміною активності	
		підвищення	зниження
1	Амінотрансферази (АлАТ, АсАТ)	1) ураження клітин печінки при гострому вірусному гепатиті, хронічному гепатиті, цирозі, пухлинах печінки, інтоксикаціях (АлАТ); 2) гострий інфаркт міокарда (АсАТ); 3) ураження скелетних м'язів; 4) гемоліз еритроцитів	
2	γ-Глутамілтранс-пептидаза (ГТПП)	1) захворювання печінки (гепатити, цирози, метастази) з явищами холестазу; 2) обтурація жовчних шляхів; 3) панкреатит; 4) інтоксикації різного генезу	
3	Креатинфосфокіназа (КФК)	Гострий інфаркт міокарда (МВ-ізоформа); ураження скелетних м'язів (м'язові дистрофії, поліміозити тощо) – ММ-ізоформа	Гіподинамія
4	Лактатдегідрогеназа (ЛДГ)	Ураження серця, скелетних м'язів, печінки, захворювання крові	
5	Альдолаза	Вірусний гепатит, цироз печінки; гострий панкреатит; гострий інфаркт міокарда; м'язові дистрофії, ураження м'язів; злаякісні новоутворення; лейкоз, гемолітична анемія тощо	
6	Лужна фосфатаза	Обтураційна жовтяниця, гепатит, цироз печінки з явищами внутрішньопечінкового холестазу; захворювання кісток (хвороба Педжета, рахіт, остеомаляція, злаякісні захворювання); ураження кишечника	
7	Кисла фосфатаза	Рак передміхурової залози; деякі запальні процеси в передміхуровій залозі	

№	Фермент	Хвороби та стани, які супроводжуються зміною активності	
		підвищення	зниження
8	Альфа-амілаза	Паротит; панкреатит; цукровий діабет; рак підшлункової залози; ниркова недостатність; перитоніт; опіки; холецистит; обтурація кишечника	
9	Холінестераза	Гіпертонічна хвороба; нефроз; ожиріння; алкоголізм; вагітність; цукровий діабет; рак молочної залози	1) патологія печінки (цироз, гепатит, метастатичний рак печінки); 2) гостра або хронічна інтоксикація фосфорорганічними сполуками; 3) інфаркт міокарда; 4) ракова кахексія; 5) гіпоальбумінемія; 6) спадкові захворювання синтезу ферменту

Ензимотерапія вивчає можливості використання ферментів для лікування захворювань.

Цей розділ медичної ензимології розвивається у двох напрямках:

- *замісна (специфічна компенсаторна)*, яка пов'язана із введенням ферменту при його дефіциті в організмі;
- *у комплексній терапії* захворювань разом з іншими лікарськими засобами або заходами.

Ензимопатологія вивчає молекулярні хвороби, причина виникнення яких пов'язана з дефіцитом або повною відсутністю ферментів (ензимопатії). На сьогодні відомо більш ніж 1000 ензимопатій різних видів обміну (фенілкетонурія, альбінізм, гомоцистинурія, глікогенози тощо).

ПРИКЛАДИ ТЕСТІВ ТА СИТУАЦІЙНИХ ЗАВДАНЬ З АЛГОРИТМАМИ ВИРІШЕННЯ

1. Яким є механізм дії неконкурентного інгібітора?
 - A. Зв'язування з алостеричним центром ферменту.*
 - B. Зв'язування з активним центром ферменту.
 - C. Механізм не відомий.
 - D. Денатурація молекули ферменту.
 - E. Утворення міцного, не дисоціюючого ензим-субстратного комплексу.
2. Діагностичним тестом при гострому панкреатиті є визначення в сечі активності ферменту:
 - A. Амілази.*
 - B. Лактатдегідрогенази.
 - C. Креатинкінази.
 - D. Альдолази.
 - E. Аланінамінопептидази.
3. Яким є механізм дії конкурентного інгібітора?
 - A. Зв'язування з алостеричним центром ферменту.
 - B. Зв'язування з активним центром ферменту.*
 - C. Механізм не відомий.
 - D. Денатурація молекули ферменту.
 - E. Утворення міцного, не дисоціюючого ензим-субстратного комплексу.
4. Для біохімічної діагностики інфаркту міокарда визначають активність у крові ряду ферментів та їх ізоферментних форм. Який ферментативний тест вважають найкращим для підтвердження або виключення діагнозу інфаркту в ранній період після появи болю в грудній клітці?
 - A. Ізофермент ММ креатинкінази.
 - B. Ізофермент МВ креатинкінази.*
 - C. Ізофермент ЛДГ1 лактатдегідрогенази.
 - D. Ізофермент ЛДГ5 лактатдегідрогенази.
 - E. Цитоплазматичний ізофермент аспаратамінотрансферази.

5. Цитохімічним дослідженням виявлено високий вміст в цитоплазмі клітин гідролітичних ферментів. Про активність яких органел свідчить цей факт?
 А. Клітинного центру. С. Мітохондрій. Е. Лізосом.*
 В. Ендоплазматичної сітки. Д. Полісом.
6. У слині міститься фермент, здатний руйнувати α -1,4-глікозидні зв'язки в молекулі крохмалю. Назвіть цей фермент.
 А. Фруктофуросинідаза. С. α -Амілаза.* Е. Лізоцим.
 В. Фосфатаза. Д. β -Галактозидаза.
7. У крові хворого спостерігається підвищення активності ЛДГ4, ЛДГ5, аланінамінотрансферази, карбамоїлорнітинтрансферази. У якому органі можна передбачити розвиток патологічного процесу?
 А. Серцевому м'язі (можливий інфаркт міокарда). Д. Нирках.
 В. Печінці (можливий гепатит).* Е. Сполучній тканині.
 С. Скелетних м'язах.
8. Хворий, 49 років, водій за професією, скаржиться на нестерпні стискаючі болі за грудиною, що «віддають» у ділянку ший. Об'єктивно: стан тяжкий, блідість, тони серця ослаблені. Лабораторні обстеження показали високу активність креатинкінази і ЛДГ1. Для якого захворювання характерні такі симптоми?
 А. Стенокардія. С. Гострий інфаркт міокарда.* Е. Гострий панкреатит.
 В. Цукровий діабет. Д. Жовчнокам'яна хвороба.
9. Структурною особливістю регуляторних ферментів є наявність алостеричного центру. Укажіть його роль.
 А. Зв'язує субстрат. Д. Сприяє дисоціації коферменту.
 В. Зв'язує регуляторний ефектор.* Е. Зв'язує кофермент.
 С. Змінює структуру субстрату.
10. У 46-річної жінки прогресуюча м'язова дистрофія. Який із наведених біохімічних показників має діагностичне значення у цьому випадку?
 А. Піруватдегідрогеназа. С. Лактатдегідрогеназа. Е. Аденілатциклаза.
 В. Креатинфосфокіназа.* Д. Глутаматдегідрогеназа.

Завдання 1. Пояснити різну електрофоретичну активність ізоферментів ЛДГ залежно від складу субодиниць та використання електрофорезу для визначення вмісту ізоферментів крові при інфаркті міокарду і захворюваннях печінки.

Лактатдегідрогеназа – олігомерний білок з молекулярною масою 134 000 Да, що складається з чотирьох субодиниць двох типів: М (від англ. *muscle* – м'яз) і Н (від англ. *heart* – серце). Комбінація цих субодиниць лежить в основі формування 5 ізоформ лактатдегідрогенази. ЛДГ1 і ЛДГ2 найбільш активні у серцевому м'язі і нирках, ЛДГ4 і ЛДГ5 – у скелетних м'язах і печінці. У інших тканинах наявні різні форми цього ферменту. Ізоформи ЛДГ відрізняються електрофоретичною рухливістю, що дає змогу встановлювати тканинну приналежність ізоформ ЛДГ (рис. 22).

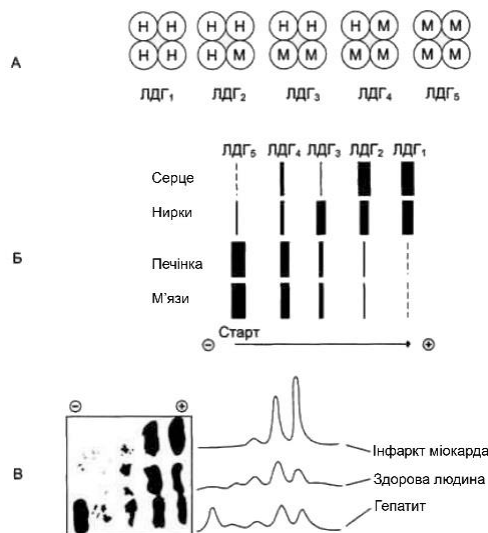


Рис. 22. Ізоферменти лактатдегідрогенази (ЛДГ) у нормі та при патології

Завдання 2. Пояснити зміни маркерних ферментів крові при інфаркті міокарда, нарисувати графік змін цих ферментів у динаміці захворювання.

При інфаркті міокарда спостерігають достовірні зміни активності ферментів у крові КК, ЛДГ та АсАТ, які мають залежність від часу, що минув від початку розвитку інфаркту та від зони тканинного ураження. Після закупорки (оклюзії) коронарної артерії у крові спочатку відмічають підвищення активності ізоформи КК-МВ, однак фермент швидко видаляється із кровотоку. Виявлення підвищеної активності КК у плазмі крові – основний ензимодіагностичний критерій інфаркту міокарда. Якщо у пацієнта із загрою болями не виявлено змін в активності КК, діагноз інфаркту міокарда малоімовірний.

Додатковим підтвердженням діагнозу інфаркту міокарда є виявлення активності ферментів АсАТ та ЛДГ у крові хворих (рис. 23). Активність АсАТ у нормі становить 5–40 МО/л. При інфаркті міокарда активність АсАТ підвищується через 4–6 год, максимум активності спостерігається протягом 2–3 діб. Рівень ЛДГ ізоформи ЛДГ1 та ЛДГ2 також збільшується у плазмі крові через декілька годин після закупорки артерії, максимум активності спостерігають на 3–4-ту добу, потім настає поступова нормалізація активності. Рівень підвищення активності ЛДГ корелює з розміром пошкодження серцевого м'яза.

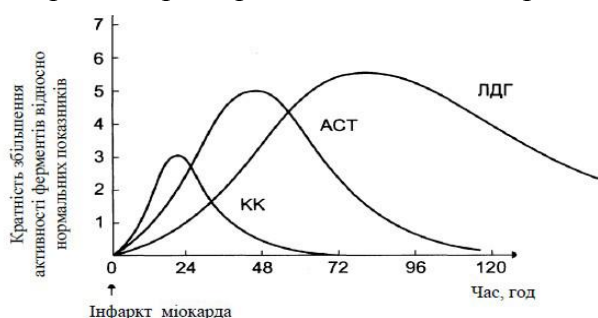


Рис. 23. Динаміка активності ферментів у сироватці крові при інфаркті міокарда

ПРАКТИЧНА РОБОТА

Кількісне визначення активності α -амілази у сироватці крові методом Каравея

Завдання 1. Визначити активність α -амілази у сироватці крові методом Каравея.

Принцип методу. α -Амілаза (α -1,4-глюкан-4-глюканогідролаза; КФ 3.2.1.1.) каталізує гідролітичне розщеплення крохмалю з утворенням кінцевих продуктів, які не дають забарвлення з йодом. Про активність ферменту судять за надлишком крохмалю, який визначають за зміною забарвлення йодо-крохмального розчину спектрофотометричним методом.

Реактиви: 1) *Субстратно-буферний розчин (рН 7,0):* 26,6 г натрію гідрогенфосфату; 8,6 г бензоатної кислоти розчиняють у 500 мл дистильованої води, доводять до кипіння. 0,4 г крохмалю розчиняють у невеликій кількості дистильованої води і вливають у киплячий розчин. Кип'ятять протягом 1 хвилини, після охолодження доводять об'єм дистильованою водою до 1 літра. 2) *Основний розчин йоду – 0,1 ммоль/л:* 3,567 г калію йодату і 45 г калію йодиду. Калію йодид розчиняють у 800 мл дистильованої води, додають 9 мл концентрованої хлоридної кислоти та доводять об'єм до 1 л дистильованою водою. 3) *Робочий розчин йоду – 0,01 ммоль/л:* 50 г феруму йодиду, 100 мл основного розчину йоду; доводять об'єм до 1 л дистильованою водою.

Хід роботи. Визначення активності α -амілази у сироватці крові провести за наступною схемою:

Хімічний посуд	Об'єм піпетки, мл	Реактиви	Проба, мл	Контроль, мл	Етапи	
Хімічні пробірки	1	субстратно-буферний розчин	1	1	передінкубація	
	інкубувати 5 хвилин при температурі 37 °С					
	0,1	сироватка крові	0,02	-	кольорова реакція	
	змішати, інкубувати протягом 7,5 хвилин при температурі 37 °С (ферментативна реакція)					
	1	робочий розчин йоду	1	1		
	0,1	сироватка крові	–	0,02		
		дистильована вода	до 10	до 10		
змішати, виміряти $E_{пр}$ і $E_{к}$ при довжині хвилі 630–690 нм у кюветі (10 мм) проти дистильованої води протягом 5 хвилин (фотометрія)						

Активність α -амілази у сироватці крові розраховують за формулою:

$$\text{активність } \alpha\text{-амілази (г/л} \times \text{год)} = (E_k - E_{np}) / E_{np} \times 160 \times K,$$

де E_k – екстинкція контролю; E_{np} – екстинкція проби; 160 – коефіцієнт розрахунку, який враховує кількість крохмалю, введеного в пробу і контроль, на 1 л біологічної рідини за годину інкубації при температурі 37 °С; K – коефіцієнт розбавлення досліджуваної сироватки крові.

Клініко-діагностичне значення роботи. У нормі активність α -амілази у сироватці крові становить 12–32 г/л×год. Підвищення активності у крові та сечі спостерігають при захворюваннях підшлункової залози. При гострому панкреатиті активність α -амілази підвищується в 10–30 разів, максимальну активність виявляють в першу добу хвороби, а потім вона швидко нормалізується на 2–6-ту добу. Гіперамілаземію спостерігають при гострому апендициті, перфоративній виразці шлунка та дванадцятипалої кишки, холециститі, розриві жовчного міхура, опіках, травматичному шоку, пневмонії, простатиті, уремії. Підвищенню активності α -амілази сприяють лікарські препарати (кортикостероїди, катехоламіни, фуросемід, антикоагулянти), наркотики, алкоголь. Зниження активності α -амілази спостерігають при гепатиті, цирозі, злякисних утвореннях печінки, цукровому діабеті, гіпотиреозі, кахексії.

Кількісне визначення активності лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27) у сироватці крові за Савелом і Товареком

Завдання 1. Визначити активність лактатдегідрогенази у сироватці крові за Савелом і Товареком.

Принцип методу. Під впливом ЛДГ L-лактат за наявності нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД⁺) окислюється до пірувату (рис. 24). Кількість утвореного пірувату визначають фотометрично за кольоровою реакцією з 2,4-динітрофенілгідразиним, у якій утворюється 2,4-динітрофенілгідразон, що має червоно-буре забарвлення в лужному середовищі, інтенсивність якого прямо пропорційна вмісту кетокислоти.

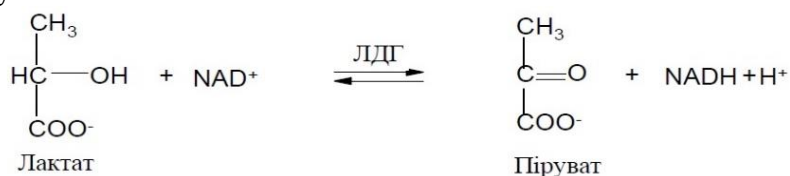


Рис. 24. Перетворення лактату в піруват

Хід роботи. В одну пробірку вносять 0,1 мл в 3 рази розведеної сироватки крові; 0,3 мл свіжоприготовленого розчину 0,02 моль/л НАД⁺ і ставлять на 5 хвилин на водяну баню при 37 °С для нагрівання суміші. У другу пробірку вносять 0,8 мл розчину 0,03 моль/л натрію пірофосфату, 0,2 мл розчину 0,45 моль/л натрію лактату і нагрівають на водяній бані при 37 °С. Виливають вміст другої пробірки в першу, швидко перемішують скляною паличкою, не виймаючи пробірки з бані, і відзначають час початку інкубації. Через 25 хв реакцію припиняють додаванням 0,5 мл 0,2 %-го розчину 2,4-динітрофенілгідразину в розчині 1 моль/л хлоридної кислоти і залишають пробірку на 20 хв при кімнатній температурі для утворення гідразону. До суміші додають 5 мл розчину 0,4 моль/л натрію гідроксиду, вміст перемішують скляною паличкою і через 10 хвилин вимірюють екстинкцію дослідної проби проти контрольної на ФЕК при довжині хвилі 520–560 нм у кюветах завтовшки 10 мм. Контрольну пробу готують як і дослідну, але розведену сироватку додають після інкубації. Активність ферменту розраховують за калібрувальним графіком, умови побудови якого наведені у таблиці.

№ пробірки	Робочий стандартний розчин натрію пірувату, мл	Розчин 0,03 моль/л натрію пірофосфату, мл	Дистильована вода, мл	Вміст пірувату в пробі, мкмоль	Одиниці активності ЛДГ, ммоль/л·год	Екстинкція
1	0,1	0,8	0,5	0,01	1,2	
2	0,2	0,8	0,4	0,02	2,4	
3	0,4	0,8	0,2	0,04	4,8	
4	0,6	0,8	–	0,06	7,2	
5	0,8	0,8	–	0,08	9,6	

8. Назвіть тип інгібування, при якому інгібітор приєднується ні до активного центру ферменту, а до іншої специфічної ділянки молекули.
- A. Алостеричне. C. Безконкурентне. E. Конкурентне.*
B. Неконкурентне. D. Субстратне.
9. Ензимотерапія – напрям медичної ензимології, пов'язаний із застосуванням ферментів для лікування різних захворювань. Назвіть фермент, який застосовується у комплексній терапії з метою усунення набряків, гематом, келоїдних рубців.
- A. Карбоксипептидаза. C. Пепсин. E. Ліпаза.*
B. Колагеназа. D. Амілаза.
10. До відділення інтенсивної терапії доставлена жінка з діагнозом – інфаркт міокарда. Активність якого ферменту буде підвищеною протягом перших двох діб?
- A. Аланінамінотрансферази. C. Аспаратамінотрансферази. E. ЛДГ5.*
B. γ -Глутамілтранспептидази. D. ЛДГ4.
11. У хворого – гострий панкреатит. Які препарати повинен призначити лікар, щоб уникнути аутолізу підшлункової залози?
- A. Активатори протеаз. C. Хімотрипсин. E. Інгібітори протеаз.*
B. Трипсин. D. Амілазу.
12. Одним із шляхів регуляції активності ацетил-КоА-карбоксилази (лімітуючого ферменту в синтезі жирних кислот) є ретроінгібування кінцевим продуктом – пальмітоїл-КоА. Ретроінгібування є варіантом:
- A. Ковалентної модифікації ферменту. D. Алостеричного інгібування.*
B. Конкурентного інгібування. E. Неконкурентного інгібування.
C. Необоротного інгібування.
13. У пацієнта прогресуюча м'язова дистрофія. Який з нижче перелічених біохімічних показників має діагностичне значення у цьому випадку?
- A. Креатинфосфокіназа. C. Лактатдегідрогеназа. E. Аденілатциклаза.*
B. Піруватдегідрогеназа. D. Глутаматдегідрогеназа.
14. Активність яких ферментів слід визначати з діагностичною і прогностичною метою, якщо до клініки поступив хворий з патологією серцевого м'яза?
- A. Лізоциму, цитратсинтази, альдолази.*
B. Нейрамінідази, гексокінази, піруваткінази.
C. Малатдегідрогенази, піруватдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази.
D. Креатинкінази, аланін- і аспаратамінотрансферази.
E. Аргінази, пептидази, фосфатази.
15. Назвіть тип інгібування, при якому хімічну будову інгібітора нагадує будову субстрату.
- A. Неконкурентне. C. Безконкурентне. E. Необоротне.*
B. Конкурентне. D. Субстратне.
16. Табун, зарин, дізопропілфторфосфат (фосфорорганічні сполуки) є отрутами нервово-паралітичної дії. Який з перелічених ферментів інгібується фосфорорганічними сполуками?
- A. Фосфоліпаза А2. D. Ангіотензин-перетворюючий фермент.*
B. Ацетилхолінестераза. E. Тирозинамінотрансфераза.
C. Цитохром Р-450.
17. Ферменти широко використовуються як лікарські препарати. Який з наведених ферментів використовується для лікування лейкозів?
- A. Аспарагіназа. C. Енолаза. E. Каталаза.*
B. Дегідрооротаза. D. Фумараза.
18. Ензимотерапія – напрям медичної ензимології, пов'язаний із застосуванням ферментів для лікування різних захворювань. Назвіть фермент, який застосовується при лікуванні інфаркту міокарда.
- A. Фосфофруктокіназа. C. Стрептокіназа. E. Фосфогліцерокіназа.*
B. Піруваткіназа. D. Гексокіназа.

19. При аналізі шлункового соку хворого з діагнозом гіпоацидний гастрит виявлено значне зниження активності пепсину. Укажіть можливий біохімічний механізм цього явища.

- A. Денатурація молекули ферменту.*
- B. Конкурентне інгібування ферменту.*
- C. Зниження енергії активації ферментативної реакції.*
- D. Відсутність внутрішнього фактора Касла в шлунковому соку.*
- E. Порушення утворення ферменту з проферменту.*

20. Укажіть активатор амілази слини.

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

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

- A. Конкурентне.*
- B. Неконкурентне.*
- C. Безконкурентне.*
- D. Стереохімічне.*
- E. Ретроінгібування.*

22. Укажіть фермент, активність якого визначається у плазмі крові пацієнтів з патологією кісткової тканини:

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

23. Який механізм інгібування синтезу фолієвої кислоти сульфаніламідними препаратами?

- A. Конкурентний.*
- B. Необоротний.*
- C. Денатурація ферменту.*
- D. Неконкурентний.*
- E. Зв'язування з алостеричними центрами ферментів.*

Завдання 1. Кілька років тому в одному з метро країни Східної Азії терористи розпорошили одну з найсильніших отруйних речовин – зарин. Багато пасажирів знепритомніли, деякі померли внаслідок зупинки дихання. На чому ґрунтується нервово-паралітична дія зарину? Активність якого ферменту та як зміниться в крові при отруєнні цією речовиною.

Завдання 2. На чому заснована дія аспірину як жарознижуючого засобу, ліки, що знімає слабкі болі та зменшує запальні процеси? Назвіть фермент, інгібітором якого є аспірин. У чому полягає причина зміни конформації молекули ферменту при дії на неї аспірину, чи оборотна інактивація ферменту?

Завдання 3. Поясніть, чому сульфаніламідні препарати мають антибактеріальну дію, не проявляючи при цьому цитостатичного впливу на клітини людини. Для цього:

а) поясніть механізм дії цих препаратів;

б) які процеси, що порушуються у бактеріальних клітинах при введенні сульфаніламідних препаратів?

Завдання 4. Описати і пояснити зворотне, незворотне, конкурентне, неконкурентне інгібування, навести приклади таких інгібіторів.

Завдання 5. Пояснити обмежений протеоліз, навести приклади.

Завдання 6. Описати будову, локалізацію та значення для діагностики ізоферментів лактатдегідрогенази, креатинфосфокінази.

Завдання 7. 55-річна жінка з діагнозом «міастенія гравіс» відчуває сильну м'язову слабкість та втому, що виникає внаслідок зниження кількості ацетилхоліну в м'язах. Їй призначили фізостигмін, препарат, який підвищує рівень ацетилхоліну шляхом інгібування ацетилхолінестерази. Поясніть механізм дії фізостигміну.

ЛІТЕРАТУРА

Базова

1. Біологічна хімія : підручник / Ю. І. Губський, І. В. Ніженковська, М. М. Корда [та ін.] ; за ред. І. В. Ніженковської. Вінниця : Нова Книга, 2021. 648 с.
2. Біохімія людини : підручник / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук ; за ред. Я. І. Гонського. 3-тє вид., випр. і доп. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. 736 с.
3. Біологічна хімія : підручник / О. Я. Склярів, Н. В. Фартушок, Т. І. Бондарчук. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. 706 с.
4. Біологічна хімія : підручник / за ред. О. Б. Столяр. Київ : КНТ, 2020. 368 с.
5. Біоорганічна та біологічна хімія : навч. посібник / М. М. Корда [та ін.] ; за ред. проф. М. М. Корди. Тернопіль : ТНМУ ; Укрмедкнига, 2024. 279 с.
6. Біологічна хімія : навч. посібник / Л. І. Гребеник, Л. О. Прімова, Н. М. Іншина [та ін.] ; за ред. Л. І. Гребеник. Суми : СумДУ, 2023. 380 с. [Електронний ресурс]
7. Biological and Bioorganic Chemistry : Textbook / Yu. I. Gubsky, I. V. Nizhenkovska, M. M. Korda. Kyiv : AUS "Medicine", 2021. 544 p.
8. MCQs in Biochemistry, 2nd edition / A. Ya. Sklyarov et al. Lviv : Danylo Halytsky Lviv National Medical University Press, 2020. 319 p.

Допоміжна

1. Збірник тестових завдань для підготовки до складання I етапу ЄДКІ КРОК-1 «Біологічна хімія» для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти галузі знань 22 «Охорона здоров'я» спеціальності 222 «Медицина» / Л. В. Яніцька, Н. В. Оберніхіна, О. В. Стеченко [та ін.]. Київ : Книга-плюс, 2025. 15 с.
2. Петров С. А. Патологічна біохімія : підручник / С. А. Петров. Херсон : Олді-плюс, 2021. 145 с.
3. Біологічна хімія : навч.-метод. посібник . Частина 1. / О. Я. Склярів, Т. М. Макаренко, Л. П. Білецька [та ін.] ; за ред. О. Я. Склярів. Львів : Видавництво ЛНМУ, 2021. 185 с.
4. Біологічна хімія : навч.-метод. посібник. Частина 2 / О. Я. Склярів, Т. М. Макаренко, Л. П. Білецька [та ін.] ; за ред. О. Я. Склярів. Львів : Видавництво ЛНМУ, 2018. 153 с.
5. Біохімія. Короткий курс : навч. посібник / З. М. Скоробогатова, М. А. Сташкевич, А. Г. Матвієнко. Київ : Біокомполіт, 2019. 148 с.
6. Клінічна лабораторна діагностика / Л. Є. Лаповець, Г. Б. Лебедь, О. О. Ястремська [та ін.] ; за ред. Л. Є. Лаповець. Київ : Медицина, 2019. 472 с.
7. Ferrier D. R. Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry. South Asian Edition. Wolters Kluwer, 2020. 950 p.
8. Harper's Illustrated Biochemistry / V. W. Rodwell, D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kenelly, P. A. Weil. 31st ed. USA : The McGraw-Hill Companies Inc., 2018. 800 p.
9. Lieberman M. A., Peet A. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach / M. A. Lieberman, A Peet. 5th edition. Wolters Kluwer, 2017. 1008 p.
10. Clinical Chemistry / W. Marshall, M. Lapsley, A. Day, K. Shipman. Elsevier, 2020. 432 p.
11. Lehninger Principles of Biochemistry / D. L. Nelson, M. M. Cox. 8th edition. W. H. Freeman and Company, New York, 2021. 1328 p.

Навчальне видання

**ВВЕДЕННЯ В БІОХІМІЮ.
БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ КЛІТИНИ.
ОСНОВИ БІОКАТАЛІЗУ.
БІОХІМІЯ ФЕРМЕНТІВ**

***Методичні вказівки
для самостійної роботи студентів 2-х курсів
за спеціальностями «Медицина» та «Стоматологія»***

Упорядники Наконечна Оксана Анатоліївна
 Бачинський Руслан Орестович
 Ярмиш Наталія Василівна
 Васильєва Ірина Михайлівна

Відповідальний за випуск О. А. Наконечна



Редактор, коректор М. Ю. Орлова
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко

Формат А5. Ум. друк. арк. 5,0. Зам. № 25-114.

**Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmurio@gmail.com, vid.redact@knmu.edu.ua**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.