

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ  
РІВНЕНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ГУМАНІТАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ПОНТКОВСЬКИЙ В.К.**

**БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТА  
БІОХІМІЯ РУХОВОЇ  
АКТИВНОСТІ  
НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК**

**Рівне-2020**

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ  
РІВНЕНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ГУМАНІТАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ПОНТКОВСЬКИЙ В.К.**

**БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТА БІОХІМІЯ  
РУХОВОЇ АКТИВНОСТІ  
НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК**

**Рівне-2020**

УДК378.016.61

З-62

## РЕКОМЕНДОВАНО

Навчально-методичною комісією Психолого-природничого факультету  
Рівненського державного гуманітарного університету  
(протокол №8 від 31 серпня 2020 року)

Рецензенти:

Гуцман С.В. доцент, канд.. біол.наук, завідувач кафедри медико-біологічних  
дисциплін НУВГП

Лисиця А. В. - доктор біологічних наук, професор кафедри екології, географії та  
туризму Рівненського державного гуманітарного університету

Піонтковський В.К.

Біологічна хімія та хімія рухової активності: навчально-методичний посібник/  
В.К. Піонтковський. Рівне:О.Зень, 2020. – 50с.

У навчально-методичному посібнику представлені навчальні матеріали,  
методичні розробки до лабораторних занять з курсу «Біологічна хімія та біохімія  
рухової активності».

Навчально-методичний посібник призначений для студентів спеціальності 227  
«Фізична терапія, ерготерапія» вищих навчальних закладів, фізичних терапевтів,  
тренерів, учителів фізичної культури, аспірантів і викладачів ВНЗ.

© Піонтковський В.К., 2020

© О.ЗЕНЬ, 2020

## Зміст

Вступ	4
Програма навчальної дисципліни	6
Лабораторна робота 1. Визначення білків м'язової тканини	8
Лабораторна робота 2. Визначення продуктів глікогенолізу у м'язовій тканині.	10
Лабораторна робота 3. Визначення вмісту креатинфосфату та креатиніну у м'язах	12
Лабораторна робота 4. Дослідження фізико-хімічних властивостей сечі	15
Лабораторна робота 5. Дослідження фізіологічних показників сечі	18
Лабораторна робота № 6. Визначення вмісту глюкози, кетонових тіл, гемоглобіну та пігментів у сечі	20
Лабораторна робота № 7. Визначення показників антиоксидантного статусу організму	22
Лабораторна робота 8. Визначення супероксиддисмутазної та глутаміноредуктазної та глутатіонпероксидазної активності крові	28
Лабораторна робота 9. Шляхи енергозбереження циклічної роботи субмаксимальної та максимальної потужності	31
Лабораторна робота 10. Шляхи енергозбереження циклічної роботи великої та помірної потужності	33
Лабораторна робота 11. Біохімічні особливості стану організму, зумовлених м'язовою діяльністю.	36
Лабораторна робота 12. Біохімічні особливості тренованого організму.	40
Питання гарантованого рівня знань до іспиту з курсу «Біологічна хімія та біохімія рухової активності»	43
Рекомендована література	47
Інформаційні (інтернет) ресурси	48

## Вступ

Біохімія та біохімія рухової активності є фундаментальною дисципліною, яка вивчає хімічний склад організму та перебіг біохімічних процесів, на яких базується оцінка функціонального стану організму людини та механізми забезпечення їх працездатності у різних умовах м'язової діяльності. Методи біохімії широко використовують у ході комплексної оцінки структури функціональної підготовленості у процесі етапного контролю за відновленням основних фізіологічних параметрів.

Зміст навчальної дисципліни формує у здобувачів вищої освіти науковий світогляд, підвищує рівень загальної та професійної культури.

Метою викладання навчальної дисципліни «Біологічна хімія та біохімія рухової активності» є оволодіти комплексом знаннями про предмет і об'єкт біохімії та біохімії м'язової активності. Ознайомитися з основними біохімічними методами контролю в практиці занять фізичною культурою осіб різного віку і статі та навчитися інтерпретувати дані біохімічних досліджень.

Завдання навчального курсу є ознайомлення здобувачів з особливостями біохімічних перетворень в організмі при м'язовій діяльності, біохімічними закономірностями організації фізичного виховання в професійній діяльності з метою формування позитивного впливу систематичних занять фізичними вправами на стан здоров'я і працездатність людей різного віку і статі.

У результаті вивчення курсу здобувач вищої освіти повинен володіти відповідними компетентностями, як – от:

*Загальні компетентності:*

ЗК 01. Знання та розуміння предметної області та розуміння професійної діяльності.

ЗК 11. Здатність вчитися і оволодівати сучасними знаннями.

*Спеціальні (фахові, предметні) компетентності*

СК 02. Здатність аналізувати будову, нормальний та індивідуальний розвиток людського організму та його рухові функції.

СК 03. Здатність трактувати патологічні процеси та порушення і застосовувати для їх корекції придатні засоби фізичної терапії, ерготерапії.

СК 04. Здатність враховувати медичні, психолого-педагогічні, соціальні аспекти у практиці фізичної терапії, ерготерапії.

*Програмні результати навчання:*

ПР 04. Застосовувати у професійній діяльності знання біологічних, медичних, педагогічних та психосоціальних аспектів фізичної терапії та ерготерапії.

ПР 12. Застосовувати сучасні науково-доказові дані у професійній діяльності.

У результаті вивчення навчальної дисципліни здобувач вищої освіти повинен знати: будову та функції хімічних речовин та їх роль в метаболічних процесах організму; будову, хімічний склад, структуру м'язового волокна; сучасне уявлення про м'язове розслаблення і скорочення, закономірності енергетики м'язової роботи і біохімічної адаптації організму різного віку до вправ різної тривалості та інтенсивності.

вміти: проводити біохімічні дослідження, які використовуються в практиці фізичного терапевта для визначення реакцій організму різних груп населення на фізичні навантаження; самостійно інтерпретувати одержані дані.

## Програма навчальної дисципліни

### **Змістовний модуль 1. Основи біохімії.**

Тема 1. Вступ до біохімії. Історія розвитку біохімії.

Предмет та задачі біохімії спорту. Теорія та методи біохімії. Об'єкт пізнання біохімії. Область вивчення біохімії. Зміст біохімії. Етапи розвитку біохімії. Роль біохімічних процесів в процесах метаболізму.

Тема 2. Хімічні основи життєдіяльності організму. Органічні та неорганічні сполуки. Значення води у біохімічних реакціях. Макро та мікроелементи. Поняття про органічні сполуки.

Тема 3. Обмін речовин в організмі. Обмін речовин – необхідна умова існування живого організму. Катаболічні і анаболічні реакції – дві сторони обміну речовин. Види обміну речовин. Етапи розпаду поживних речовин та вилучення енергії в клітинах. Клітинні структури і їх роль в обміні речовин. Регуляція обміну речовин.

Тема 4. Поняття про водно-сольовий обмін. Розчини та їх значення в організмі. Кислотність та осмотичний тиск розчину. Баланс води і солей в організмі. Регуляція водно-сольового обміну.

Тема 5. Біохімія вуглеводів. Хімічний склад і біологічна роль вуглеводів. Характеристика класів вуглеводів. Внутрішньоклітинний обмін вуглеводів.

Тема 6. Біохімія ліпідів. Хімічний склад і біологічна роль ліпідів.

Характеристика класів ліпідів. Внутрішньоклітинний обмін жирів. Порушення ліпідного обміну.

Тема 7. Біохімія білків. Хімічний склад і біологічна роль білків. Структурна організація білків. Обмін білків в організмі.

Тема 8. Ферменти – біологічні каталізатори. Загальна уява про ферменти. Будова ферментів і коферментів. Форми та властивості ферментів. Механізм дії ферментів. Фактори, що впливають на дію ферментів (активатори і інгібітори) Класифікація ферментів.

Тема 9. Вітаміни і їх біологічне значення. Загальна уява про вітаміни, та їх класифікація. Характеристика жиророзчинних вітамінів. Характеристика водорозчинних вітамінів. Вітаміно-подібні речовини.

Тема 10. Інтеграція і регуляція обміну речовин – біохімічна основа процесів адаптації. Взаємоперетворення вуглеводів жирів і білків. Регуляторні системи обміну речовин.

Роль окремих тканин в інтеграції проміжного обміну.

## **Змістовний модуль 2. Біохімія рухової активності.**

Тема 11. Біохімія м'язового скорочення. Типи м'язових волокон та їх структурна організація. Хімічний склад м'язових волокон. Молекулярний механізм м'язового скорочення. Механізми енергоутворення. Адаптація енергетичних систем при різних фізичних навантаженнях.

Тема 12. Біохімічні основи якостей рухової активності та шляхи їх розвитку. Біохімічні зміни в організмі під час м'язової діяльності різного характеру. Біохімічна характеристика швидкісно-силових якостей. Біохімічні основи витривалості. Методи тренування, що сприяють розвитку витривалості.

Тема 13. Закономірності біохімічної адаптації в процесі відновної діяльності організму.

Закономірності розвитку біохімічної адаптації. Специфічність адаптаційних змін в організмі. Зворотність і послідовність адаптаційних змін.

Тема 14. Біохімічний контроль при руховій діяльності. Задачі види і організація біохімічного контролю. Об'єкти дослідження і основні біохімічні показники. Основні біохімічні показники стану крові і сечі, їх зміни при м'язовій діяльності. Біохімічний контроль за рівнем тренуваності, втоми та відновленням організму спортсменів.

Тема 15. Біохімічна характеристика різновидів фізичної діяльності оздоровчого спрямування.



## Лабораторна робота 1

### Тема: Визначення білків м'язової тканини

М'язи складаються із 72—80 % води і 20—28 % сухого залишку. Більшу частину сухого залишку утворюють білки, а решту — азотисті і безазотні органічні речовини, мінеральні солі, вільна фосфорна кислота.

Під час обробки подрібненої м'язової тканини водою у розчин переходять саркоплазматичні білки міогенової групи (ряд ферментів гліколізу міоальбумін, міоглобін).

Якщо після екстракції водою м'язову тканину обробити слабким сольовим розчином (0,1М розчин KCl), в нього переходять білки-глобуліни. У результаті обробки концентрованішими сольовими розчинами (0,6-1,0М NaCl або KCl) вивільняються міофібрилярні білки (міозин, тропоміозин, креатинфосфокіназа). Для виділення мітохондріальних білків застосовуються спеціальні методи.

Після обробки м'язів різноманітними розчинниками залишається нерозчинний осад білків м'язової стромы. М'язова строма має велику еластичність і відіграє важливу роль у розслабленні м'язів.

Поряд з білками у м'язах містяться азотисті сполуки, з яких найважливіші АТФ та КФ, що є енергетичними джерелами м'язового скорочення. Продукти розщеплення цих сполук — АДФ, АМФ, креатин — виявляють регулюючу дію на обмін речовин у м'язах.

У скелетних м'язах людини міститься карнозин, що бере участь у принесенні фосфатних залишків і стимулює передачу нервових імпульсів, і карнітин, що бере участь у перенесенні жирних кислот через мембрани клітин.

До важливих безазотистих сполук м'язів належать глікоген, продукти його обміну, жири, холестерол, кетоніві тіла і мінеральні солі.

У м'язах міститься протоплазматичний (зв'язаний з білками) жир (1 %).

У м'язах спортсменів, специфічно тренуваних на витривалість до тривалої роботи, можуть накопичуватися запасні саркоплазматичні жири.

Найважливішу роль у регуляції біохімічних процесів у м'язах відіграють іони  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cr$ ,  $H_2PO_4$ ,  $HPO_4$ , які становлять 1-1,5% маси м'яза.

Аніони фосфорної кислоти за додавання молібдату амонію у кислому середовищі дають жовтий осад у результаті утворення комплексної фосфомолібденової сполуки. Іони  $Cr$  виявляються за проявом осаду під час додавання солей срібла (утворення не розчинного  $AgCl$ ), іони  $SO_4^{4-}$  — за проявом осаду під час додавання хлориду барію (утворення нерозчинної солі  $BaSO_4$ ).

#### Дослід 1. Підготовка тканинних екстрактів

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 8%розчин  $NH_4Cl$ , 5%-ний

розчин KCl, м'язова тканина, гомогенізатор, скляні палички, хімічні склянки, колби, марля, фарфорові ступки, воронки, паперові фільтри, мірні циліндри, технічні ваги.

**Хід роботи.** 10 г м'язової тканини гомогенізують в гомогенізаторі з 30 мл води і відстоюють 15хв, періодично помішуючи скляною паличкою. Потім рідину фільтрують через три шари марлі у чисту колбу. Залишок м'язової тканини у склянці заливають 30мл води, помішують 15хв і знову фільтрують у колбу.

Колбу з об'єднаним водним екстрактом тимчасово відставляють, а залишок у склянці з м'язовою тканиною переносять до фарфорової ступки і заливають 30мл 8%-го розчину  $\text{NH}_4\text{Cl}$  або 5% розчину KCl і залишають на 30-60хв, час від часу розмішуючи пестиком. Рідину фільтрують через паперовий фільтр у чисту суху колбу і використовують для подальших досліджень.

### **Дослід 2.** Виявлення білків м'язової тканини

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 10%-й розчин NaOH, 2%-й розчин сульфосаліцилової кислоти, водний екстракт м'язової тканини, штатив з пробірками, піпетки на 2мл, очні піпетки.

**Хід роботи.** У дві пробірки наливають по 2мл водного екстракту. У першій пробірці проводять біуретову реакцію. До досліджуваної рідини додають 2мл 10%-го розчину NaOH і 2-3 краплі (не більше) 2%-го розчину  $\text{CuSO}_4$ .

У другій пробірці проводять осадження білка. До досліджуваної рідини додають 5 - 6 крапель 10%-го розчину сульфосаліцилової кислоти і спостерігають утворення осаду білка.

### **Дослід 3.** Виявлення структурних білків м'язів

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: біуретовий реактив, сольовий екстракт м'язів, штатив із пробірками, дозатори на 2мл.

**Хід роботи.** У дві пробірки наливають по 2мл сольового екстракту м'язової тканини. У першій проводять біуретову реакцію. Рідину у другій пробірці розчиняють дистильованою водою до появи помутніння й осаду (випадіння з розчину нерозчинних у воді глобулінів).

### **Дослід 3.** Виявлення фосфат-, хлорид-, сульфат-іонів

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 3%-й розчин молібдату амонію, азотна кислота, 1%-й розчин нітрату срібла, 1%-й розчин хлориду барію, безбілковий екстракт м'язової тканини, штатив з пробірками, дозатори на 1мл.

**Хід роботи.** У три пробірки наливають по 1мл безбілкового екстракту. У першу додають такий самий об'єм 3%-го розчину молібдату амонію, підкислюють азотною або соляною кислотою та кип'ятять. З'являється жовте забарвлення або випадає жовтий осад (залежно від кислотності).

У другу пробірку додають кілька крапель 1 %-го розчину нітрату срібла. Спостерігають випадіння осаду.

У третю пробірку додають кілька крапель 1 %-го розчину хлориду барію. Випадає білий осад.

**Питання для самопідготовки:**

1. Обґрунтуйте функції білків.
2. Яка біологічна роль простих білків?
3. Яка біологічна роль складних білків?
4. Які існують водорозчинні білки м'язової тканини?
5. Яким розчином проводять екстракцію глобулінів?
6. Як виявляють актин, міозин, інші міофібрилярні білки?
7. Яка біологічна роль АТФ, КФ і продуктів обміну цих сполук?
8. Які безазотисті сполуки містяться у м'язовій тканині?
9. Які іони входять до складу м'язової тканини?
10. В чому суть перетворення амінокислот в клітині?

**Лабораторна робота 2**

**Тема: Визначення продуктів глікогенолізу у м'язовій тканині.**

**Дослід1.** Вивчення глікогенолізу у м'язовій тканині

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 20 %-й розчин трихлороцтової кислоти (ТХО), 20 %-й розчин сульфату міді (II), гідроксид кальцію (порошок), концентрована  $H_2SO_4$ , вазелінове масло, 0,5 %-й розчин глюкози або глікогену у 0,5 М розчині гідрокарбонату натрію, 0,2 %-й спиртовий розчин вератролу (диметиловий ефір пірокатехіну) або 0,2 %-й розчин гваяколу, 1/15М фосфатний буфер (рН = 8), 2,5 %-й розчин молібдату амонію в 2,5М розчині  $H_2SO_4$ , розчин аскорбінової кислоти (1 мг в 1 мл), свіжа печінка або м'язова тканина пацюка, штатив з пробірками, термостат, водяна баня, піпетки на 1, 3, 10 мл, лійки, скляні палички, ножиці, чашки Петрі, ваги, чашка із льодом, фільтри, мірні пробірки на 10 мл, дозатори.

**Хід роботи.** У дві пронумеровані пробірки (дослідна і контрольна) наливають по 2 мл 1/15М фосфатного буферу (рН = 8) і по 3 мл 0,5 %-го розчину глікогену або глюкози, приготованого на 0,5М розчині гідрокарбонату натрію. У контрольну пробірку додають 1 мл 20 %-го розчину ТХО для осадження білків та інактивації ферментів.

Охолоджену м'язову тканину подрібнюють ножицями у чашці Петрі, потім по 0,5 г отриманої маси поміщають у дві пробірки. Старанно розмішують вміст скляними паличками, нашаровують в обидві пробірки по 10 крапель вазелінового масла (для створення анаеробних умов) і ставлять у термостат при 37—38 °С. Потім у дослідну пробірку додають 1 мл 20 %-го розчину ТХО, перемішують і вміст обох пробірок фільтрують у сухі пробірки. Далі виявлення молочної кислоти і

неорганічного фосфору проводиться окремо.

**Виявлення накопичення молочної кислоти у процесі глікогенолізу.** Отриманий у попередніх дослідах фільтрат звільняють від вуглеводів. Для цього із дослідної і контрольної пробірок беруть по 1 мл безбілкового фільтрату і переносять у дві пробірки, де міститься по 0,5 мл 20 %-го розчину  $\text{CuSO}_4$  і 0,5 г кристалічного  $\text{CaO}$ . Вміст пробірок старанно перемішують скляними паличками і залишають при кімнатній температурі. Через 15 хв фільтрують. У дві сухі пробірки вносять по 5 крапель прозорого фільтрату дослідної і контрольної проб, ставлять їх у чашку з льодом і повільно додають по 15 крапель концентрованої  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , постійно струшуючи пробірки. Потім на 4 хв. пробірки занурюють у киплячу водяну баню і знову охолоджують у чашці з льодом. Після охолодження в обидві пробірки додають по 2 краплі 0,2 %-го розчину вератролу, струшують і спостерігають за зміною забарвлення. Через кілька хвилин вміст дослідної пробірки, де відбувся гліколіз, набуває яскраво-рожевого, а у контрольній — слаборожевого забарвлення, зумовленого наявністю слідів молочної кислоти у м'язовій тканині.

**Виявлення використання неорганічного фосфору у процесі глікогенолізу.** Із дослідної і контрольної проб беруть по 2мл безбілкового фільтрату і містять у дві мірні пробірки на 10мл. Додають в обидві пробірки по 1мл молібдату амонію і по 1мл аскорбінової кислоти у якості відновника, перемішують і доводять вміст водою до мітки. Через кілька хвилин у дослідній і контрольній пробах порівнюють інтенсивність забарвлення. Забарвлення контрольної проби менш виражене внаслідок використання неорганічного фосфору у процесі глікогенолізу.

**Дослід 2.** Виявлення молочної кислоти у м'язовій тканині (реакція Уфельмана).

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 1%-й розчин хлориду заліза (III), 1%-й розчин фенолу, 5%-й розчин молочної кислоти, свіжа м'язова тканина лабораторної тварини, штатив з пробірками, ножиці, фарфорова ступка, лійки, марля, водяна баня, дозатори на 1 і 5мл, чашка Петрі.

**Хід роботи.** 2 - 3 г м'язової тканини подрібнюють у чашці Петрі ножицями і кладуть у фарфорову ступку, де розтирають з 5 - 6 мл дистильованої води. Отриману речовину фільтрують через два шари марлі. Фільтрат кип'ятять протягом 1 хв. і знову фільтрують.

У три пробірки, що містять по 5мл 1%-го розчину фенолу, краплями додають 1%-й розчин  $\text{FeCl}_3$  до появи інтенсивного фіолетового забарвлення. До першої пробірки доливають 1мл 0,5%-го розчину молочної кислоти, до другої — 1мл витяжки із м'язової тканини, до третьої — 1мл води і добре перемішують. Стежать за зміною забарвлення, роблять висновки стосовно наявності молочної кислоти у

м'язовій тканині.

**Питання для самопідготовки:**

1. Які ферменти беруть участь у гліколізі?
2. Який фермент каталізує першу реакцію розщеплення глікогену?
3. Які ферменти каталізують реакції гліколізу (глікогенолізу), що супроводжуються утворенням АТФ (субстратне фосфорилування)?
4. Який фермент каталізує перетворення молочної кислоти на піровиноградну? Напишіть реакцію.
5. Які шляхи перетворення молочної кислоти, утвореної під час гліколізу?
6. В чому подібність і відмінність гліколізу і глікогенолізу? В яких органах вони переважають?
7. В чому суть аеробного окислення вуглеводів? Яка його енергетична цінність?
8. В якому випадку при вивченні органічних сполук застосовують реактив Селіванова?
9. Як виявити чи володіють дисахариди відновними властивостями?
10. В чому полягає реакція Уффельмана, для чого її використовують?

**Лабораторна робота 3**

**Тема: Визначення вмісту креатинфосфату та креатиніну у м'язах**

Вміст АТФ в організмі є досить постійною величиною. За мірою розщеплення АТФ проходить її ресинтез. Існують анаеробні і аеробні шляхи ресинтезу АТФ. Анаеробних шляхів є три, серед них у процесі енергозабезпечення першою включається креатинфосфокіназна реакція. Вона здійснюється за рахунок креатинфосфату (КФ), каталізується ферментом креатинфосфокіназою (КФК) і бере участь у перенесенні фосфатних груп з молекули КФ на АДФ або АМФ:

Вміст креатинфосфату у м'язах приблизно втричі перевищує вміст АТФ і становить 15 - 16 ммоль/кг м'язової тканини.

На другій секунді роботи швидкість цієї реакції максимальна, а через 5 - 6с, коли резерви КФ використовуються на 1/3, швидкість креатинфосфокіназної реакції знижуватися. Одночасно в процес ресинтезу АТФ вступає гліколіз.

Креатинфосфокіназна реакція зворотня, прискорюється за появи надлишку АТФ після закінчення роботи і веде до відновлення запасів КФ. Відновлення КФ можливе і під час тривалої роботи аеробного характеру.

Креатинфосфокіназна реакція відіграє основну роль в енергозабезпеченні фізичних вправ максимальної потужності (біг на короткі дистанції, метання тощо). За рахунок цієї реакції здійснюється старт, різкі прискорення у процесі виконання навантаження, фінішні прискорення.

Нині відомо, що креатинфосфокіназна реакція — універсальний механізм транспорту енергії від місць її утворення (мітохондрії, цитоплазма) до місць її використання (міофібрили, біологічні мембрани). Виявилося, що КФК міокарда має ряд ізоферментів, що локалізовані у мітохондріях, цитоплазмі, міофібрилах, мембранах. Скелетні м'язи в основному містять два ізоферменти: КФК цитоплазматичну і міофібрилярну.

Мітохондріальна КФК локалізована на зовнішній стороні внутрішньої мембрани мітохондрії. У присутності креатину КФК каталізує синтез КФ з АТФ, що утворилася в результаті окисного фосфорилування. Мітохондріальна КФК функціонально споріднена з ферментом АТФ-АДФ-транслоказаю, що переносить АТФ із матрикса в обмін на позамітохондріальний АДФ. Спорідненість дії цих двох ферментів порушує рівновагу КФК-реакції у бік синтезу КФК. Таким чином, КФК-реакція щільно пов'язана з окисним фосфорилуванням, домінує під час фізичних навантажень, що зумовлені проявом витривалості. За наявності пулу креатину КФК бере участь в утворенні КФ і у транспорті енергії макроергічних зв'язків до міофібрил.

Показано, що цитоплазматична КФК споріднена з гліколізом, а ініціаторами її активності є ряд проміжних продуктів гліколізу (глюкозо-6-монофосфат, фруктозо-1,6-дифосфат, лактат тощо).

Виходячи з викладеного, можна зробити такий висновок: скоротливість м'язів залежить від клітинної концентрації КФ, що надходить з мітохондрій і цитоплазми до міофібрил, і активності КФК, яка є ферментом, що забезпечує використання молекули КФ під час скорочення м'язів.

Про спорідненість між виникненням енергії у процесі гліколізу, дихального фосфорилування і транспортної функції КФ-механізму свідчить вміст у крові неорганічних сполук фосфору (Фн), креатину та іонів магнію.

Креатинін — це ангідрид креатину, що є складовою частиною м'язів, крові і сечі, один з кінцевих продуктів білкового обміну. За добу у людини із сечею виділяється близько 1,3-2 г креатиніну, що відповідає 2,5-6,9 % всього азоту у сечі.

Контроль динаміки креатиніну під час різних видів фізичних навантажень (особливо короткочасних максимальних) дозволяє непрямо оцінити стан креатинфосфокіназної системи. Якщо спостерігається пряма кореляція між наростанням лактату, Фн,  $Mg^{2+}$  і креатиніну, то можна говорити про спорідненість гліколізу з креатинфосфокіназною реакцією і функцією скоротливого комплексу м'язів. Зворотна залежність динаміки будь-якого з показників дозволяє виявити лімітуючу ланку у системі утворення енергії і м'язового скорочення.

У нормі вміст креатиніну у крові відносно постійний за результатом суворої залежності між його утворенням і виділенням. Вміст креатиніну у сироватці крові

становить 65 - 106 мкмоль/л (у середньому 88 мкмоль/л — у чоловіків і 70 мкмоль/л — у жінок).

Розроблено метод визначення креатиніну для безбілкових фільтратів крові. В основі його лежить звичайний фотометричний метод визначення креатиніну з тією різницею, що попередньо видаляють пірвиноградну кислоту, окиснюючи її сульфатом церію.

**Дослід 1.** Визначення вмісту креатинфосфату у м'язах.

Реактиви, досліджувані матеріали та обладнання: рідкий азот, 0,7%-й розчин молібдату амонію в 0,5М розчині  $H_2SO_4$ , 10%-й розчин  $NaOH$ , насичений розчин пікринової кислоти, креатинін, свіжа м'язова тканина, фарфорова ступка, дозатори на 3 і 10мл, термостат, ФЕК, колби, склянки, ваги.

**Хід роботи.** У лабораторній тварини під наркозом швидко виймають м'язи і розтирають їх у рідкому азоті. Наважку 0,5г порошку м'язової тканини містять у склянку з 10мл 0,7%-го розчину молібдату амонію у 0,5М розчині  $H_2SO_4$  і добре перемішують. Екстракція м'язового порошку молібдатом триває 40 хв. При цьому креатинфосфат розщеплюється з утворенням креатину. Білки, що осіли, відфільтровують. У фільтраті кольоровою реакцією з пікриновою кислотою якісно визначають креатин. Для цього 1 мл фільтрату відміряють у колбу на 50мл і додають 1,5мл 10%-го розчину  $NaOH$  і 3мл насиченого розчину пікринової кислоти. Суміш залишають на 10хв для розвитку забарвлення, після чого вміст колби доводять водою до мітки, перемішують і колориметрують ( $X = 820$  нм). Порівняння виконують відносно розчину основного пікрату, виготовленого аналогічно, але без додавання досліджуваного фільтрату. Розрахунки виконують за кривою, що розроблена на стандартних розчинах креатиніну.

Для виявлення всіх хромогенних речовин, що дають кольорову реакцію з пікриновою кислотою, проводять контрольний дослід. Для цього 0,5г порошку м'язової тканини містять у склянку без розчину молібдату амонію. Дворазовим зважуванням визначають масу взятого порошку. Склянку ставлять на 10—15хв у термостат. За цей час креатинфосфорна кислота повністю розщеплюється ферментативно без утворення креатиніну. Під час такого розщеплення отримується креатин. Потім у контрольну склянку додають 10мл 0,7%-го розчину молібдату амонію у 0,5М розчині  $H_2SO_4$ , інші операції проводять так само, як і в основному досліді. Різниця між кількістю креатиніну, визначеною в основному і контрольному досліді, показує кількість креатину, що утворився з креатинфосфату.

**Дослід 2.** Визначення вмісту креатиніну.

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 5%-й розчин вольфрамату натрію (з  $2H_2O$ ), 1,32М розчин  $H_2SO_4$ , 0,019М розчин сульфату церію, 10%-й розчин гідроксиду натрію, насичений розчин пікринової кислоти, сироватка або

плазма крові, ФЕК, дозатори, пробірки для центрифуги на 1 і 5 мл, центрифуга.

**Хід роботи.** До 4мл сироватки або плазми крові у пробірці додають 4мл води і 4мл 5%-го розчину вольфрамату натрію, розмішують і додають по краплях за постійного збовтування 4мл 1,32М розчину  $H_2SO_4$ . Через 10хв до прозорого центрифугату додають 2мл 0,019М розчину сульфату церія. Через 10 хв додають 2 мл 10%-го розчину гідроксиду натрію, розмішують і через 1-2хв центрифугують для відділення осаду. Прозорий центрифугат обережно зливають у кювету, додають до неї 1мл насиченого розчину пікринової кислоти, залишають на 30хв, а потім фотометрують за довжини хвилі 603 нм відносно контрольної проби, що містить воду і реактиви.

***Питання для самопідготовки:***

1. Які анаеробні шляхи ресинтезу АТФ?
2. У чому полягає сутність креатинфосфокіназної реакції?
3. Які види фізичних навантажень забезпечує креатинфосфокіназна реакція?
4. За рахунок яких шляхів ресинтезу АТФ виконуються старт і фінішне прискорення?
5. Як креатинфосфокіназний механізм ресинтезу АТФ пов'язаний із гліколізом й окисним фосфорилуванням?
6. Як утворюється креатинін з креатину?
7. У складі яких тканин можна виявити креатинін?
8. Який вміст креатиніну у крові?
9. Про що свідчить підвищення вмісту креатиніну у крові?
10. В чому суть фотометричного методу визначення креатиніну?

**Лабораторна робота 4**

**Тема: Дослідження фізико-хімічних властивостей сечі.**

Сеча — біологічна рідина, яка виробляється нирками з плазми крові і за своїм складом близька до неї, але не містить клітин крові, вуглеводів, білків. Біохімічні дослідження сечі дозволяють охарактеризувати перебіг обмінних процесів в організмі і його реакції на фізичні навантаження. Дослідження сечі — важливий діагностичний прийом у випадку виникнення патологічних процесів в організмі людини.

Сеча містить воду і розчинені у ній кінцеві і проміжні продукти обміну білків і нуклеїнових кислот, мінеральні солі та інші речовини (всього понад 150).

Речовини, що входять до складу сечі, розподіляють на фізіологічні та патологічні, або тимчасові. Такий розподіл є важливим з практичної точки зору і водночас, певною мірою умовним, оскільки до патологічних належать речовини,



які містяться в сечі здорової людини в таких низьких концентраціях, які не визначаються звичайними методами, що використовуються в біохімічних лабораторіях. Визначення речовин цієї групи в сечі за допомогою звичайних біохімічних методів досліджень є ознакою захворювання або реакції організму спортсменів на значні фізичні навантаження.

Найбільше значення у спорті та під час медичних обстежень має визначення тимчасових складових сечі: глюкози, білка, кетонових тіл, крові.

Для проведення загального аналізу беруть добову сечу, або порцію за певний час і, звичайно, ранню. Аналіз сечі починають з визначення її фізико-хімічних показників: густини, прозорості, кольору, запаху, рН.

Відносна густина віддзеркалює загальну концентрацію розчинених у сечі речовин. Цей показник у дорослої людини протягом доби коливається у межах від 1,002 до 1,035г/л, становлячи у середньому 1,012-1,020г/л. Відносна густина сечі характеризує одну з найважливіших функцій нирок — їх концентраційну здатність. У разі пошкодження ниркових каналців, недостатній продукції антидіуретичного гормону, споживанні великої кількості рідини, охолодженні сеча має низьку густину.

Підвищення відносної густини сечі зустрічається при деяких патологічних процесах (цукровий діабет, пронос, лихоманка, гіперпродукція антидіуретичного гормону), а також у спортсменів внаслідок тривалих фізичних навантажень, за підвищення температури зовнішнього середовища, використання сечогінних засобів.

### **Дослід 1.** Дослідження фізико-хімічних властивостей сечі

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: сеча, мірний циліндр на 1 або 2мл, урометри, термометр, фільтрувальний папір, скляні циліндри на 50 або 100мл, склянка, універсальний індикаторний папір (Україна), діагностичні паперові смужки «Тетрафан» (Словакія).

#### **1. Дослідження густини сечі.**

У скляний циліндр наливають сечу. Обережно опускають у сечу сухий урометр так, щоб він вільно плавав, не торкаючись стінок циліндра, і проводять підрахунок по мітці шкали урометра, що співпадає з нижнім меніском рідини. Вимірюють температуру сечі. За шкалою урометра одразу знаходять густину сечі, але оскільки він відкалібрований за певної температури, необхідно внести поправку на температуру сечі. Для цього на кожні три градуси вище 15°C додають по 0,001 до значення вимірної густини і навпаки, якщо температура нижча 15°C, то з кожних трьох градусів відраховують по 0,001. '

**2. Характеристика кольору сечі.** Колір сечі оцінюють візуально. Колір сечі здорової людини — від солом'яно-жовтого до насичено жовтого. Інтенсивність

кольору пропорційна густині сечі та величині добового діурезу. Сеча, що виділяється у великій кількості, має низьку густину. У разі зменшення діурезу густина сечі збільшується і набуває інтенсивно жовтого кольору. При попаданні сечу крові (гематурія), міоглобіну (міоглобінурія), харчових барвників, що містяться у шоколаді, смородині, чорниці, буряку, вживанні деяких лікарських засобів (амідопірина, сантоніна, антипірини тощо) сеча набуває червоного чи рожево-червоного кольору. Високий вміст у сечі білірубіну чи уробіліну надає їй коричневого, червоно-бурого чи кольору пива (при хворобі Боткіна). Молочно білою сеча буває за високого вмісту в ній гною, жирів, фосфатів.

3. **Оцінка прозорості сечі.** Прозорість сечі також оцінюють візуально. В нормі сеча прозора. Помутніння сечі може бути викликано наявністю в ній надлишку солей (урати, фосфати, оксалати, карбонати) або слизу, гною, мікроорганізмів і злущених клітин.

Помутніння сечі за основної реакції спостерігається за наявності фосфатів, за кислоти — уратів і може бути викликано також патологічними процесами нирок і сечовивідних шляхів.

4. **Визначення запаху сечі.** В нормі запах сечі здорової людини нагадує запах м'ясного бульйону або мигдалю. При розкладанні клітин у сечових шляхах сеча має гнилісний запах, а присутність великої кількості кетонових тіл (цукровий діабет, голодування) надає їй плодового запаху. Під час стояння сеча набуває аміачного запаху. Різні харчові та лікарські речовини надають сечі характерного запаху (валеріана, кава, цибуля, часник), у.

5. **Визначення рН сечі.** Показник рН сечі коливається у межах 5,0 -7,0. На його величину суттєво впливає характер дієти. Наприклад, у разі споживання переважно м'ясної їжі реакція сечі кисла, а рослинної — основна.

Дуже кисла реакція сечі буває при некомпенсованому цукровому діабеті, лихоманці, голодуванні, після тривалих фізичних навантажень. Основна реакція сечі характерна для деяких патологічних процесів (цистит, сильне блювання тощо), використанні бікарбонату натрію і споживанні лужних мінеральних вод.

Кислотність сечі визначає можливість утворення тих чи інших типів сечових каменів. Сечокислі камені найчастіше утворюються за рН нижче 5,5, оксалатні — при рН 5,5—6,0, фосфатні — при рН 7,0—7,8.

Показник рН сечі визначають напівкількісно за допомогою індикаторного паперу «Рифан», діагностичних паперових смужок «Альбуфан» (Словакія), «Тетрафан» (Словакія), «Пентафан» (Словакія), «Гептафан» (Словакія). Користуються відповідними інструкціями до індикаторів

## Лабораторна робота 5

## Тема: Дослідження фізіологічних показників сечі

### Дослід 1. Виявлення фізіологічних складових сечі

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: суміш  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  у воді, універсальний індикаторний папір, 10%-й розчин  $\text{NaOH}$ , насичений розчин пікринової кислоти, 5 %-й розчин  $\text{HNO}_3$ , нітрат срібла, 3%-й розчин молібдату амонію, насичений розчин оксалату амонію, сеча, штатив з пробірками, очні піпетки, дозатор на 2мл.

Хід роботи. 1. **Визначення солей амонію.** У пробірку наливають 2мл сечі, додають 4 краплі вапняного молока і нагрівають. Над пробіркою фіксують змочений водою індикаторний папір. Через деякий час він стає синього кольору.

2. **Визначення сечовини.** У пробірку наливають 2 мл сечі, додають 6 крапель 10%-го розчину  $\text{NaOH}$  і обережно кип'ятять. Внаслідок виявлення аміаку, що виникає під час гідролізу, індикаторний папір, змочений водою і зафіксований над пробіркою, синіє.

3. **Визначення креатину.** У пробірку наливають 1 мл сечі, додають 4 краплі 10%-го розчину  $\text{NaOH}$  і стільки ж насиченого розчину пікринової кислоти. Поява яскраво-оранжевого забарвлення свідчить про наявність креатину.

4. **Визначення хлоридів.** У пробірку наливають 2 мл сечі і додають 1-2 краплі 5%-го розчину  $\text{HNO}_3$  і 1-2 краплі розчину нітрату срібла. Хлориди утворюють білий осад.

5. **Визначення фосфатів.** У пробірку містять 1 мл сечі, підкислюють її азотною кислотою, додають 2 мл 3%-го розчину молібдату амонію і нагрівають. Поступово утворюється осад фосфомолібдату амонію.

6. **Визначення іонів кальцію.** У пробірку поміщають 2 мл сечі і додають 4 краплі насиченого розчину оксалату амонію. Випадає осад оксалату кальцію.

### Дослід 2. Визначення білка в сечі

Білки містяться у сечі здорової людини у слідових кількостях, які не визначаються звичайними якісними реакціями на білок. При хворобі нирок та ряді інших хвороб різко зростає виведення білків із сечею (протеїнурія, альбумінурія). Таке явище спостерігається також при інтенсивних заняттях фізичними вправами силового та швидко-силового спрямування, внаслідок накопичення значної кількості молочної кислоти, що збільшує проникність ниркових канальців для білків. Зазвичай, через 2 доби після інтенсивних занять аеробного характеру білок в сечі не визначається. Кількість білку в сечі не перевищує 1 % і дуже рідко досягає 4%.

Для визначення наявності білку в сечі використовують реакції осадження, але не кольорові, оскільки результат може бути замаскований насиченим забарвленням сечі.

Реактиви, досліджувані матеріали та обладнання: концентрована  $\text{HNO}_3$ , 20%-й розчин сульфосаліцилової кислоти, сеча, штатив з пробірками, піпетки різного об'єму.

**1. Проба з концентрованою азотною кислотою.** У пробірку наливають 2-3 мл концентрованої  $\text{HNO}_3$  і обережно за допомогою піпетки додають такий самий об'єм сечі. За наявності у сечі білка на межі рідини з'являється помутніння.

**2. Проба з сульфосаліциловою кислотою.** У пробірку наливають 5 мл сечі і додають 10 крапель 20%-го розчину сульфосаліцилової кислоти. За наявності у сечі білка з'являється осад або помутніння. Ця реакція більш чутливіша, ніж попередня.

**Дослід 3.** Кількісне визначення білка у сечі за допомогою концентрованої азотної кислоти

Реактиви, досліджувані матеріали та обладнання: концентрована азотна кислота, сеча, штатив з пробірками, дозатори на 2мл.

**Хід роботи.** Взяти п'ять пронумерованих пробірок і налити у кожен по 2мл води. У першу додають 2мл профільтрованої сечі. Вміст пробірки перемішують і 2 мл суміші з неї переносять у наступну пробірку і т. д. З 5-ї пробірки (після перенесення у неї 2 мл суміші з 4-ї і перемішування) — 2 мл виливають. Таким чином отримують сечу, розбавлену у 2, 4, 8, 16, 32 рази. У кожній пробірці (а також у пробірці з нерозведеною сечею) проводять реакцію з  $\text{HNO}_3$ . Відмічають найбільше розведення, за якого спостерігається позитивна реакція (помутніння білого забарвлення).

Відомо, що мінімальний вміст білка, який дає позитивну реакцію, становить 0,0033%. Для вираження результату аналізу у відсотках знайдене розведення помножують на 0,0033. Для клінічних цілей результати цього методу є досить точними.

**Дослід 4.** Кількісне визначення загального білка у сечі за допомогою сульфосаліцилової кислоти

При реакції білка з сульфосаліциловою кислотою спостерігається помутніння, насиченість якого залежить від вмісту білка.

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 3%-й розчин сульфосаліцилової кислоти, сеча, штатив з пробірками, дозатори різного об'єму, ФЕК.

**Хід роботи.** У пробірку центрифуги (градувану) наливають 1,25мл профільтрованої сечі, доливають до 5 мл 3%-м розчином сульфосаліцилової кислоти. Через 5 хв визначають оптичну густину на ФЕК відносно контрольної проби. Світлофільтр оранжевий, кювета з товщиною шару 5 мм.

У разі високого вмісту білка виконують розведення сечі звичайним способом. Для контрольної проби у пробірку центрифуги наливають 1,25мл

профільтрованої сечі і доливають до 5мл 0,9%-ним розчином NaCl. Виконують вимірювання за тих самих умов, що і дослідні проби. Під час розрахунку із оптичної густини дослідної проби вираховують оптичну густину контрольної. Розрахунок ведуть за калібровочним графіком, для побудови якого готують розведення зі стандартного розчину альбуміну у 0,9%-му розчині NaCl із вмістом білка 5, 10, 20, 50, 100мг у 100мл. З кожної пробірки беруть 1,25мл і обробляють як дослідні проби. Прямоліній на залежність при побудові калібровочного графіка зберігається до вмісту 100мг білка у 100мл 0,9 %-го розчину NaCl.

**Дослід 5.** Експрес-визначення білка у сечі за допомогою діагностичних паперових смужок

Нині для виявлення білка у сечі широкого розповсюдження набули експрес-методи «сухої» хімії — діагностичні паперові смужки «Альбуфан» (Словачія), «Біофан Е» (Німеччина), «Тетрафан» (Словачія), «Пентафан» (Словачія), «Гептафан» (Словачія), «Нефрофан» (Словачія). Вони дають можливість проводити кількісне визначення білка у сечі за інструкціями.

## **Лабораторна робота 6**

### **Тема: Визначення вмісту глюкози, кетонових тіл, гемоглобіну та пігментів у сечі.**

Глюкоза присутня в сечі здорових людей у слідових кількостях, які не визначаються звичайними лабораторними методами. Належить до граничних речовин і при збільшенні її вмісту в крові понад 10 ммоль/л починає виділятися з сечею (глюкозурія).

Виявлення глюкози у сечі в значних кількостях може бути зумовлено різними причинами: фізіологічною глюкозурією внаслідок споживання великої кількості вуглеводів, при цукровому діабеті та інших патологічних станах, при стресових станах та впливах у тому числі і фізичних навантажень тощо.

Кетонові тіла ( $\beta$ -гідроксималяна кислота, ацетооцтова кислота і ацетон) утворюються у печінці з ацетил-КоА. У здорових людей виведення кетонових тіл із сечею не перевищує 20—50 мг за добу, такі кількості звичайними лабораторними методами не визначаються.

Різке збільшення кетонових тіл в сечі (кетоз) — характерне для хворих на цукровий діабет та інші захворювання, під час голодування, внаслідок споживання великої кількості жиру, а також інтенсивних фізичних навантажень аеробного характеру, коли жири використовуються у якості енергетичного джерела. Кетоз може також спостерігатися у разі зменшення маси тіла за рахунок жирів, внаслідок споживання великої кількості м'яса (курятини, телятини), яке містить значну кількість природного L-карнітину, а також використанні спеціальних препаратів —

«опалювачів» жиру.

**Дослід 1.** Визначення глюкози у сечі.

**Хід роботи.** В пробірку наливають 2мл профільтрованої сечі і проводять реакцію Фелінга.

Нині якісне та напівкількісне експрес-визначення глюкози у сечі проводиться за допомогою паперових діагностичних смужок «Глюкотест» (Україна), «Тетрафан», «Гексафан», «Гептафан» (Словакія). Визначення проводять за інструкцією, що додається.

**Дослід 2.** Визначення кетонових тіл у сечі.

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: 10%-ний розчин нітропрусиду натрію, 10%-ний розчин їдкого натру, концентрована оцтова кислота, концентрований розчин аміаку, 10%-ний розчин хлориду заліза (III), сеча, хімічні стакани, пробірки, дозатори на 2 мл, паперові фільтри, водяна баня.

**Хід роботи.** 1. Проба Регаля на ацетон і ацетонову кислоту. У дві пробірки наливають по 0,5 мл сечі, додають по 0,5 мл 10%-го розчину NaOH і по 5-7 крапель 10 %-го розчину нітропрусиду натрію.

Спостерігають появу червоного забарвлення, яке набуває вишневого відтінку після додавання кількох крапель концентрованої оцтової кислоти. У разі отримання слабо-рожевого забарвлення проба також вважається позитивною.

2. Реакція з хлоридом заліза (III) на ацетон і ацетооцтову кислоту. У пробірку наливають 2 мл досліджуваної сечі і додають краплями 10 %-ний розчин хлориду заліза (III) до припинення випадіння фосфатів в осад. Осад фільтрують, до фільтрату додають ще кілька крапель 10 %-го  $FeCl_3$  і спостерігають появу вишневого забарвлення.

3. Реакція з нітропрусидом натрію і аміаком. У пробірку наливають 10 мл сечі і додають 1 мл 80 %-го розчину оцтової кислоти і 0,5 мл свіжовиготовленого 10 %-го розчину нітропрусиду натрію. Потім обережно нашаровують 2 мл концентрованого аміаку. При наявності у сечі кетонових тіл у місці контакту рідин утворюється фіолетове забарвлення.

4. Експрес-методи. Кетонові тіла можна кількісно визначити експрес-методами за допомогою паперових діагностичних смужок “Кетофан” (Словакія), “Пентофан” (Словакія), “Тексафан” (Словакія), “Гептафан” (Словакія). Межа визначення: 100 мг /л для ацетооцтової кислоти і 400 мг/л для ацетону. Вітчизняна промисловість також випускає таблетки для експрес-аналізу ацетону у сечі.

**Дослід 3.** Визначення у сечі еритроцитів, гемоглобіну, кров'яних та жовчних пігментів

Гемоглобінурія і міоглобінурія спостерігається при деяких захворюваннях

нирок та сечовидільної системи (пієлонефрит, сечокам'яна хвороба тощо).

При захворюваннях печінки (наприклад, хворобі Боткіна) у сечі з'являються жовчні пігменти і визначається білірубін. При гемолітичних жовтухах білірубін у сечі не визначається, а вміст уробіліна рідко підвищується. На відміну від цього механічні жовтухи супроводжуються різким збільшенням вмісту білірубину у сечі та зниженням уробіліну.

Кров і кров'яні пігменти визначають на діагностичних паперових смужках «Гемофан» (Словакія), «Гептафан» (Словакія), «Нефрофан» (Словакія). Всі вони мають окремі шкали, які дозволяють проводити якісне та напівкількісне визначення.

#### ***Питання для самопідготовки:***

1. У якому органі і з чого утворюється сеча ?
2. Який хімічний склад сечі?
3. Які фізичні властивості сечі?
4. Які звичайні тимчасові складові сечі?
5. Яка відмінність між первинною і вторинною сечею?
6. Чим можна пояснити наявність білка у сечі людей, які не займаються спортом, і спортсменів?
7. У яких випадках підвищується вміст кетонових тіл, глюкози та пігментів у сечі?
8. Які причини виникнення кетонемії та кетонурії?

### **Лабораторна робота 7**

#### **Тема: Визначення показників антиоксидантного статусу організму**

Процеси генерації ендogenous кисню формують у клітинах організму активні кисневі режими, необхідні для збереження прооксидантної і антиоксидантної рівноваги, підтримання оптимального напруження кисню в окисно-відновних мітохондріальних процесах і забезпечення умов функціонування на вищих рівнях.

Максимальна відповідність між потребою організму у кисні і об'ємом кисню, який надходить до клітини, є надзвичайно важливою для ефективної підтримки прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та забезпечення адаптогенного ефекту організму. Навіть незначні порушення такої відповідності ведуть до надмірної активації вільнорадикальних реакцій (ВР) процесів і розгортання пероксидального окиснення ліпідів, оскільки як гіпоксичні, так і гіпероксичні умови стимулюють утворення різноманітних активних кисневих метаболітів, які є первинними месенджерами цих процесів. Якщо адаптованість метаболічної системи недостатня і неспроможна утилізувати продукти вільнорадикального окиснення,

розвиваються різні патологічні стани.

Основними чинниками активації пероксидального окиснення ліпідів у тканинах є емоційний стрес, нестача у раціоні біоантиоксидантів, надлишок ненасичених жирних кислот, надмірні м'язові навантаження чи гіпокінезія (нестача м'язової активності).

Сумарна інтенсивність пероксидального окиснення ліпідів у живій клітині залежить від ряду основних параметрів:

- окиснюваності молекул ліпідів, тобто від числа подвійних зв'язків у жирних кислотах;
- локальної концентрації ненасичених жирних кислот у тканинах, клітинах, мембранах, цитоплазмі;
- локальної концентрації (парціального тиску) кисню;
- концентрації і стану каталізаторів — іонів металів із перемінною валентністю;
- активності антиоксидантних ферментів (каталази, цинковміщуючої супероксиддисмутази, селеновміщуючої глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази);
- ступеня ушкодження електронно-транспортних ланцюгів і генерації ними вільнорадикальних форм кисню.

Ще кілька десятиліть тому Ф. Меєрсон назвав процеси пероксидального окиснення ліпідів «первинними медіаторами стресу». Проте за останні роки погляд на вільнорадикальні процеси суттєво змінився. Теоретично обґрунтовано й експериментально доведено, що життєво необхідний рівень молекулярного кисню забезпечується оксидазною активністю гемоглобіну переважно внаслідок залучення у вільнорадикальні й перекисні реакції води, результатом чого є утворення ендogenousого кисню. Таким чином підтримуються активні кисневі режими організму, достатні для збереження рівноваги між надходженням кисню і його потребою для клітин у конкретній метаболічній ситуації. Отже, вільнорадикальні реакції виконують регуляторну функцію, як найлабільніша ланка в адаптаційній перебудові організму під час екстремальних впливів, що у разі адекватної стимуляції підвищують резистентність організму.

Стан антиоксидантної системи залежить від забезпечення організму низькомолекулярними незамінними речовинами, включаючи рибофлавін, тіамін, аскорбінову кислоту, токоферолі, β-каротин, іони міді, заліза, цинку, марганцю, селену, співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот.

Антиоксидантна система, яка існує на протигагу вільнорадикальному окисненню, складається з багатьох компонентів. У тканинах живих організмів присутня і функціонує система природних біоантиоксидантів, до яких належать



токофероли, вітамін К, убіхінон (коензим Q), рутин, глутатіон, цистеїн, метіонін, відновники-синергісти (аскорбінова кислота, лимонна кислота), а також мінерали (сірка, цинк, марганець, селен).

До синтетичних антиокисників, широко використовуваних у харчовій промисловості, тваринництві і медицині, належать: сантохін, дилудін, етаноламін, іонол (дибунол), фенозанові кислоти, саліцилова кислота, деякі антибіотики, сполуки селену та ін.

Поряд із антирадикальною в організмі існує антипероксидна антиоксидантна система, що розкладає перекисні сполуки до малоактивних молекулярних продуктів. Найактивнішим її компонентом є трипептид глутатіон та інші сірковмісні сполуки.

За одночасної дії декількох антиоксидантів, спостерігається синергізм, тобто сумарна антиокисна дія (антирадикальних і антипероксидних АО), яка перевищує суму їхніх ефектів у разі індивідуального використання.

Синергізм складається у тому, що антирадикальні інгібітори захищають антипероксидні від інактивації гідропероксидами.

В клітинах живого організму функціонує також ферментативна антиоксидантна система, що обмежує негативну дію надлишку кисневих радикалів. Ферментативну антиоксидантну систему складають такі ферменти, як супероксиддисмутаза, церулоплазмін, каталаза, пероксидаза, глутатіонредуктаза.

Основними чинниками активації ПОЛ у тканинах є емоційний стрес, нестача у раціоні біоантиоксидантів, надлишок ненасичених жирних кислот, надмірні м'язові навантаження чи нестача м'язової активності (гіпокінезія).

Каталаза (пероксид водню: пероксид водню оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6) — гемо протеїд. Реакція відбувається у дві стадії: спочатку утворюється комплекс фермента з однією, а потім — з другою молекулою пероксида водню. Каталаза здатна реагувати і з іншими донорами водню; в цьому випадку комплекс фермента з однією молекулою пероксиду реагує із субстратами подібно до пероксидази:

Каталаза із печінки бика має молекулярну масу близько 248 кДа і містить чотири гемові групи. Окремі субодиниці не мають самостійної каталітичної активності. Швидкість каталізу дуже велика: одна молекула каталази за секунду розкладає до 44 000 молекул пероксиду водню; пероксидазна активність каталази суттєво нижча. Основна функція каталази у клітині — розклад пероксиду водню, який утворюється під час дисмутації супероксидного аніон-радикалу. Найвища активність каталази відмічається у гепатоцитах, у пероксисомах останніх фермент становить до 40 % усього білка. Зниження активності каталази спостерігається при деяких захворюваннях, стресових ситуаціях тощо. Пероксид водню, що накопичується, ушкоджує хромосоми та інші клітинні структури, викликаючи

відповідні функціональні порушення.

Разом із функціонуванням у якості донора водню і кофактора антиоксидантних ферментів, глутатіон (у — глютаміл — цистеїн гліцин, трипептид Гопкінса) відіграє ключову роль у захисті клітин і внутрішньоклітинного середовища від реакційноздатних інтермедіатів кисню, які утворюються при окиснювальному стресі різної природи. Тому зниження вмісту відновленого глутатіону суттєво знижує стійкість організму до окиснювального стресу.

Глутатіон міститься переважно в середині клітини у високих концентраціях (1,0-10 мМ), переважна його частина знаходиться у відновленій формі. На частку глутатіону припадає 90-95 % усіх небілкових тіолових сполук.

Важливо, що деяка частина глутатіону, що міститься у середині клітини, звичайно існує у зв'язаній формі — з білками, і звільняється за підвищення концентрації АМФ, тобто при функціональному напруженні, а також у вигляді сполуки з коензимом А. Таким чином, існують внутрішньоклітинні резерви глутатіону-SH, що звільняються в умовах напруженого функціонування в екстремальних ситуаціях і підвищують потужність АО-системи глутатіону.

Молекули глутатіону не проходять через клітинну мембрану, він синтезується у клітині і дуже швидко окиснюється у плазмі крові. Тому під час екзогенного введення концентрація глутатіону швидко відновлюється до фізіологічних меж. Проте введення глутатіону-SH у достатньо великих концентраціях поповнює АО-ресурси організму.

Концентрація глутатіону у плазмі крові людини —  $0,91 \pm 0,24$  мкмоль/л, у щурів — у 13 разів вища.

Загальну антиоксидантну активність (ЗАА) визначають в основному за вмістом малонового діальдегіду у крові як одного із вторинних продуктів ПОЛ. Проте слід ураховувати те, що часто вміст МДА визначають за реакцією із ТБК і при цьому розчин забарвлюється не тільки за рахунок МДА, а й інших речовин. Останнім часом часто використовують термін — визначення ТБК-активних продуктів. По-друге, у разі доступу кисню до проб процес пероксидації продовжується, і залежно від терміну контакту із киснем, температури реакційного середовища тощо у кінцевий результат вноситься певна похибка. Крім того, цей метод використовується для оцінки не термінових реакцій, а більш довгострокових змін прооксидантно-антиоксидантного балансу організму.

**Дослід 1.** Визначення каталазної активності крові.

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: кров, 1 %-й розчин  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 10%-й розчин  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0,1М  $\text{KMnO}_4$ , пробірки, дозатори на 1, 2, 5 мл, пробірки на 10 мл, бюретки.

**Хід роботи.** Розбавлену кров (1:1000) збовтують, наливають по 1мл у дві

колби або стакани, приливають по 7 мл дистильованої води. До досліджуваної проби додають 2мл 1%-го розчину  $H_2O_2$ , а до контрольної — 5 мл 10 %-го розчину  $H_2SO_4$ . Дія каталази у кислому середовищі (у контрольній пробі) закінчується, оскільки вона проявляє максимальну активність при  $pH=7,4$ . Колби залишають при кімнатній температурі на 30хв. Потім приливають до досліджуваної проби 5 мл 10 %-го розчину  $H_2SO_4$ , до контрольної — 2мл 1%-го розчину  $H_2O_2$ . Вміст кожної колби титрують 0,1М розчином  $KMnO_4$  до появи рожевого забарвлення.

Розрахунок проводять за формулою

$$KЧ = (A - B) \cdot 1,7;$$

де КЧ — каталазне число (кількість міліграмів  $H_2O_2$ , що розпадається в 1мл крові);

A — кількість 0,1М розчину  $KMnO_4$ , який використали на титрування контрольної проби, мл;

B — кількість 0,1М розчину  $KMnO_4$ , який використали на титрування досліджуваної проби, мл.

У нормі каталазне число становить від 10 до 15 одиниць.

## **Дослід 2.** Визначення вмісту глутатіону-SH у крові

Реактиви, досліджуваній матеріал та обладнання: 5%-й розчин  $HPO_3$ , 0,1 М розчин аллоксану, 1 М розчин  $NaOH$ , буфер, глутатіон-SH, пробірки, дозатори різного об'єму, ФЕКчи фотометр.

Хід роботи. В центрифужні пробірки наливають 1,5 5 % розчину  $HPO_3$ , і по 0,05мл крові, перемішують, центрифугують впродовж 10 хв. У безбілковому екстракті визначають вміст глутатіону-SH. Для визначення глутатіону у кожній пробі необхідно 4 пробірки, у дві з котрих наливають по 0,5 мл центрифугату, а в 2 інші — по 0,5 мл 5%-ної  $HPO_3$ . Потім у першу і третю — по 0,5 мл 0,1М розчину аллоксану, а у другу й четверту пробірки по 0,5 мл води. Проби перемішують і до кожної приливають по 0,5мл фосфатного буфера і по 0,5мл еквівалентного розчину  $NaOH$ , перемішують і залишають на 6 хв. Рівно через 6 хв до проб додають по 0,5мл 1М розчину  $NaOH$ . Це зупиняє реакцію і стабілізує продукт реакції (стабільний не більше 1 год).

Визначають оптичну густину на ФЕК за довжини хвилі 315 нм. Під час визначення екстинкції проби № 1 контролем є проба № 2. В результаті отримуємо  $E_j$ . Для того щоб знайти поправку на екстинкцію зруйнованих продуктів аллоксану, фотометрують відносно проби №4 пробу №3 і одержують  $E_2$ . Екстинкція, що відповідає утворенню продукту „аллоксан-305”, буде дорівнювати:  $\Delta E == E_j - E_2$ .

Розрахунок кількості глутатіону проводять за калібровочною кривою, що побудована за стандартними розчинами відновленої форми глутатіону. 1 мл стандартного розчину містить 100 мкг глутатіону. Стандартні проби обробляють

так само, як і дослідні.

Вміст глутатіону-SH (мг/100 мл розчину) розраховують за формулою:

$$X = \frac{m \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot P \cdot 1000}$$

де  $m$  — вміст глутатіону-SH у пробі, розрахований за калібровочними кривими;

$V_1$  — загальний об'єм безбілкового центрифугату, мл;

$V_2$  — об'єм центрифугату, взятого для дослідження, мл;

$P$  — наважка тканини або об'єм крові, г.

Таблиця 8.1 — Послідовність додавання реактивів

Реактив	Проба			
	1	2	3	4
Безбілковий центрифугат	0,5	0,5		
5% розчин $\text{HPO}_3$			0,5	0,5
Вода		0,5		0,5
0,1М розчин аллоксану	0,5		0,5	
Фосфатний буфер (розбавлений)	0,5	0,5	0,5	0,5
Еквівалентний розчин NaOH	0,5	0,5	0,5	0,5
1М NaOH після інкубації впродовж 6 х	0,5	0,5	0,5	0,5

### Дослід 3. Визначення загальної антиоксидантної активності крові

Реактиви, досліджувані матеріали та обладнання: кров, фосфатний буфер (рН 7,4), яєчний жовток, 2,5 мМ  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1%-й спиртовий розчин іонолу, водяна баня, фотометр, пробірки, дозатори, одноразові капіляри.

**Хід роботи.** Для визначення загальної антиоксидантної активності окремих тканин тварин, крові людини та деяких антиоксидантів можна використовувати методику, запропоновану Г. І. Клебановим і його співробітниками, засновану на здатності біологічних рідин гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів у суспензії жовткових ліпопротеїдів (ЖЛП), узятій як модельну систему окиснення. Ця система є суспензією яєчного жовтка у фосфатному буфері (рН 7,4 у відношенні 1:1) і розведена до початку досліду у 25 разів. У дослідній пробі до 1мл суспензії ЖЛП додають 1мл досліджуваної речовини (гемолізата або крові, гомогената тканини), 7 мл фосфатного буферу і 1мл 2,5ммоль/л розчину  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  для індукції ПОЛ. У контрольній пробі до 1мл ЖЛП додають 8 мл фосфатного буферу, а у дослідну — 9 мл фосфатного буфера і 1мл розчину  $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Після 15-хвилинної інкубації проб за температури 37°C і інтенсивного струшування з кожної проби відбирають по 2 мл, до яких додають 1мл 20%ТХО і

0,1мл 1% спиртового розчину іонолу для зупинки процесу накопичення МДА. Після 15-хвилинного центрифугування (при 900 g) у супернатанті визначають вміст ТБК описаним методом.

Загальну антиокисну активність (ЗАА) розраховують за формулою:

$$ЗАА = \frac{(E_k - E_{досл.})}{E_k} \cdot 100 \%,$$

де  $E_k = E_{k1} - E_{k2}$ ,

$E_{досл.} = E_{досл.1} - E_{досл.2}$ ;

$E_{k1}$  і  $E_{досл.1}$  — оптична густина до інкубації з досліджуваним матеріалом;

$E_{k1}$  та  $E_{досл.2}$  — оптична густина після інкубації.

Для оцінки антиокисних властивостей досліджуваних біологічно активних речовин вибирають таку їхню концентрацію, що викликає 50 %-не інгібування ПОЛ. Оцінку ЗАА гомогенатів скелетних м'язів, серця і печінки роблять відносно до ЗАА суспензії ЖЛП за зміною, вираженою у відсотках, що припадає на 1мг білка, а ЗАА крові — її зміну, виражену у відсотках, під впливом 0,5мл гемоліза-ту (відношення крові до води 1:2).

## Лабораторна робота 8

### Тема: Визначення супероксиддисмутазної та глутаміноредуктазної та глутатіонпероксидазної активності крові

Супероксиддисмутаза (СОД) — пероксид: пероксид оксидоредуктаза (синоніми: еритрокупреїн, гемокупреїн, цитокупреїн); каталізують реакцію взаємодії супероксидних радикалів ( $O^*$ ) з іонами водню:

Кінцевим продуктом реакції є пероксид водню, який інактивується СОД. Тому СОД локалізована і функціонує у співдружності з каталазою, яка швидко і ефективно розкладає  $H_2O_2$ . Швидкість СОД-реакції велика, константа швидкості другого порядку досягає  $2 \cdot 10^9$  моль/с. Активний центр ферменту містить атоми металів з перемінною валентністю — Mn, Zn, Cu.

Існує певний взаємозв'язок між активністю СОД і стійкістю організму до впливу іонізуючої радіації і взагалі до окисного стресу. Таким чином, Mn-СОД і Cu, Zn-СОД — важливіші АО-ферменти, які здійснюють інактивацію супероксидного радикалу і відповідно зменшують загальний токсичний ефект активних форм кисню.

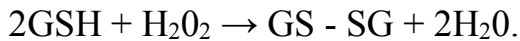
Глутатіонредуктаза (ГР) — НАДФ •  $H_2$ : окиснений глутатіон оксидоредуктаза, КФ 1.6.4.2, каталізує реакцію:



Центральне місце цього ферменту в метаболізмі глутатіону і всієї системи глутатіону зумовлене тим, що він здійснює механізм відновлення GSH з окисненої

його форми GS - SG. ГР — флавопро- теїдз простетичною групою флавінаденіндинуклеотидом; його молекула складається з двох ідентичних субодиниць. Відновлені сполуки, наприклад, НАДФ • Н<sub>2</sub>, його інактивують, а окиснений глутатіон і фероційанід — активують. У клітині одним із найважливіших модуляторів активності ферменту ГР є система цАМФ. ГР — класичний цитозольний фермент усіх еукаріотичних клітин. Молекулярна маса коливається від 100 ( печінка) до 300 тис. одиниць (скловидне тіло).

ГПО (глутатіон : пероксид водню оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.9) каталізує реакцію:



ГПО — це селенпротеїн з молекулярною масою близько 74 тис. одиниць, що складається з чотирьох ідентичних субодиниць. ГПО знешкоджує пероксид водню та ліпідні пероксида, що утворюються в організмі за активації ПОЛ. Фермент стійкий до дії цианідів азіда, особливо у присутності GSH.

Фермент локалізований переважно у цитозолі клітин, у незначних кількостях знаходиться також у мікросомах. Функціонує разом із ГР, захищаючи клітини від впливу пероксиду водню. Парахлормеркурій-бензоат блокує групи -SH і -SeH в активних центрах обох ферментів. Активується ГПО ферментом цАМФ-залежною протеїнкіназою.

**Дослід 1.** Визначення супероксиддисмутазної активності крові.

Реактиви, досліджувані матеріали та обладнання: 0,066 моль/л фосфатний буфер, 0,1 ммоль/л розчин ЕДТО, 0,1 ммоль/л розчин ФМС, 0,407 моль/л розчин ТНТС, 0,1 ммоль /л розчин НАД • Н<sub>2</sub>, кров чи гомогенат тканин, пробірки, дозатори різних об'ємів, хімічні колби, фільтрувальний папір, фотометр.

Хід роботи. Про СОД-активність судять за швидкістю відновлення ТНТС в інкубаційному середовищі - 0,066 моль/л фосфатний буфер, 0,1 ммоль/л ЕДТО, 0,1 ммоль/л ФМС; 0,407 моль/л ТНТС і 0,1 ммоль/л НАД • Н<sub>2</sub>, у відсутності і при додаванні в середовище 0,05 -0,1 мл гомогенату досліджуваної тканини. Загальний обсяг реагентів у кюветі становив 2,5 мл. Швидкість відновлення ТНТС визначають у термостатованій кюветі (1 см) на спектрографі шляхом графічної реєстрації швидкості відновлення ТНТС. При цьому вводять виправлення на відновлення ТНТС у присутності гомогенату без додавання НАД • Н<sub>2</sub>.

За одиницю активності ферменту (ЕА) приймають таку активність, що необхідна для відновлення ТНТС на 50 %.

СОД-активність крові виражають в ЕА/ мл, ЕА/мг білка чи ЕА/мг гемоглобіну.

**Дослід 2.** Визначення глутатіонредуктазної активності крові

Реактиви, досліджуваний матеріал та обладнання: кров, дистильована вода,

пробірки, дозатори, спектрограф з термо- статованою кюветою.

**Хід роботи.** При вивченні активності ГР у крові останню гемолізують у співвідношенні 1:9 у дистильованій воді при 0°C і додають воду до 2,4 мл кінцевого об'єму реакційної суміші. Ензиматичну активність ферменту аналізують при 30°C у термостатованій кюветі (1см) на спектрографі за зниженням оптичної щільності реакційного середовища при  $E = 340$  нм протягом перших 20-30 с після додавання у кювету досліджуваного зразка. У кожній пробі визначають вміст білка чи гемоглобіну. Активність ГР, виражену в мкмоль НАДФ • Н<sub>2</sub> • хв<sup>-1</sup> • мл<sup>-1</sup> гемолізату, розраховують за формулою:

$$A = 2,4 \cdot \Delta E \cdot 10 \cdot V^{-1} \cdot 6,22^{-1} \cdot t^{-1},$$

де А — активність ферменту;

ΔE — зміна оптичної щільності розчину;

t — час перебігу ферментативної реакції, хв;

10 — ступінь розведення гемолізату крові;

V — обсяг внесеного гемолізату, мл;

2,4 — кінцевий обсяг реакційної суміші.

### **Дослід 3.** Визначення глутатіонпероксидазної активності крові

Реактиви, досліджувані матеріали та обладнання: 0,25 М фосфатний буфер (рН 7,4); 0,25М розчин ЕДТО; 0,4 М розчин Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub>; 0,02М GSH; 50 ммоль/л розчин H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0,43%-й N- етилмалеїмід; гемолізат крові, ФЕК з термостатованою кюветою, дозатори, пробірки.

**Хід роботи.** Для визначення активності ГПО готують суміш, що містить 0,5 мл 0,25М фосфатного буфера (рН 7,4); 0,1 мл 0,25М ЕДТО; 0,1 мл 0,4М NaN<sub>3</sub>; 0,1 мл 0,02 М G-SH; 0,1 мл 50 ммоль/ л H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Суміш без H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> витримують за температури 30°C у термостатованій кюветі протягом 10 хв разом із внесеним до неї зразком розведеного у 5 разів гемолізату крові (відношення обсягу крові до обсягу води 1:4). Рівно через 10 с після внесення в кювету H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> реакцію зупиняють додаванням у середовище 0,1 мл 0,43% N-етилмалеїміду (N-ЕМ), специфічного для SH-груп глутатіону реагента. Кінцевий об'єм суміші становить 2,4 мл. Контрольна проба відрізняється тим, що досліджувані зразки вносяться після додавання H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Про активність ферменту судять за зменшенням оптичної щільності розчину у кюветі за  $E = 305$  нм, тобто за швидкістю зниження концентрації N-ЕМ, що взаємодіє з Г-SH. Розраховують активність ферменту у крові за формулою:

$$A = 2,4 \cdot E \cdot 50 \cdot 620^{-1} \cdot t \cdot V^{-1},$$

де А — активність ферменту, що виражається в мкмоль N-ЕМ/мл•хв'(для крові);

2,4 — кінцевий об'єм реакційної суміші в кюветі;

ΔE — зміна оптичної щільності розчину;

- 620 — коефіцієнт мікромолярної екстинкції N-EM;  
t — час перебігу ферментативної реакції, хв;  
50 — ступінь розведення гемолізату крові;  
V — обсяг внесеного гемолізату, мл.

## Лабораторна робота 9

### Тема: Шляхи енергозбереження циклічної роботи субмаксимальної та максимальної потужності

Тривалість навантаження максимальної потужності не перевищує 20-30 с, здійснюється в анаеробних умовах, споживання кисню під час роботи не перевищує ¼ літра. Тому потреба організму у кисні під час роботи максимальної потужності задовільняється лише після її закінчення, а під час самої роботи утворюється значний кисневий борг (до 7-8 л). Енергозабезпечення такої роботи відбувається за рахунок АТФ і КФ (алактатний механізм), який через 2-3с після початку роботи досягає максимальної потужності і майже 10с функціонує на граничному рівні. На останніх секундах виконання роботи можлива активізація гліколітичного механізму ресинтезу АТФ, який супроводжується накопиченням молочної кислоти (до 10-15 ммоль/л).

Робота у такій зоні супроводжується значним збудженням нервової системи, що зумовлює підвищення вмісту глюкози у крові. Кисень, який споживається після роботи, використовується на окисний ресинтез продуктів алактатного походження, (продуктів розпаду АТФ і КФ).

Гранична тривалість навантаження субмаксимальної потужності від 20-30 с до 3-5хв. При такій роботі разом з розпадом АТФ і КФ відбувається гліколітичне енергозабезпечення (лактацидне), що супроводжується накопиченням молочної кислоти (до 26 ммоль/л). Значний вміст молочної кислоти у крові веде до підвищення її кислотності, яка може змінитися до 6,9. Основний резерв крові зменшується на 55-60% (біг на 400 м), відмічається поява білка у сечі.

Крім анаеробних процесів, які інтенсивно відбуваються і активізуються аеробні процеси. При цьому різко посилюється дихання, внаслідок чого організм краще постачається киснем, який надходить з кров'ю до м'язів, досягаючи максимуму наприкінці роботи. Проте хвилинна киснева потреба перевищує споживання кисню під час роботи, що веде до значного кисневого боргу (понад 20 л).

Прикладом роботи субмаксимальної потужності у легкій атлетиці може бути біг на дистанції 400, 800 і 1500 м.

**Дослід 1.** Вплив циклічної роботи максимальної потужності на деякі біохімічні процеси.



Методи, що використовуються для дослідження:

1. Визначення вмісту глюкози в крові.
2. Визначення вмісту молочної кислоти в крові.
3. Визначення вмісту вільних жирних кислот у сироватці крові.
4. Визначення основного резерву крові.
5. Кількісне визначення білка у сечі.
6. Визначення рН сечі та кетонів у сечі.

**Хід роботи.** Перед заняттям вибирають для дослідження двох студентів, які спеціалізуються у циклічних видах спорту. Решту студентів розподіляють на п'ять підгруп. Перша визначає вміст глюкози у крові, друга — молочної кислоти, третя — вільних жирних кислот, четверта — білка у сечі, п'ята — основний резерв крові.

В іспитованих студентів, які перебували 5хв у стані спокою у положенні сидячи, проводять забір крові для дослідження названих біохімічних параметрів. Після цього вони виконують циклічну роботу максимальної інтенсивності. У лабораторних умовах моделлю фізичного навантаження цієї зони потужності може бути 20-секундний біг на місці з високим підніманням стегна або обертання педалей велоергометра з граничною частотою. Через 2хв після закінчення навантаження проводять забір крові і сечі для визначення необхідних показників. Результати заносять до таблиці 10.1.

Таблиця 10.1

Дослідження показників метаболізму у стані спокою і після фізичного навантаження максимальної інтенсивності

Показник	Стан спокою				Після роботи максимальної інтенсивності			
	1	2	3	Середнє значення	1	2	3	Середнє значення
Глюкоза крові, ммоль/л								
Молочна кислота, ммоль/л								
Вільні жирні кислоти крові, ммоль/л								
Основний резерв, ммоль/л								
Білок сечі, г/л								

В кінці експерименту студенти роблять висновок про особливості енергозабезпечення підчас виконання роботи максимальної потужності.

**Дослід 2.** Вплив фізичного навантаження субмаксимальної потужності на деякі біохімічні процеси

**Хід роботи.** Студентів розподіляють на 5 підгруп, кожна з яких визначає один із біохімічних показників. У двох-трьох студентів, які 5хв перебували у стані спокою у положенні сидячи, проводять забір крові для визначення рівня глюкози, молочної кислоти, вільних жирних кислот, основного резерву, а також сечі для визначення у ній рН, білка, кетонових тіл. Потім вони виконують вправи з фізичним навантаженням субмаксимальної потужності на стадіоні або у спортивному залі. На стадіоні це може бути біг на 800 м, у лабораторних умовах — 3-5-хвилинний біг на місці з високим підняттям стегна або обертання педалей велоергометра з такою частотою, за якої виконувати навантаження до кінця останньої хвилини надзвичайно важко. Після виконаного навантаження через 2хв проводять забір крові і сечі для визначення зазначених параметрів.

Експериментальні дані щодо вмісту досліджуваних показників у крові та сечі заносять до таблиці і роблять висновки про особливості енергозабезпечення навантажень субмаксимальної зони потужності (форма таблиці така сама, як у попередньому досліді).

## Лабораторна робота № 10

### Тема: Шляхи енергозбереження циклічної роботи великої та помірної потужності

Тривалість навантаження великої потужності — не менше 3-5 і не більше 30-40 хв. Під час виконання такої роботи цілком вистачає часу, щоб дихання і кровообіг посилювалися. Однак у зв'язку з тим, що хвилинна потреба дещо перевищує споживання кисню під час роботи такої потужності, незважаючи на перевагу аеробного шляху синтезу АТФ інтенсивно відбувається також і гліколітичне енергозабезпечення. Це веде до підвищення вмісту молочної кислоти у крові до 12 ммоль/л. Кисневий борг при цьому становить до 12 л. Резервна основність крові знижується значно менше. Вміст глюкози у крові на таких дистанціях може або підвищуватись, або знижуватись, тобто закономірних змін немає. Відбувається мобілізація ліпідів з жирових депо, внаслідок чого вміст жирних кислот у крові збільшується.

Тривалість навантаження помірної потужності від 20-30хв до кількох годин. Найхарактернішою рисою такої роботи є те, що потреба у кисні задовольняється у процесі самої роботи. Рівність між кисневою потребою і споживанням кисню під час роботи, яка називається справжнім стійким станом, створює в організмі умови для аеробного енергозабезпечення.

В зв'язку з тим, що тривалий біг веде до виснаження запасів вуглеводів в організмі, у спортивну практику впроваджено так зване “підгодовування” спортсменів на дистанції розчинами цукру або глюкози. Інакше вміст глюкози у крові може знизитись майже вдвічі (до 1,5 ммоль/л) і ввести у стан непритомності. Це пояснюється підвищеною чутливістю нервових центрів до нестачі глюкози у крові.

Основним джерелом енергії під час роботи у цій зоні потужності є ліпіди та їхні метаболіти. При тривалій роботі вміст вільних жирних кислот збільшується до 1,5 ммоль/л. Зростає виведення з сечею кінцевих продуктів обміну білків — сечовини, сечової кислоти.

Під час тривалого бігу втрата маси тіла становить 0,8-1,0 кг/год, що пояснюється як збільшенням енерговитрат, так і великим потовиділенням. Значна втрата води спричиняє виведення із організму великої кількості солей (до 3-5 г/год):

**Дослід 1.** Вплив фізичного навантаження великої потужності на деякі біохімічні процеси.

**Хід роботи.** У 2-3 студентів після перебування протягом 5хв у стані спокою і положенні сидячи проводять забір крові для дослідження рівнів глюкози, молочної кислоти, вільних жирних кислот, основного резерву крові, а також сечі для

визначення у ній рН, білка, кетонів тіл. Испитовані виконують фізичну роботу великої потужності: 20-хвилинний біг на місці або обертання педалей велоергометра з такою частотою, за якої виконувати навантаження на останній хвилині дуже важко. Одразу після роботи роблять повторний забір крові і сечі для кількісного визначення зазначених вище біохімічних параметрів. Оскільки час, потрібний для організації і проведення лабораторної роботи, виходить за межі двогодинного заняття, для її виконання треба відвести 4 год. Це стосується також і проведення подальшої роботи.

Результати роботи заносять до таблиці, складеної за зразком попередніх. Аналізують характерні риси енергозабезпечення у даній зоні потужності і порівнюють з попередніми.

**Дослід 2.** Вплив фізичного навантаження помірної потужності на деякі біохімічні процеси.

**Хід роботи.** Як і у попередній роботі, розподіляють обов'язки між студентами, визначають необхідні біохімічні параметри у стані спокою і одразу після фізичного навантаження.

Фізичним навантаженням помірної потужності є біг на місці протягом 45хв або обертання педалей велоергометра з такою частотою, за якої іспитовані, закінчуючи виконувати навантаження, не відчували б надмірного стомлення.

Одержані дані заносять до таблиці, аналізують і роблять висновок про особливості енергозабезпечення і метаболічні зсуви під час такого фізичного навантаження.

***Питання для самопідготовки:***

1. Які шляхи синтезу АТФ є в організмі ?
2. Які особливості анаеробного фосфорилування ?
3. Як здійснюється синтез АТФ в аеробних умовах?
4. При подоланні яких дистанцій легкоатлетичного бігу спостерігалось максимальне накопичення молочної кислоти у крові?
5. У чому полягає динаміка зв'язку основного резерву крові з роботою у різних зонах потужності?
6. На яких дистанціях легкоатлетичного бігу і у зв'язку з чим спостерігається поява білка у сечі?

## Лабораторна робота 11.

### Тема: Біохімічні особливості стану організму, зумовлених м'язевою діяльністю.

**Дослід 1.** Біохімічні зміни в організмі перед початком фізичного навантаження.

Біохімічні процеси перед початком фізичного навантаження свідчать про взаємозв'язок процесів обміну речовин з функціональним станом кори великих півкуль. В осіб з надмірними передстартовими реакціями спостерігається високий рівень глюкози у крові та її поява у сечі. Якщо перед стартом реакції знижені (передстартова апатія), то вміст глюкози і ліпідів у крові зменшується, а рівень молочної кислоти збільшується. Перед стартом помітно посилюються показники газообміну та функцій серцево-судинної системи.

Передстартові біохімічні зрушення залежать від змін, якими супроводжується м'язова діяльність. Наприклад, у бігунів на середні дистанції у перед стартом в крові буде більше молочної кислоти, а у представників ігрових видів спорту — глюкози.

Характер та ступінь виявлення передстартових біохімічних зрушень залежить від стану тренуваності, від підготовленості до певних змагань тощо.

**Хід роботи.** Студентів розподіляють на три підгрупи. Перша — досліджує вміст глюкози у крові, друга — вміст глюкози у сечі, третя — вміст молочної кислоти в крові. Один студент виконує роль інформатора, другий вимірює частоту серцевих скорочень.

Відбирають двох студентів з легкозбуджуваною нервовою системою, іспитовані перебувають протягом 5хв у стані спокою у положенні сидячи, після чого у них вимірюють пульс (за 1 хв) і беруть кров з пальця для визначення зазначених показників. Викладач повідомляє, що через 5 хв. їм належить виконати дуже важку роботу на межі своїх можливостей протягом 3-5 хв (біг на місці з високим підніманням стегна або біг на 800, 1000 або 1500 м). Після цього студент-інформатор голосно повідомляє, що до старту залишилось 5 хв., і включає секундомір. Потім через кожні 30с він повідомляє час, що залишився до старту, а за 1 хв до старту подає команду «На старт!». За 45с до старту інформатор подає команду «Увага!». За 30с до старту визначають ЧСС і перераховують на 1хв. По закінченні 5хв подають команду «Руш!», але виконувати вправи або бігти не дозволяють. Повідомляють, що старт відкладається на 3хв. Бажано, щоб протягом всього часу чекання старту, особливо на 4-5-й хвилині, студенти підбадьорювали іспитованих, радили мобілізувати всі свої сили. На третій хвилині після команди «Руш!» у досліджуваних беруть кров для визначення глюкози і молочної кислоти, а також сечу для визначення глюкози. Потім повідомляють, що виконувати роботу

вони не будуть.

Одержані результати заносять до таблиці за формою 11.1.

Таблиця 11.1.

Біохімічні зміни у передстартовий період

Показник	Стан спокою			Передстартовий стан						
	1	2	Середнє значення	30-ти хвилина			45секунда			
				1	2	Середнє значення	1	2	Середнє значення	
Глюкоза крові, ммоль/л										
Глюкоза у сечі, ммоль/л										
Молочна кислота, ммоль /л										

**Дослід 2.** Біохімічні зміни в організмі підчас виконання фізичної роботи.

**Хід роботи.** Студентів поділяють на три підгрупи: перша визначає вміст глюкози в крові, друга — молочної кислоти в крові, третя — активність амілази слини. Виділяють двох іспитованих, які протягом 5хв перебувають у стані спокою, після чого у них беруть кров і слину для дослідження. Потім досліджувані виконують 10-хвилинне навантаження: перші 5хв — навантаження середньої величини (біг на місці з високим підніманням стегон або обертання педалей велоергометра з частотою 140-150обертів на хвилину). Після першої 5-хвилинної роботи вони роблять короткочасну зупинку, необхідну для забору крові й слини. Далі протягом останніх 5хв біг на місці або обертання педалей велоергометра з частотою 170-180 кроків або обертань на хвилину триває, після чого знову проводять забір крові і слини. Якщо робота проводиться на стадіоні або у спортивному залі, досліджуваним пропонують пробігти дистанцію 3000 м: перші 1500 м — у середньому темпі, потім роблять зупинку для забору крові, останні 1500 м — зі швидкістю, близькою до своєї граничної на цій дистанції. Після закінчення бігу проводять забір крові і слини для визначення рівня глюкози й молочної кислоти, активності амілази. Одержані дані заносять до таблиці 11.2:

Показники метаболізму під час виконання фізичних навантажень різного обсягу

Показник	Стан спокою			Після фізичного навантаження						
	1	2	Середнє значення	Середнього обсягу			Великого обсягу			
				1	2	Середнє значення	1	2	Середнє значення	
Глюкоза крові, ммоль/л										
Молочна кислота, ммоль /л										
Активність амілази										

Результати аналізують і роблять висновок про взаємозв'язок досліджуваних біохімічних показників з фізичним навантаженням різного обсягу.

### Дослід 3. Біохімічні зміни в організмі у процесі відновлення

Під час м'язової діяльності розщеплення АТФ, КФ, глікогену має перевагу перед ресинтезом, що веде до утворення надлишку АДФ, АМФ, креатину, неорганічного фосфору. Після роботи процеси ресинтезу значно активізуються: чим більше накопичується продуктів обміну під час фізичного навантаження, тим швидше відбуваються процеси ресинтезу, джерела енергії не тільки відновлюються, а й надвідновлюються (суперкомпенсація). Зі зростанням тренуваності організму швидкість відновних процесів зростає, в зв'язку з чим відновний період зменшується.

Важливою особливістю відновних процесів є їх гетерохронність, тобто відновлення різних показників метаболізму з різною швидкістю. Так, спочатку зникає молочна кислота. Незначна її кількість окиснюється до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ , а більша частина надходить для синтезу глікогену у м'язи і печінку. Вміст молочної кислоти у крові швидше зменшується, якщо людина виконує малоінтенсивну м'язову роботу (активний відпочинок). Далі відбувається відновлення вмісту креатинфосфату внаслідок креатинкіназної реакції, потім — вміст глікогену у м'язах, у печінці, а далі відновлюється до вихідного рівня вміст білків м'язів, фосфоліпідів, нуклеїнових кислот і насамкінець — АТФ, оскільки вона витрачається на процеси відновлення всіх попередніх показників.

**Хід роботи.** Студентів розподіляють на чотири групи. Перша група визначає вміст глюкози у крові, друга — вміст глюкози у сечі, третя — вміст молочної кислоти у крові, четверта — основний резерв крові. Для дослідження цих показників вибирають двох студентів спортивної статури. Вони перебувають в стані спокою сидячи 5хв, після чого у них проводять забір крові для визначення глюкози, молочної кислоти і основного резерву, забирають сечу для визначення у ній глюкози.

У лабораторних умовах іспитовані виконують 3-хвилинне фізичне навантаження: біг на місці з високим підніманням стегон або обертання педалей велоергометра з дуже великою частотою. На стадіоні чи у спортивному залі іспитовані пробігають 800 м з максимальною швидкістю. Одразу після виконання роботи, а потім на десятій хвилині відновлення проводять забір крові і сечі для визначення досліджуваних показників. Одержані показники заносять до таблиці 11.3.

Таблиця 11.3

Метаболічні показники у процесі відновлення після фізичного навантаження

Показник	Стан спокою			Після фізичного навантаження						
	1	2	Середнє значення	1-ша хвилина			10-та хвилина			
				1	2	Середнє значення	1	2	Середнє значення	
Глюкоза крові, ммоль/л										
Глюкоза у сечі, ммоль/л										
Молочна кислота, ммоль /л										
Основний резерв крові, ммоль/л										

Порівнюючи дані, одержані у період відновлення і у стані спокою, роблять висновки про особливості біохімічних процесів після виконання фізичної роботи.

**Питання для самопідготовки:**

1. Які біохімічні зміни відбуваються в організмі в організмі перед стартом?
2. Чим пояснити специфічний характер біохімічних реакцій перед стартом?
3. Як рівень метаболітів, що утворюються під час м'язової діяльності, впливає на швидкість відновлення ?



4. За яких умов виникає суперкомпенсація?
5. Чому особливістю відновних процесів є гетерохронність метаболізму?
6. У якій послідовності відбувається відновлення біохімічних показників?
7. Які особливості відновного періоду у тренуваних і нетренуваних осіб?

## Лабораторна робота 12

### Тема: Біохімічні особливості тренуваного організму.

Вміст певних біохімічних субстратів, інтенсивність їхнього обміну, співвідношення у процесі фізичного навантаження і у відновний період можуть бути мірою визначення тренуваності організму. Так, у тренуваних м'язах зростає вміст білків, КФ, глікогену, фосфоліпідів тощо.

Для визначення тренуваності досить показовими є визначення інтенсивності біохімічних реакцій в процесі виконання стандартного і граничного фізичних навантажень і після виконання їх, у період відпочинку. Біохімічні показники тренуваності під час виконання стандартних фізичних навантажень виявляються в економніших витратах енергії. Підвищення економічності біохімічних процесів не спостерігається у нетренуваних осіб, у них відмічається також вищий рівень глюкози і молочної кислоти у крові.

Граничні фізичні навантаження характеризуються повнішою мобілізацією енергетичного потенціалу, що дає можливість тренуваній особі виконувати роботу більшої потужності і тривалості. У тренуваних осіб краще мобілізується глюкоза, що відповідає потребам м'язової діяльності. У нетренуваних осіб спостерігається або значне підвищення, або зниження глюкози проти оптимального рівня. Тренуваному організму під час роботи властиве попереднє залучення ліпідів та їхніх метаболітів як джерел енергії, що дає змогу заощаджувати вуглеводи організму і тим самим запобігати розвитку стомлення.

Ознакою тренуваності є також порівняно високий вміст креатиніну у сечі, який значно збільшується під час напруженої м'язової діяльності. Тренуваному організму властива також підвищена мобілізація буферних систем крові, що запобігає різким зрушенням рН крові та інших показників кислотно-основної рівноваги.

Показником адекватності фізичних навантажень, що використовуються, функціональним можливостям спортсменів є вміст сечовини у крові. Вранці у стані спокою він становить 4-6 ммоль • л<sup>-1</sup> (в сечі до 30 г на добу). Під впливом фізичних навантажень вміст сечовини може значно підвищуватися (від 10 до 100% вихідного рівня). Якщо навантаження було адекватним функціональним можливостям спортсмена, то до ранку наступного дня вміст сечовини у крові повинен нормалізуватися повністю (6—7 ммоль • л<sup>-1</sup> у чоловіків, 4—5 ммоль • л<sup>-1</sup> — у жінок).

Зменшення чи збільшення рівня сечовини відносно норми свідчить про недостатнє відновлення організму внаслідок використання великого об'єму тренувальних навантажень.

Інформативним показником тренованості організму є також вміст молочної кислоти під час роботи і у відновний період. Швидкість видалення молочної кислоти з крові свідчить не тільки про рівень тренованості, а й про ступінь готовності спортсмена до наступного фізичного навантаження. Рівень молочної кислоти використовується і як показник зворотного зв'язку для досконалішого управління фізичними навантаженнями у процесі кожного тренувального заняття.

**Дослід 1.** Біохімічні показники тренованості під час виконання стандартного фізичного навантаження.

**Хід роботи.** Групу студентів розподіляють на 5 підгруп. Кожна підгрупа досліджує один параметр. Вибирають двох іспитованих студентів: один — добре тренований, другий — малотренований або нетренований. П'ять хвилин іспитовані перебувають у стані спокою у положенні сидячи, потім у них заміряють ЧСС за 1 хв і проводять забір крові. Далі протягом 5 хв виконують стандартне навантаження: біг на місці або обертання педалей велоергометра, або біг на стадіоні протягом 5 хв. Частота кроків або обертів педалей має відповідати такому споживанню кисню, що становить 75% максимального. При цьому ЧСС має становити для чоловіків 161, а жінок — 167 уд • хв.<sup>-1</sup>.

Після виконання навантаження в іспитованих проводять забір крові для визначення у ній вмісту глюкози, молочної кислоти, основного резерву, сечовини в крові (сечі), креатиніну в сечі, заміряють ЧСС. Одержані дані заносять до таблицю 12.1.

Таблиця 12.1

Показники тренованості під час виконання стандартного фізичного навантаження

Показник	Тренована особа		Нетренована особа	
	Стан спокою	Стандартне навантаження	Стан спокою	Стандартне навантаження
Глюкоза крові, ммоль/л				
Молочна кислота, ммоль/л				
Сечовина крові (сечі), ммоль/л				
Основний резерв крові, ммоль/л				
Креатинін сечі, г/ добу				
ЧСС уд /хв				

Зробити висновок про рівень тренуваності, порівнюючи одержані біохімічні показники у тренуваних і нетренуваних осіб.

**Дослід 2.** Біохімічні показники тренуваності підчас виконання граничного фізичного навантаження

Хід роботи. Групу студентів розподіляють на 5 підгруп. В іспитованих, які перебувають в стані спокою у положенні сидячи, визначають такі показники: у крові — рівень глюкози, молочної кислоти, основний резерв; в сечі або крові — рівень сечовини; у сечі — рівень креатиніну; ЧСС. Потім іспитовані виконують граничне фізичне навантаження: біг на місці протягом 5 хв із високим підніманням стегон або обертанням педалей велоергометра впродовж 5 хв. Частоту кроків або обертів педалей слід підбирати так, щоб іспитовані виконували цю роботу на межі своїх можливостей.

Після навантаження в учасників проводять забір крові й сечі для визначення необхідних біохімічних показників, а також заміряють ЧСС. Результати заносять до таблиці за формою, наведеною у попередній досліді. Зробити висновок про ступінь тренуваності іспитованих за результатами виконання граничного навантаження.

***Питання для самопідготовки:***

1. Які біохімічні зміни відбуваються у м'язах тренуваної людини ?
2. В чому полягає подібність і відмінність в біохімічних процесах граничного і стандартного навантаження?
3. Які речовини Як впливає стандартне фізичне навантаження на біохімічні показники у тренуваних і нетренуваних осіб ?
3. в чому полягає інтенсивність фізичного навантаження і як воно впливає на біохімічні показники організму?
4. Як впливає граничне фізичне навантаження на біохімічні показники у тренуваних і нетренуваних осіб?
5. Під час стандартного чи граничного фізичного навантаження виявляється феномен економізації біохімічних процесів?
6. Які біохімічні показники визначаються під час стандартного чи граничного фізичного навантаження?
7. Які біохімічні показники свідчать про тренуваність організму ?

ПИТАННЯ ГАРАНТОВАНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ ДО ІСПИТУ З КУРСУ  
«БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТА БІОХІМІЯ РУХОВОЇ АКТИВНОСТІ»

1. Дайте характеристику води як дисперсного середовища живих організмів. Привести приклади дисперсних систем організму.
2. Дифузія і осмос; їх роль у процесах життєдіяльності.
3. Ізотонічний, гіпотонічний і гіпертонічний розчин. Реакція на них живої клітини.
4. Активна реакція середовища. Водневий показник; його значення в різних середовищах.
5. Буферні системи організму; їх біологічна роль.
6. На конкретному прикладі пояснити механізм дії буферної системи. Перечислити буферні системи крові.
7. Істинні та колоїдні розчини. Привести приклади.
8. Класифікація органічних сполук за функціональними групами. Привести приклади.
9. Вуглеводи. Класифікація і біологічна роль.
10. Моносахариди. Хімічні властивості моносахаридів.
11. Моносахариди. Класифікація за функціональними групами і довжиною вуглецевого ланцюга.
12. Моносахариди. Явище ізомерії. Приклади ізомерів.
13. Дисахариди. Будова, хімічні властивості та біологічна роль.
14. Полісахариди. Будова, властивості та біологічна роль.
15. Ліпіди. Класифікація. Резервні та структурні ліпіди, їх біологічна роль.
16. Насичені і ненасичені жирні кислоти, їх біологічна роль.
17. Тригліцериди. Прості і змішані тригліцериди. Приклади.
18. Фосфоліпіди. Будова і біологічна роль.
19. Стероїди як неомильні ліпіди. Біологічне значення холестерину.
20. Білки як біологічні полімери. Функція білків.
21. Амінокислоти як структурні елементи білків. Замінні і незамінні амінокислоти.
22. Амінокислоти як амфотерні електроліти, властивості амінокислот.
23. Фізико-хімічні властивості білків.
24. Первинна структура білків. Написати рівняння утворення пептидного зв'язку.
25. Прості білки, їх будова і біологічна роль.
26. Складні білки, класифікація і біологічна роль.
27. Структура білків. Денатурація. Ренатурація. Ізоелектрична точка білків.
28. Мононуклеотиди АМФ, АДФ та АТФ. Будова та біологічна роль.

29. Нуклеїнові кислоти, будова і функції.
30. Види РНК і їх роль у синтезі білків.
31. Ферменти як біологічні каталізатори.
32. Структура ферментів. Активний центр ферментів.
33. Механізм ферментативного каталізу.
34. Впливи різних факторів на активність ферментів.
35. Специфічність дії ферментів. Привести приклади.
36. Класифікація ферментів за реакціями, які вони каталізують. Приклади.
37. Вітаміни, їх загальні властивості. Авітаміноз, гіпо- і гіпервітаміноз.
38. Класифікація вітамінів. Привести приклади.
39. Водорозчинні вітаміни, їх біологічні функції і основні джерела в харчуванні.
40. Жиророзчинні вітаміни, їх біологічна функція і основні джерела в харчуванні.
41. Причини виникнення гіповітамінозу в організмі.
42. Гормони як регулятори біохімічних процесів, їх поділ за біохімічною структурою.
43. Гормони підшлункової залози.
44. Гормони мозкового шару наднирників і їх вплив на працездатність скелетних м'язів.
45. Гормони. Стероїдні гормони. Допінги. Допінгтести.
46. Пластичний і енергетичний обмін.
47. Біологічне окислення. Транспорт протонів і електронів водню по дихальному ланцюгу.
48. Гідролітичне розщеплення вуглеводів у травному тракті.
49. Всмоктування моносахаридів стінками тонкого кишківника. Гіперглікемія і глікоглікемія, причини її виникнення. Аліментарна гіперглікемія і глюкозурія.
50. Анаеробний розпад вуглеводів, його енергетичний ефект.
51. Гліколіз і глікогеноліз, відмінність і подібність. В яких органах вони переважають?
52. Перехід від гліколізу до циклу трикарбонних кислот. Які коферменти приймають участь в цьому процесі?
53. Аеробне окислення вуглеводів, його енергетична цінність і фізіологічне значення.
54. Гідролітичне розщеплення жирів в травному каналі.
55. Розщеплення фосфоліпідів і стеридів у процесі травлення.
56. Біохімічні механізми всмоктування продуктів гідролізу жиру.

57. Ліполіз жирів. Окислення гліцерину і його зв'язок з гліколізом.
58. Окислення жирних кислот і його зв'язок з циклом трикарбонових кислот.
59. Утворення кетонових тіл. Кетонемія та кетонурія. Причини її виникнення.
60. Ферментативний гідроліз білків у травному каналі.
61. Азотистий баланс організму (позитивний, нульовий і від'ємний).
62. Синтез білків. Роль нуклеїнових кислот в цьому процесі.
63. Перетворення амінокислот в клітині (переамінування, дезамінування, окисне декарбоксілювання).
64. Синтез сечовини як основний шлях знешкодження аміаку.
65. Обмін води в організмі.
66. Мінеральні речовини і їх участь в метаболічних реакціях організму.
67. Взаємозв'язок процесів обміну В, Ж, Б.
68. Розпад нуклеїнових кислот у травній системі і клітинах. назвати кінцеві продукти обміну.
69. Роль печінки в обміні жирів.
70. Утворення енергії в процесах біологічного окислення. Субстратне та окисне фосфорилування.
71. Гормони. Класифікація гормонів. Допінги.
72. Шляхи знешкодження аміаку в організмі.
73. Взаємозв'язок обміну ліпідів з обміном вуглеводів.
74. В чому полягає реакція "мідного дзеркала". Навести приклади.
75. Типи індикаторів і зміна їх забарвлення в різних середовищах.
76. Поняття про ємність буферної системи; як її вичерпати.
77. Пояснити суть реакції Троммера.
78. В якому випадку при вивченні органічних сполук застосовують реактив Селіванова?
79. Як виявити чи володіють дисахариди відновними властивостями?
80. В чому полягає реакція Уффельмана, для чого її використовують?
81. Написати реакцію омилення жиру. Назвати продукти реакції.
82. Біуретова реакція, її застосування.
83. Які є способи осадження білків? Пояснити їх механізм.
84. Описати метод відкриття амінокислот в поті.
85. Написати реакцію гідролізу сечовини, назвати продукти реакції.
86. Які речовини виступають в ролі активаторів ферментів? Як виявити їх вплив?
87. Як досягнути ізоелектричної точки білка?
88. Навести приклади стереоізомерів моносахаридів.
89. Як можна виявити наявність в жирі ненасичених жирних кислот?

90. Написати реакцію гідролізу лецитину.
91. В чому полягає процес гідролізу жиру?
92. В чому різниця за амінокислотним складом між желатином та яєчним білком?
93. Яка якісна реакція характерна для всіх амінокислот, що входять до складу білка?
94. Які пуринові і піримідинові основи входять до складу нуклеїнових кислот, в чому полягає їх комплементарність?
95. Складіть сумарне рівняння окислення глюкози до молочної кислоти і до кінцевих продуктів окислення вуглеводів.
96. Скільки АТФ утворюється при повному розпаді 1 молекули пальмітинової кислоти. Пояснити чому?
97. Скільки АТФ утворюється при повному розпаді 1 молекули стеаринової кислоти. Пояснити чому?
98. Написати схему гідролізу крохмалю. З допомогою якої реакції можна виявити його ступінь?
99. Які вітаміни беруть участь в  $\beta$ -окисненні жирних кислот?
100. Написати реакцію дезамінування амінокислот. Біологічний зміст цієї реакції.
101. Написати реакцію декарбоксілювання амінокислот. В чому полягає її біологічне значення?
102. Написати схему реакції переамінування. Пояснити значення цього процесу.
103. Що таке кордон і антикодон? До чого веде їх комплементарність?
104. Який вітамін бере участь в окислювальному декарбоксілюванні піровиноградної кислоти і до чого може призвести його авітаміноз?
105. Який вплив симпато-адреналової системи на обмін вуглеводів?
106. Який вплив симпато-адреналової системи на тканинний ліполіз?
107. Пояснити ксантопротеїнову реакцію.
108. У чому полягає реакція Фоля?
109. Напишіть рівняння утворення складних ефірів глюкози і фруктози з фосфорною кислотою. Яке її значення?
110. В чому полягає фосфороліз глікогену, де він відбувається і за яких обставин?

### Рекомендована література

1. Біологічна хімія. Лабораторний практикум. // За загальною редакцією Гонського Я.І. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001.
2. Боечко Ф.Ф. Біологічна хімія. - К.: Вища школа, 1989. Мухін В. М. Фізіотерапія / В. М. Мухін // Фізична реабілітація : підручник. – 3-тє вид., перероб. та доповн. – Київ : Олімп. література, 2009. – С. 70 –95.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини - Тернопіль, Укрмедкнига, 2001.
4. Губський Ю.І. Біологічна хімія. - Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000.
5. Методичні рекомендації до лабораторних занять з фізіології людини і тварин. – Суми, СумДПУ, 2006 – 49с.
6. Осипенко Г.А. Основи біохімії м'язової діяльності.- Київ: Олімпійська література, 2007
7. Плахтій П.Д. Фізіологія людини. Обмін речовин і енергозабезпечення м'язової діяльності: Навчальний посібник. – Київ: ВД «Професіонал», 2006. – 464с.
8. Трач. В.М., Сибіль. М.Г., Гложик І.З., Башкін І.М.. Лабораторний практикум з біохімії для студентів вищих навчальних закладів фізкультурного профілю. /- Львів: ЛДУФК, 2014.-238с.
9. Чайченко Г.М., Цибенко В.О. Сокур В.Д. Фізіологія людини і тварин. – К.:Вища школа, 2003 – 436с.
10. Чайченко Г.М., Цибенко В.О. Сокур В.Д. Фізіологія людини і тварин. – К.:Вища школа, 2003 – 436с.
11. Явоненко О.Ф., Яковенко Б.В. Біохімія. – Суми: Університетська книга, 2002. Робочий зошит з фізіологічних основ фізичного виховання і спорту: методичні рекомендації/ уклад. Усова О. В., Захожий В. В. - Луцьк : Східноєвроп. нац. ун-т імені Лесі Українки, 2013. - 55с.
12. Яновський І.І., Ужако П.В. Фізіологія людини і тварин. Практикум. – к.: Вища школа, 1991. – 175с.



## Інформаційні (інтернет) ресурси

1. Використовуючи рекомендації літературних джерел, результати проведення функціональної діагностики на практичних заняттях і самодіагностики, розробити характеристики спортсменів різної спеціалізації за біохімічними показниками. Доступно: <https://www.fizkulturaisport.ru/ocenka/otbor/236-modelnye-harakteristiki-sportsmenov.html?showall=1>
2. Використовуючи знання та вміння, отримані на лекціях і практичних заняттях, рекомендації літературних джерел розробити індивідуальну оздоровчу систему з урахуванням обраного виду спорту Доступно: [http://kts-osvita.org.ua/index.php?option=com\\_content&task=view&id=426&Itemid=68](http://kts-osvita.org.ua/index.php?option=com_content&task=view&id=426&Itemid=68)
3. Наукова бібліотека РДГУ <http://library.rshu.edu.ua/>
4. Сайт української асоціації фізичної терапії: <https://physrehab.org.ua/>
5. Сайт Українського товариства фізичної та реабілітаційної медицини: <http://www.utfm.com.ua/>
6. Сайт Національної бібліотеки України ім. В. І. Вернадського: Режим доступу: <http://www.nbuv.gov.ua>
7. <http://www.pubmed.com>
8. <https://www.pedro.org.au/>
9. <http://www.cochranelibrary.com/>
10. <http://www.nice.org.uk>