

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ



Клінічна біохімія

Практикум та методичні рекомендації
по проведенню переддипломної практики

зі спеціальності: 6.120102 «Лабораторна діагностика»

Модуль3. «Біохімія ендокринної системи, водно-електролітний обмін та система гемостазу»

Запоріжжя
2014

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Затверджено на засіданні
Центральної методичної Ради ЗДМУ
Протокол № 3 від 21.02.2013 р.

Клінічна біохімія
Практикум з клінічної біохімії та методичні
рекомендації по проведенню переддипломної
практики

студента _____

_____ групи IV курсу II медичного факультету

Зі спеціальності: 6.120102 «Лабораторна діагностика»

Модуль 3. «Біохімія ендокринної системи, водно-електролітний обмін та система
гемостазу»

Запоріжжя

2014

Клінічна Біохімія. Практикум та методичні рекомендації по проведенню переддипломної практики для студентів 4 курсу медичного факультету спеціальності «Лабораторна діагностика» склали:

©Александрова К.В. – д.хім.н., професор

©Романенко М.І. – д.фарм.н., професор

©Макоїд О.Б. – к.біол.н., доцент

©Шкода О.С. – к.фарм.н., старший викладач

©Горбачова С.В. – к.біол.н., асистент

Під загальною редакцією завідувача кафедри біологічної хімії та лабораторної діагностики д.хім.н., професора Александрової К.В.

Рецензенти:

Професор кафедри органічної та біоорганічної хімії д.фарм.н., професор
Прийменко Б.О.

Завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури д.біол.н., професор
Беленічев І.Ф.

Зміст

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Вступ | 4 |
| План лабораторно-практичних занять | 4 |
| Змістовий модуль 8: Клінічна біохімія ендокринної системи | 5 |
| Клінічне значення та методи визначення білково-пептидних гормонів (трийодтиронін, тироксин, тиреотропний гормон, інсулін, с-пептид) | 6 |
| Клінічне значення та методи визначення стероїдних гормонів (прогестерон, естрадіол, тестостерон, ДГЕА-сульфат) | 15 |
| Підсумкове заняття зі змістового модулю 8 | 22 |
| Змістовий модуль 9: Дослідження показників мінерального обміну та системи гемостазу | 23 |
| Визначення натрію та калію у біологічних рідинах фотометричним та турбодіметричним методами | 24 |
| Визначення фосфору та кальцію у біологічних рідинах | 34 |
| Визначення хлоридів та заліза у біологічних рідинах | 43 |
| Дослідження системи згортання крові | 55 |
| Підсумкове заняття з модулю 3 | 60 |
| Література | 62 |
| План самостійної роботи студентів | 63 |
| Методичні рекомендації | |
| По проведенню переддипломної практики з клінічної біохімії | 64 |
| Додаток 1 | 77 |
| Додаток 2 | 78 |

Вступ

Практикум та методичні рекомендації створено у відповідності до робочої програми дисципліни «Клінічна біохімія» для студентів 4 курсу II медичного факультету спеціальності 6.120102 «Лабораторна діагностика» для організації раціональної роботи студентів під час підготовки до практичних занять, здійснення самоконтролю знань теоретичних питань практичних занять модуля 3 у межах проведення переддипломної практики, так як подібної навчально-методичної літератури українською мовою та у відповідності з робочою програмою дисципліни не існує.

ПЛАН ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

| Модуль 3. Біохімія ендокринної системи, водно-електролітний обмін та система гемостазу | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Змістовий модуль 8: Клінічна біохімія ендокринної системи</i> | | |
| 19 | Клінічне значення та методи визначення білково-пептидних гормонів (трийодтиронін, тироксин, тиреотропний гормон, інсулін, с-пептид) | 3 |
| 20 | Клінічне значення та методи визначення стероїдних гормонів (прогестерон, естрадіол, тестостерон, ДГЕА-сульфат) | 3 |
| 21 | Підсумкове заняття зі змістового модулю 8 | 3 |
| <i>Змістовий модуль 9: Дослідження показників мінерального обміну та системи гемостазу</i> | | |
| 22 | Визначення натрію та калію у біологічних рідинах фотометричним та турбодіметричним методами | 3 |
| 23 | Визначення фосфору та кальцію у біологічних рідинах | 3 |
| 24 | Визначення хлоридів та заліза у біологічних рідинах | 3 |
| 25 | Дослідження системи згортання крові | 3 |
| 26 | Підсумкове заняття з модулю 3 | 3 |
| Усього | | 24 |

Змістовий модуль 8

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ЕНДОКРИННОЇ СИСТЕМИ

ЗАНЯТТЯ №19

1. ТЕМА:Клінічне значення та методи визначення білково-пептидних гормонів

2. МЕТА: Сформувати знання про значення та механізм дії білково-пептидних гормонів організмі людини

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

3.1 Теоретичні питання до заняття

1. Загальна характеристика та роль гормонів в організмі людини
2. Значення білково-пептидних гормонів та їхня класифікація
3. Механізм дії та органи-мішені білково-пептидних гормонів
4. Пептидні гормони
5. Гормони – похідні амінокислот

Теми рефератів:

1. *Порушення функцій гіпоталамо-гіпофізарної системи*
2. *Порушення функцій щитовидної залози*

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 19

Дата_____

1. Визначення тиреотропного гормону імуноферментним методом

Принцип методу:в наборі використовується «сендвіч»-варіант твердофазного імуноферментного аналізу. Для реалізації цього варіанту використані 2 моноклональних антитіла з різною специфічністю до тиреотропного гормону (ТТГ). Один з видів антитіл імобілізований на твердій фазі (внутрішній поверхні лунок), другий вид – зв'язаний з пероксидазою хрину. В лунках, при додаванні досліджуваного зразка та кон'югату анти-ТТГ-пероксидаза, під час інкубації одночасно відбувається імобілізація ТТГ, що знаходиться у досліджуваному зразку, та зв'язування його з кон'югатом. При видаленні вмісту з

лунок та промиванні відбувається видалення надлишку кон'югату, який не зв'язався з ТТГ під час інкубації. Кількість зв'язаного кон'югату прямопропорційна кількості ТТГ у досліджуваному зразку.

Лінійність методу: 0,25 – 15,0 мкМОд/мл

Нормальні значення: 0,23 – 3,4 мкМОд/мл

Концентрація тиреотропного гормону стабільна протягом 2 діб при температурі $+2 - +8^{\circ}\text{C}$, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат з можливістю підтримування температури $+37^{\circ}\text{C}$
- 3) Автоматичні піпетки на 0,05, 0,1 і 1 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Калібрувальні проби
- 7) Кон'югат анти-ТТГ-пероксидаза
- 8) Концентрат буферу для промивання
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,05 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,1 мл кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 1 години при струшуванні та температурі $+37^{\circ}\text{C}$
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ

8. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту тиреотропного гормону у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

Клініко-діагностичне значення. Визначення вмісту тиреотропного гормону (ТТГ) проводиться з метою діагностики функції щитовидної залози у пацієнтів з підозрою на гіпо- або гіпертиреоз (при збільшенні щитовидної залози, появі симптомів порушення обміну речовин та зміні маси тіла), для контролю за проведеним лікуванням (оцінки ефективності та дозування лікарських препаратів), після операцій на щитовидній залозі та з профілактичною метою у вагітних та людей, що проживають у ендемічних районах з дефіцитом йоду. Підвищення рівня ТТГ спостерігається при первинному та вторинному гіпотиреозі, пухлинах гіпофізу, тиреоїдиті, синдромі резистентності до тиреоїдних гормонів. Вміст ТТГ знижується при токсичному зобі, тиреотоксикозах різної етіології, травмах гіпофізу.

2. Визначення тироксину вільного імуноферментним методом

Принцип методу: в наборі використовується варіант конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу. В лунках, при додаванні досліджуваного зразка та кон'югату Т4-пероксидази, під час інкубації встановлюється рівновага між кон'югатом та вільним Т4 у досліджуваній сироватці у процесі зв'язування з антитілами на внутрішній поверхні лунок. Компоненти, що не зв'язалися видаляються промиванням. Кількість зв'язаного антитілами кон'югату оберненопропорційна кількості вільного тироксину

досліджуваному зразку. Під час інкубації з розчином ТМБ відбувається розвиток забарвлення, інтенсивність якого оберненопропорційна концентрації вільного тироксину у досліджуваних зразках.

Лінійність методу: 3,0 – 100,0 пмоль/л

Нормальні значення: 10,0 – 23,2 пмоль/л

Концентрація тироксину вільного стабільна протягом 2 діб при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) здовжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат з можливістю підтримування температури +37⁰С
- 3) Автоматичні піпетки на 0,02; 0,1; 0,15 і 1 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Калібрувальні проби
- 7) Кон'югат Т4-пероксидаза
- 8) Концентрат буферу для промивання
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реagenти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,02 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,15 мл кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 1 години при струшуванні та температурі +37⁰С
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки

6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
8. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту вільного тироксину у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

Клініко-діагностичне значення. Визначення вмісту тироксину проводиться при виявленому зниженому або підвищеному рівні тиреотропного гормону, клінічній картині гіпотиреозу або тиреотоксикозу, для контролю за лікуванням дифузного токсичного зобу. Концентрація тироксину зростає при токсичному зобі, тиреоїдиті, синдромі резистентності до тиреоїдних гормонів, ТТГ-незалежному тиреотоксикозі. Зниження рівня тироксину характерне для ендемічного зобу, аутоімунного тиреоїдиту, новоутворень у щитовидній залозі, обширній резекції щитовидної залози, вторинному та третинному гіпотиреозі.

3. Визначення інсуліну імуноферментним методом

Принцип методу: в наборі використовується «сендвіч»-варіант твердофазного імуноферментного аналізу.

Лінійність методу: 0,0 – 100,0 мкОд/мл

Нормальні значення: 2,0 – 25,0 мкОд/мл

Концентрація інсуліну стабільна протягом 2 діб при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Автоматичні піпетки на 0,025, 0,05 і 1 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Дистильована вода
- 5) Калібрувальні проби
- 6) Концентрат буферу для промивання
- 7) Ензимний кон'югат
- 8) Ензимний комплекс
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реagenти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,025 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,025 мл ензимного кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 30 хвилин при кімнатній температурі
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
7. Внести у всі лунки по 0,05 мл ензимного комплексу
8. Інкубувати стрипи при кімнатній температурі 30 хв
9. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів
10. Внести у всі лунки по 0,05 мл розчину ТМБ
11. Витримати 20 хв у темному місці для розвитку забарвлення
12. Додати у всі лунки по 0,05 мл розчину сірчаної кислоти (стоп-реагент)

13. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту інсуліну у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

Клініко-діагностичне значення. Визначення концентрації інсуліну проводять при діагностиці форм цукрового діабету для вибору тактики лікування, при гіпоглікемічних станах, ожирінні, підозрі на інсуліному, метаболічному синдромі. Зростання вмісту інсуліну спостерігається при інсуліномі (пухлинні β -клітин острівців Лангенгарса підшлункової залози), інсулін-незалежному цукровому діабеті (діабеті 2-го типу), хворобах печінки, синдромі Кушинга, акромегалії, ожирінні. Зниження рівня інсуліну характерне для інсулін-залежного цукрового діабету (діабету 1-го типу).

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть місце синтезу тиреотропного гормону:

- A. Щитовидна залоза
- B. Передня доля гіпофізу
- C. Задня доля гіпофізу
- D. Наднирники
- E. Гіпоталамус

2. Які фізіологічні ефекти викликає тиреотропний гормон?

- A. Знижує продукцію тиреоїдних гормонів
- B. Стимулює синтез тиреоїдних гормонів
- C. Підвищує рівень глюкози
- D. Регулює обмін кальцію
- E. Посилює розпад білків

3. Яка амінокислота бере участь у синтезі тиреоїдних гормонів?

- A. Гліцин

- B. Метіонін
- C. Тирозин
- D. Фенілаланін
- E. Триптофан

4. Які лабораторні тести проводяться для діагностики захворювань щитовидної залози?

- A. Визначення тироксину
- B. Визначення тиреотропного гормону
- C. Визначення тиреоглобуліну
- D. Визначення антитіл до тиреоїдної пероксидази
- E. Всі відповіді правильні

5. Які процеси в організмі регулюють тиреоїдні гормони?

- A. Збільшують теплопродукцію та потребу тканин у кисні
- B. Прискорюють обмін білків
- C. Стимулюють синтез вітаміну А
- D. Знижують концентрацію холестерину та тригліцеридів
- E. Всі відповіді правильні

6. Яка роль паратиреоїдного гормону в організмі людини?

- A. Регулює рівень тиреотропного гормону
- B. Регулює синтез тироксину
- C. Зв'язує тиреоїдні гормони, знижуючи їхню активність
- D. Регулює метаболізм кальцію та фосфору в організмі
- E. Всі відповіді правильні

7. Яку функцію виконує інсулін?

- A. Підвищує рівень глюкози у крові
- B. Посилює синтез глікогену
- C. Сприяє транспорту глюкози в тканини
- D. Регулює білковий обмін
- E. Всі відповіді правильні

8. Синтез інсуліну регулюється:

- A. Тиреотропним гормоном
- B. Адреналіном

- C. Альдостероном
- D. Соматотропним гормоном
- E. Глюкагоном

9. Для діагностики цукрового діабету проводять визначення:

- A. Глюкози
- B. Інсуліну
- C. С-пептиду
- D. Глікозованого гемоглобіну
- E. Всі відповіді правильні

10. Місцем синтезу інсуліну є:

- A. Передня доля гіпофізу
- B. Щитовидна залоза
- C. Підшлункова залоза
- D. Наднирники
- E. Гіпоталамус

5. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 62)

ЗАНЯТТЯ №20

1. ТЕМА: Клінічне значення та методи визначення стероїдних гормонів

2. МЕТА: Сформувати уявлення про структуру, класифікацію та значення стероїдних гормонів в організмі людини

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

3.1 Теоретичні питання до заняття

1. Особливості структури та синтезу стероїдних гормонів
2. Класифікація стероїдних гормонів
3. Основні механізми дії стероїдних гормонів
4. Порушення обміну стероїдів
5. Лабораторні методи визначення рівня гормонів в організмі людини

Теми рефератів:

1. Порушення функцій надниркових залоз
2. Порушення функцій статевих залоз

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 20

Дата _____

1. Визначення естрадіолу в сироватці крові

Принцип методу: Лунки мікропланшету покриті антитілами до молекул естрадіолу. Ендогенний естрадіол досліджуваного зразка конкурує з естрадіолом, що кон'югований з пероксидазою, за зв'язування з антитілами, якими вкрите дно лунок. Кількість зв'язаного кон'югата пероксидази обернено пропорційне концентрації естрадіолу у досліджуваному зразку. Після додавання розчину субстрату розвивається забарвлення, інтенсивність якого обернено пропорційне концентрації естрадіолу у зразку.

Лінійність методу: 9,7 – 2000,0 пг/мл

Нормальні значення: для чоловіків 15 – 70 пг/мл

для жінок у фолікуліновій фазі 10 – 160 пг/мл

овуляція 34 – 400 пг/мл

у лютеїновій фазі 27 – 246 пг/мл

менопауза до 30 пг/мл

Концентрація естрадіолу стабільна протягом 5 діб при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) здовжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат з можливістю підтримування температури +37⁰С
- 3) Автоматичні піпетки на 0,02; 0,1; 0,15 і 1 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Калібрувальні проби
- 7) Кон'югат естрадіол-пероксидаза
- 8) Концентрат буферу для промивання
- 9) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 10) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,025 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,2 мл кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 2 годин при кімнатній температурі
5. Приготувати буфер для промивання: 4 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки

6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 3 рази
7. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
8. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
9. Додати у всі лунки по 0,05 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту естрадіолу у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

Клініко-діагностичне значення. Естрадіол є одним з основних жіночих статевих гормонів. Призначення тесту використовують у діагностиці гіпоталамо-гіпофізарних порушень, порушеннях статевого дозрівання, менструального циклу, дисфункціональних маткових кровотечах, пухлинах статевих залоз та наднирників, для визначення причин овуляції, безпліддя, гірсутизму у жінок, фемінізації у чоловіків, гіпогонадізмі. У чоловіків низький рівень естрадіолу свідчить про тестикулярну фемінізацію, гіпогонадізм, хронічний простатит. Підвищений рівень гормону вказує на естроген-продукуючу пухлину яєчок. У жінок зниження вмісту естрадіолу спостерігається при гіпогонадізмі, гіперпролактинемії, тестикулярній фемінізації, хронічних запальних процесах внутрішніх статевих органів, ризику переривання вагітності ендокринного генезу, синдромі Шершевського-Тернера, прийомі оральних контрацептивів. Висока концентрація гормону вказує на гормон-синтезуючу пухлину яєчників, полікістоз, а також характерна для цирозу печінки та гіпертиреозу.

3. Визначення тестостерону імуноферментним методом

Принцип методу: Лунки мікропланшету покриті антитілами до молекул тестостерону. Ендогенний тестостерон досліджуваного зразка конкурує з тестостероном, що кон'югований з пероксидазою, за зв'язування з антитілами, якими вкрите дно лунок. Кількість зв'язаного кон'югата пероксидази обернено

пропорційне концентрації тестостерону у досліджуваному зразку. Після додавання розчину субстрату розвивається забарвлення, інтенсивність якого обернено пропорційне концентрації тестостерону у зразку.

Лінійність методу: 0,083 – 16,0 пг/мл

Нормальні значення: для чоловіків 2,0 – 6,9 пг/мл

для жінок 0,26 – 1,22 пг/мл

Концентрація тестостерону стабільна протягом 5 діб при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма без слідів гемолізу.

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Автоматичні піпетки на 0,025, 0,05 і 1 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Дистильована вода
- 5) Калібрувальні проби
- 6) Концентрат буферу для промивання
- 7) Ензимний кон'югат
- 8) Розчин тетраметилбензидину (ТМБ)
- 9) Розчин соляної кислоти (стоп-реагент)

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,025 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки
3. Додати у всі лунки по 0,2 мл ензимного кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 60 хвилин при кімнатній температурі
5. Приготувати буфер для промивання: 5 мл концентрату внести у мірну колбу на 100 мл, дистильованою водою довести до мітки
6. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх приготованим буферним розчином 5 разів

7. Внести у всі лунки по 0,2 мл розчину ТМБ
8. Витримати 20 хв у темному місці для розвитку забарвлення
9. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину сірчаної кислоти (стоп-реагент)
10. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту тестостерону у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

Клініко-діагностичне значення. Основними показаннями для визначення рівню тестостерону є аменорея, безпліддя, порушення потенції, остеопороз у чоловіків, пухлини яєчок, ожиріння гірсутизм. Високий вміст тестостерону вказує на передчасне статеве дозрівання, гіперплазію та пухлини наднирників, екстрагональні пухлини у чоловіків, захворювання трофобласту під час вагітності, тестикулярну фемінізацію, синдром полікістозних яєчників, ідіопатичний гірсутизм, адренобластому. Зниження рівня тестостерону свідчить про первинний та вторинний гіпогонадізм, крипторхізм, ожиріння, уповільнене статеве дозрівання хлопчиків.

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які гормони відносяться до стероїдних?
 - A. Гормони щитовидної залози
 - B. Гормони надниркових залоз
 - C. Гормони гіпофізу
 - D. Гормони гіпоталамусу
 - E. Всі відповіді правильні
2. До гормонів, що синтезуються мозковим шаром наднирників відносять:
 - A. Андрогени
 - B. Мінералокортикоїди

- C. Глюкокортикоїди
- D. Катехоламіни
- E. Естрогени

3. Яку фізіологічну роль відіграють мінералокортикоїди?

- A. Регулюють обмін білків
- B. Сприяють відкладенню глікогену у печінці
- C. Прискорюють глюконеогенез
- D. Пригнічують синтез холестерину
- E. Регулюють мінеральний обмін

4. Який гормон гіпофізу регулює діяльність надниркових залоз:

- A. Соматотропний гормон
- B. Тиреотропний гормон
- C. Адренкортикотропний гормон
- D. Фолікулостимулюючий гормон
- E. Лютеїнізуючий гормон

5. До гормонів, що синтезуються корковим шаром наднирників, відносять:

- A. Альдостерон
- B. Кортизол
- C. Естрадіол
- D. Тестостерон
- E. Всі відповіді правильні

6. При гіпофункції кори наднирників розвивається хвороба під назвою:

- A. Адисонова хвороба
- B. Хвороба Іценко-Кушинга
- C. Гіпертиреоз
- D. Цукровий діабет
- E. Хвороба Бехтерева

7. Основним попередником біосинтезу андрогенів та естрогенів є:

- A. Андростендіон
- B. Прогестерон
- C. Дигідроепіандростерон-сульфат
- D. Пролактин

Е. Кортизол

8. Які гормони гіпофізу регулюють діяльність статевих залоз?

А. Адренкортикотропний гормон

В. Фолікулостимулюючий, лютеїнізуючий гормон

С. Соматотропний гормон

Д. Окситоцин

Е. Меланотропін

9. Який лабораторний метод найчастіше використовується для дослідження вмісту гормонів?

А. Фотометричний

В. Рефрактометричний

С. Радіоімунний

Д. Імуноферментний

Е. Електрофорез

10. У якому біологічному матеріалі проводять дослідження рівня гормонів?

А. У сироватці крові

В. У плазмі крові

С. У ранковій сечі

Д. У добовій сечі

Е. Всі відповіді правильні

5. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 62)

ЗАНЯТТЯ №21

1. ТЕМА: Підсумкове заняття зі змістового модулю 8

2. МЕТА: Узагальнити знання про роль гормонів в організмі людини

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

3.1 Теоретичні питання до заняття

1. Загальна характеристика та роль гормонів в організмі людини
2. Значення білково-пептидних гормонів та їхня класифікація
3. Механізм дії та органи-мішені білково-пептидних гормонів
4. Пептидні гормони
5. Гормони – похідні амінокислот
6. Порушення функцій гіпоталамо-гіпофізарної системи
7. Порушення функцій щитовидної залози
8. Лабораторна діагностика цукрового діабету
9. Особливості структури та синтезу стероїдних гормонів
10. Класифікація стероїдних гормонів
11. Основні механізми дії стероїдних гормонів
12. Порушення обміну стероїдів
13. Лабораторні методи визначення рівня гормонів в організмі людини
14. Порушення функцій кори надниркових залоз
15. Порушення функцій мозкового шару надниркових залоз
16. Порушення функцій статевих залоз

Змістовий модуль 9

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОКАЗНИКІВ МІНЕРАЛЬНОГО ОБМІНУ ТА СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ

Заняття №22

ТЕМА: Визначення натрію та калію у біологічних рідинах фотометричним та турбідиметричним методами

МЕТА: Встановити біологічну роль та порушення обміну натрію та калію в організмі людини

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

1. Загальний вміст та розподіл катіонів натрію та калію в організмі
2. Біологічна роль та добова потреба натрію та калію в організмі
3. Порушення обміну катіонів натрію та калію
 - а. гіпер- та гіпонатріємія
 - б. гіпер- та гіпокаліємія
4. Гормональна регуляція рівня натрію та калію в організмі людини
5. Методи визначення натрію та калію в біологічних рідинах

Теми рефератів:

1. *Лабораторні методи дослідження вмісту електролітів у біологічних рідинах*
2. *Роль гормонів у регуляції рівня натрію та калію в організмі*

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 22

Дата _____

1. Визначення концентрації калію в сироватці крові турбодиметричним методом без депротейнування

Принцип методу: При взаємодії іонів калія з іонами тетрафенілбората в лужному середовищі утворюється стабільна суспензія. Каламутність суспензії, виміряна при довжині хвилі 578 нм, пропорційна концентрації іонів калію в досліджуваному зразку

Лінійність методу: 1,0 – 10,0 ммоль/л

Нормальні значення: сироватка крові

Діти – 3,4 – 4,7 ммоль/л

Дорослі – 3,5 – 5,1 ммоль/л

Концентрація калію стабільна протягом 24 годин при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) здовжиною хвилі 578 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,05 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Осаджуючий реагент
- 5) Калібратор – калібрувальний розчин калію, 5,0 ммоль/л.

Приготування робочих розчинів

Осаджуючий реагент готовий до використання. Після використання реактиву для аналізу негайнозакрити флакон, щоб уникнути випаровування або контамінації реактиву. Розчин стійкий протягом місяця після розкриття упаковки при температурі від + 18⁰С до + 25⁰С в темному місці

Калібрувальний розчин калію готовий до використання. Розчин стійкий.

Проведення аналізу

Сироватка або гепаринизована плазма крові. Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

| Відміряти у пробірку: | Варіант з використанням монореагенту | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------|---------------|
| | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
| Осаджуючий розчин | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| Досліджуваний зразок | 0,05 | - | - |
| Калібрувальний розчин калію | - | 0,05 | - |
| Бідистильована вода | - | - | 0,05 |

ВАЖЛИВО. Досліджуваний зразок додавати в осаджуючий розчин повільно, без перемішування

Час інкубації – 2 хвилини при температурі від + 18⁰С до + 25⁰С. Потім реакційну суміш інтенсивно перемішати.

Подальша інкубація – 10 хвилин при температурі від + 18⁰С до + 25⁰С.

Перед фотометруванням всі проби енергійно перемішати

Виміряти оптичну щільність дослідної ($E_{\text{дос}}$) і калібрувальної ($E_{\text{каліб}}$) проб проти холостої проби при довжині хвилі 578 нм.

Розрахунок

Вміст калію у досліджуваному матеріалі розраховують за калібровочним розчином по формулі:

$E_{\text{дос}}$

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{каліб}}} \times C_{\text{каліб}}$$

$E_{\text{каліб}}$

де $C_{\text{дос}}$ – концентрація калію у досліджуваній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

$C_{\text{каліб}}$ – концентрація калію в калібрувальному розчині (5,0 ммоль/л)

Примітки

1. Основним джерелом помилок є забруднений посуд та кювети
2. Скляний посуд та кювети, що використовуються при аналізі, повинні бути цілком чистими, спеціально підготовленими, тобто замоченими на декілька годин у HNO_3 (концентрація близько 2 моль/л), а потім ретельно промитими та висушеними.

Клініко-діагностичне значення. Підвищення рівня калію може бути обумовлене великим надходженням калію в організм, масивним гемолізом,

важкими пошкодженнями тканин, гострим голоданням, гіперкінетичною активністю, ацидозом, дегідратацією. До підвищення концентрації калію призводить зниження виведення його нирками – всі випадки гострої ниркової недостатності з олігоурією або анурією та ацидозом, завершальні стадії хронічної ниркової недостатності; хвороба Адіссона, гіпофункція ренин-ангіотензин-альдостеронової системи, псевдогіпоальдостеронізм, стани після тяжкого фізичного навантаження, шок, ішемія тканин.

Зниження рівня калію пов'язане зі зменшенням його надходження в організм, хронічним голодуванням, розведенням калію у позаклітинній рідині за відсутності надходження його з їжею. Іншою причиною падіння вмісту калію є втрата його організмом – тривала блювота, аденома ворсинок кишечника, нирковий каналцевий ацидоз, ниркова каналцева недостатність, синдром Фанконі, первинний та вторинний альдостеронізм, синдром Кушинга, осмотичний діурез, алкалоз, діабетичний кетоз в період глюконеогенезу, а також при введенні АКТГ, кортизону або тестостерону. До гіпокаліємії призводить також гіпотермія, опіки, лікування мегалобласної анемії вітаміном В12 або фолієвою кислотою, лікування глюкозою або інсуліном, пухлина острівкових клітин підшлункової залози, булемія.

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | Абсолютне значення, ммоль/л |
|----------|-------------|----------------------|-----------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Висновок:

2. Визначення концентрації натрію в сироватці крові колориметричним методом

Принцип методу: Натрій, що міститься у досліджуваному зразку, зв'язується з осаджуючим реагентом. Іони осаджуючого розчину, що залишилися, утворюють забарвлений комплекс з тіогликолятом. Концентрація натрію пропорційна різниці між контрольною (без преципітації) та дослідною пробами

Лінійність методу: 1,0 – 250 ммоль/л

Нормальні значення: сироватка крові

Діти – 139 – 146 ммоль/л

Дорослі – 136 – 145 ммоль/л

Концентрація натрію стабільна протягом 24 годин при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) здовжиною хвилі 365 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,04 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Реагент 1 - осаджуючий розчин (0,1 М оцтова кислота, 15,2 М етиловий спирт, 140 мМ ацетат магнію)
- 5) Реагент 2 – 550 мМ тіогликолят амонію
- 6) Калібратор – калібрувальний розчин натрію, 150,0 ммоль/л.

Приготування робочих розчинів

Реагенти 1 та 2 готові до використання, стійкі

Калібрувальний розчин натрію готовий до використання. Розчин стійкий.

Проведення аналізу

Сироватка або гепаринизована плазма крові. Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

| Відміряти у пробірку: | Варіант з використанням монореагенту | | |
|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------|
| | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Контрольна проба |
| Реагент 1 (осаджуючий розчин) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Досліджуваний зразок | 0,02 | - | - |
| Калібрувальний розчин | - | 0,02 | - |
| Бідистильована вода | - | - | 0,02 |

Зразки ретельно перемішати та інкубувати 5 хвилин при температурі від + 18⁰С до + 25⁰С, потім знову перемішати (не менше 30 сек) та витримати ще 30 хвилин у темноті. Всі проби з реакційною сумішшю центрифугувати 10 хвилин при 1000 об/хв.

| Відміряти у пробірку: | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Контрольна проба |
|-----------------------|----------------|---------------------|------------------|
| Розчин хромогену | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| Надосадкова рідина | 0,02 | 0,02 | 0,02 |

Для подальшого аналізу використовувати прозору надосадкову рідину (супернатант). Для цього змішати 0,02 мл супернатанту дослідної, калібрувальної та холостої проб з 2 мл реагенту 2 та через 5 хвилин виміряти оптичну щільність дослідної, калібрувальної та контрольної проб проти води при довжині хвилі 365

нм. Забарвлення стабільне протягом 25 хвилин після закінчення інкубації за умови відсутності прямих сонячних променів.

ВАЖЛИВО. Інтенсивність забарвлення зразків обернено пропорційна концентрації натрію у досліджуваному зразку

Розрахунок

Вміст натрію у досліджуваному матеріалі розраховують по формулі:

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{контр}} - E_{\text{досл}}}{E_{\text{контр}} - E_{\text{каліб}}} \times C_{\text{каліб}}$$

де $C_{\text{дос}}$ – концентрація натрію у досліджуваній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

$C_{\text{каліб}}$ – концентрація натрію в калібрувальному розчині (150,0 ммоль/л)

Клініко-діагностичне значення. Зменшення концентрації натрію нижче 134 ммоль/л характеризується появою апатії, втратою апетиту, нудотою, порушенням рефлексів, тахікардією, анурією, гіпотензією з втратою свідомості, психозами. Виділяють абсолютну та відносну гіпонатріємію. Абсолютна гіпонатріємія, або синдром сольової недостатності, виникає при зменшенні вживання натрію з їжею та втратою його через шлунково-кишковий тракт, з сечею, кров'ю, при зловживанні діуретиками. Гіпонатріємія внаслідок гіпернатрійурії спостерігається у хворих, що страждають на первинний та вторинний гіпокортицизм, гіпоальдостеронізм та псевдоальдостеронізм, нефропатії з втратою солей. Абсолютна гіпонатріємія може бути також результатом депонування натрію у так званих «третіх просторах» – при хронічній серцевій недостатності, цирозі печінки, печінковій недостатності, нефротичному синдромі. Відносна гіпонатріємія формується при введенні в організм рідин, що не містять електролітів, при синдромі неадекватної секреції антидіуретичного гормону.

Збільшення концентрації іонів натрію вище 169 ммоль/л супроводжується загальним тяжким станом хворого, підвищенням температури тіла, тахікардією. Абсолютна гіпернатріємія може бути обумовлена затримкою іонів у плазмі хворих з підвищеною функцією кори наднирників (при гіперальдостеронізмі, синдромі Іценко-Кушинга), посиленим виділенням натрію з тканин в плазму в процесі активації метаболізму у осіб, що страждають гнійно-септичними захворюваннями, судомами, лихоманкою. Відносна гіпернатріємія викликана підвищеною втратою води через шкіру, легені, шлунково-кишковий тракт, нирки.

При інтерпретації результатів визначення натрію в плазмі, еритроцитах та сечі слід враховувати ритмічність добових коливань концентрації цього електроліту в біологічних рідинах. У здорових людей у віці 20 – 27 років екскреція натрію з сечею мінімальна у нічний час. У зрілому, середньому та похилому віці (36 – 76 років) коливання рівня натрію у плазмі не суттєві.

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | Абсолютне значення, ммоль/л |
|----------|-------------|----------------------|-----------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Висновок:

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Яка концентрація іонів калію в сироватці крові вважається нормальною:

А. 0,5 – 2,0 ммоль/л

В. 1,5 – 3,0 ммоль/л

- C. 3,8 – 5,0 ммоль/л
- D. 6,0 – 8,0 ммоль/л
- E. 9,0 – 12,0 ммоль/л

2. Вкажіть місце переважного розподілу калію в організмі

- A. Позаклітинно
- B. Внутрішньоклітинно
- C. Внутрішньокістково
- D. Внутрішньом'язово
- E. Всі відповіді правильні

3. Які тканини або органи є основними депо калію в організмі?

- A. Печінка
- B. Нирки
- C. М'язова тканина
- D. Тонкий кишечник
- E. Шлунок

4. Якими методами досліджують вміст калію в біологічних рідинах?

- A. Колориметричний
- B. Турбодиметричний
- C. Методом полум'яної фотометрії
- D. Іонселективним методом
- E. Всі відповіді правильні

5. Яка біологічна роль натрію в організмі людини?

- A. Основний осмотично активний елемент позаклітинної рідини
- B. Бере участь у регуляції кислотно-лужного стану, входячи до складу буферних систем
- C. Визначає стан нервово-м'язової збуджуваності
- D. Зберігає та підтримує сталість електрохімічного потенціалу на мембранах клітин
- E. Всі відповіді правильні

6. Які гормони регулюють обмін натрію?

- A. Інсулін
- B. Вазопресин

- C. Альдостерон
- D. Тироксин
- E. На-уретичні гормони

7. Яка в нормі концентрація натрію в плазмі?

- A. 60 – 80 ммоль/л
- B. 50 – 150 ммоль/л
- C. 100 – 120 ммоль/л
- D. 135 – 150 ммоль/л
- E. 150 – 180 ммоль/л

8. Який нормальний показник добової екскреції натрію з сечею?

- A. 40 – 120 ммоль/добу
- B. 50 – 200 ммоль/добу
- C. 130 – 230 ммоль/добу
- D. 250 – 300 ммоль/добу
- E. 310 – 400 ммоль/добу

9. Які гормони знижують концентрацію натрію в плазмі?

- A. Натрійуретичний фактор
- B. Естрогени
- C. Тироксин
- D. Паратирин
- E. Інсулін

10. Що викликає гіпернатріємія?

- A. Гіпергідрію, набряки, підвищення артеріального тиску
- B. Спрагу, лихоманку
- C. Збудження нервової системи
- D. Гіперосмолярність плазми
- E. Всі відповіді правильні

5. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 62)

Заняття №23

ТЕМА: Визначення фосфору та кальцію у біологічних рідинах

МЕТА: Встановити біологічну роль та види порушень обміну фосфору та кальцію в організмі людини

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

1. Загальний вміст та розподіл катіонів фосфору та кальцію в організмі
2. Біологічна роль та добова потреба фосфору та кальцію в організмі
3. Патології обміну катіонів фосфору та кальцію:
 - a. Гіпер- та гіпокальциемія
 - b. Гіпер- та гіпофосфатемія
4. Гормональна регуляція рівня фосфору та кальцію в організмі (паратгормон, кальцитонін, кальцитріол)
5. Методи визначення фосфору та кальцію у біологічних рідинах

Теми рефератів:

1. Порушення обміну кальцію в організмі
2. Гормональна регуляція рівня фосфору та кальцію

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 23

Дата

1. Фотометричне визначення загального кальцію у біологічних рідинах

Принцип методу: Кальцій, що знаходиться у досліджуваному зразку, реагує з Арсеназо III, формуючи забарвлений комплекс, який можна виміряти спектрофотометрично

Лінійність методу: 0,25 – 3,75 ммоль/л

Нормальні значення: сироватка крові

Діти – 2,20 – 2,70 ммоль/л

Дорослі – 2,15 – 2,50 ммоль/л

Концентрація кальцію стабільна протягом 24 годин при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколометр) з довжиною хвилі 650 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,05 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Арсеназний реагент
- 5) Калібратор – калібрувальний розчин кальцію, 2,5ммоль/л.

Приготування робочих розчинів

Всі розчини готові до роботи.

Досліджувані зразки

Сироватка. Брати кров при мінімальному стискуванні вени, без напруження м'язів

Плазма. Як антикоагулянт необхідно використовувати тільки гепарин. Інші речовини, такі як ЕДТА, оксалат, фторид, цитрат заважають визначенню кальцію.

Добова сеча. Сечу збирати в ємність, що містить 10 мл НСІ (6 моль/л) або підкислити після збору до рН < 2,0 для розчинення солей кальцію

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

| Відміряти у пробірці: | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
|------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|
| Арсеназний реагент | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| Досліджуваний зразок | 0,02 | - | - |
| Калібрувальний розчин | - | 0,02 | - |
| Дистильована вода | - | - | 0,02 |

Зразки ретельно перемішати та інкубувати 5 хвилин при температурі від + 18⁰С до + 25⁰С. Виміряти оптичну щільність дослідної та калібрувальної проби проти холостої при довжині хвилі 570 нм. Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Вміст натрію у досліджуваному матеріалі розраховують по формулі:

$E_{\text{досл}}$

$$C_{\text{дос}} \text{ (ММОЛЬ/Л)} = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{каліб}}} \times C_{\text{каліб}}$$

$E_{\text{каліб}}$

де $C_{\text{дос}}$ – концентрація кальцію у досліджуваній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

$C_{\text{каліб}}$ – концентрація кальцію в калібрувальному розчині (2,5 ммоль/л)

Для розрахунку концентрації кальцію у добовій сечі отримане вище значення помножити на об'єм доборої сечі, виражений в літрах та на коефіцієнт 10 (для отримання результатів в мг/добу)

Клініко-діагностичне значення. Кальцій є основним структурним компонентом кісток, регулює внутрішньоклітинні процеси, нервову провідність, м'язові скорочення, роботу серця, а також приймає участь у процесах згортання крові. Підвищення рівня кальцію спостерігається при гіперфункції парашитовидних залоз, злоякісних пухлинах з ураженням кісток, саркоїдозі, надлишку вітаміну Д, дегідратації, тиреотоксикозі, гострій нирковій недостатності. Зниження вмісту кальцію спостерігається при рахіті, остеопорозі, остеомалаяції, зниженні функції щитовидної залози, хронічній нирковій недостатності, дефіциті магнію, панкреатиті, механічній жовтяниці, прийомі протипухлинних та протисудомних препаратів.

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | Абсолютне значення, ммоль/л |
|----------|-------------|----------------------|--------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Висновок:

2. Визначення неорганічного фосфору фотометричним методом

Принцип методу: Молібдат амонію утворює з фосфором у присутності сірчаної кислоти забарвлений фосфорномолібдатний комплекс, що визначається фотометрично

Нормальні значення: сироватка крові

Діти – 1,16 – 1,9 ммоль/л

Дорослі – 0,65 – 1,61 ммоль/л

Сеча добова 16,0 – 64,0 ммоль/добу

Концентрація кальцію стабільна протягом 24 годин при температурі +2 - +8⁰С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 340 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,02 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Реактив 1 (сірчана кислота 210 ммоль/л, молібдат амонію 650 мкмоль/л)
- 5) Калібратор – калібрувальний розчин фосфору – 1,62ммоль/л.

Приготування робочих розчинів

Реактив та калібрувальний розчин готові до використання, стійкі

Досліджувані зразки

Сироватка крові, плазма (як антикоагулянт необхідно використовувати тільки гепарин).

Сеча - перед аналізом сечу необхідно розвести дистильованою водою у співвідношенні 1 : 9, результат помножити на 10.

Фосфати, що містяться у мийних засобах, можуть впливати на результати дослідження, тому рекомендується мити весь скляний посуд, який використовується для аналізу, з додаванням біхромату калію та сірчаної кислоти.

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

| Відміряти у пробірку: | Варіант з використанням монореагенту | | |
|-----------------------|--------------------------------------|---------------------|---------------|
| | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
| Реактив 1 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| Досліджуваний зразок | 0,02 | - | - |
| Калібрувальний розчин | - | 0,02 | - |
| Дистильована вода | - | - | 0,02 |

Зразки ретельно перемішати та інкубувати 5 хвилин при кімнатній температурі. Виміряти оптичну щільність дослідної та калібрувальної проби проти холостої при довжині хвилі 340 нм. Забарвлення стабільне протягом 60 хвилин.

Розрахунок

Вміст фосфору у досліджуваному матеріалі розраховують по формулі:

$E_{\text{досл}}$

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{каліб}}} \times C_{\text{каліб}}$$

$E_{\text{каліб}}$

де $C_{\text{дос}}$ – концентрація фосфору у досліджуваній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

$C_{\text{каліб}}$ – концентрація фосфору в калібрувальному розчині (1,62 ммоль/л)

Клініко-діагностичне значення. Концентрація неорганічного фосфору у сироватці крові залежить від функції паращитовидних, щитовидних залоз, обміну вітаміну D та функції нирок. Гіперфосфатемія зустрічається при нирковій недостатності, гіпаратиреоїдизмі, акромегалії, цукровому діабеті, кетозі, прийомі великих доз вітаміну D, ультрафіолетовому опроміненні. Гіперфосфатемія при нефритах та нефротичному симптомокомплексі на рівні 3,23 – 6,46 ммоль/л є одним з несприятливих ознак. Збільшення вмісту фосфатів спостерігається при токсикозах вагітних. Гіперфосфатемія притаманна періоду заживання переломів кісток. М'язовароботасупроводжується підвищенням вмісту неорганічного фосфору в результаті розпаду органічних фосфорних сполук.

Гіпофосфатемія у дитячому віці спостерігається при рахіті. Важливо відзначити, що зниження рівня неорганічного фосфору в сироватці крові відмічається на ранніх стадіях рахіту, коли клінічні симптоми ще недостатньо виражені. Гіпофосфатемія при рахіті може перейти в гіперфосфатемію, що нерідко супроводжується явищами спазмофілії. Зниження вмісту неорганічного фосфору спостерігається при остеомалаяції, пелагрі, тривалому лікуванні інсуліном та хлористим кальцієм. Нерідко гіпофосфатемія спостерігається у

новонароджених, при гіперпаратиреоїдизмі, мікседемі. Гіпофосфатемія може носити також аліментарне походження внаслідок вживання їжі, бідної на фосфати та порушення всмоктування фосфатів у кишечнику.

Для діагностики різних патологічних станів важливе значення має встановлення кількісного співвідношення між вмістом кальцію та неорганічного фосфору у крові. При рахіті кількість фосфору, що виділяється сечею, збільшується у 2 – 10 разів у порівнянні з нормою. Підвищення виділення неорганічних фосфатів з сечею відмічається при розпаді клітин у хворих лейкозами, гіпертиреозом, діабетом, менінгітом та іншими захворюваннями, а зниження - при туберкульозі, лихоманках, гострій атрофії печінки, недостатній функції нирок, акромегалії.

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | Абсолютне значення, ммоль/л |
|----------|-------------|----------------------|--------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Висновок:

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Яка біологічна роль кальцію в організмі?
 - А. Структурний елемент кісткової тканини
 - В. Плазменний фактор згортання крові
 - С. Активатор ферментативних процесів
 - Д. Регулятор збуджуваності та провідності нервово-м'язових волокон
 - Е. Всі відповіді правильні
2. Які гормони регулюють обмін кальцію?

- A. Інсулін
- B. Глюкагон
- C. Тироксин
- D. Паратирин, кальцитонін
- E. Глюкокортикоїди

3. Вкажіть нормальну концентрацію загального кальцію в плазмі крові:

- A. 1,25 – 1,9 ммоль/л
- B. 2,0 – 2,3 ммоль/л
- C. 2,3 – 2,7 ммоль/л
- D. 2,5 – 3,0 ммоль/л
- E. 3,0 – 4,0 ммоль/л

4. Що викликає гіпокальціємія?

- A. Спазм м'язів, підвищення нервово-м'язової збудженості, судоми
- B. Гіпотонію, шлуночкові аритмії
- C. Ентерити
- D. Поліурію
- E. Всі відповіді правильні

5. Для якого захворювання характерне зниження рівня кальцію, неорганічного фосфору, підвищення коефіцієнту Ca/P, підвищення активності лужної фосфатази?

- A. Гіперпаратиреоз
- B. Остеома
- C. Остеопороз
- D. Рахіт
- E. Артроз

6. При яких захворюваннях зустрічається гіперкальціємія?

- A. Лейкозі, гангрені, перитоніті
- B. Аддисоновій хворобі
- C. Синдромі Іценко-Кушинга
- D. Гіпервітамінозі вітаміну Д
- E. Всі відповіді правильні

7. Вкажіть, в яких процесах в організмі бере участь фосфор:

- A. Окостеніння
- B. Енергетичних
- C. Активує фосфорилювання вуглеводів, вітамінів
- D. Підтримує КЛС, входячи в буферні системи крові і тканин
- E. Всі відповіді правильні

8. Що сприяє всмоктуванню фосфору у кишечнику?

- A. Підвищення концентрації фосфору в кишечнику
- B. Активність лужної фосфатази
- C. Концентрації кальцію та натрію
- D. Вітаміну Д
- E. Всі відповіді правильні

9. Які гормони регулюють обмін фосфору?

- A. Альдостерон
- B. Інсулін, глюкагон
- C. Паратирин, кальцитонін
- D. Тироксин
- E. Всі відповіді правильні

10. Вкажіть концентрацію неорганічного фосфору в плазмі крові у нормальних умовах

- A. 0,5 – 0,9 ммоль/л
- B. 1,0 – 1,5 ммоль/л у дорослих
- C. 2,0 – 2,3 ммоль/л у дітей
- D. 2,5 – 3,0 ммоль/л
- E. 2,8 – 3,2 ммоль/л

5. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 62)

Заняття №24

ТЕМА: Визначення хлоридів та заліза у біологічних рідинах

МЕТА: Встановити клініко-діагностичне значення та методи визначення хлоридів та заліза в організмі людини

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

1. Загальний вміст та розподіл іонів хлору та заліза в організмі
2. Біологічна роль та добова потреба хлору та заліза в організмі
3. Патології обміну іонів хлору та заліза:
 - a. Гіпер- та гіпохлорплазмія
 - b. Гіпосидероз та гіперзаліземія
4. Гормональна регуляція рівня хлору в організмі
5. Методи визначення хлору та заліза в біологічних рідинах

Теми рефератів:

1. *Порушення обміну хлорид-іонів*
2. *Залізодефіцитна анемія*

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 24

Дата

1. Фотометричне визначення хлоридів у біологічних рідинах

Принцип методу: Хлорид-іон у сильно кислому середовищі визволяє з роданіду ртуті (II) іон роданіду, що реагує з іонами заліза (III) з утворенням забарвленого продукту. Інтенсивність забарвлення роданіду заліза, що утворився, пропорційна концентрації іонів хлору в пробі

Лінійність методу: 20 – 160 ммоль/л

Нормальні значення: сироватка крові: 98 – 107 ммоль/л

Цільна кров: 77 – 87 ммоль/л

Спинномозкова рідина: 118 – 132 ммоль/л

Добова сеча: 40 – 250 ммоль/добу

Обладнання і реagenти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 450 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5 мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,02 і 2 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Фізіологічний розчин
- 5) Робочий реагент
- 6) Холостий реагент
- 7) Стандартний розчин хлориду (100 ммоль/л)

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

| Відміряти у пробірці: | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
|------------------------|----------------|---------------------|---------------|
| Робочий реагент | 2,0 мл | 2,0 мл | -- |
| Досліджуваний матеріал | 0,02 мл | -- | 0,02 мл |
| Стандартний розчин | -- | 0,02 мл | -- |
| Холостий реагент | -- | -- | 2,0 мл |

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 10 хвилин. Виміряти оптичну щільність дослідної ($E_{\text{дос}}$) і стандартної ($E_{\text{каліб}}$) проб проти холостої проби при довжині хвилі 450 нм. Забарвлення розчину стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Вміст хлоридів у досліджуваному матеріалі розраховують за стандартом по формулі:

$E_{\text{дос}}$

$$C_{\text{дос}} \text{ (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{45\text{г}}$$

$E_{\text{ст}}$

де $C_{\text{дос}}$ – концентрація хлоридів у досліджуваній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{ст}}$ – оптична щільність стандартної проби;

$C_{\text{ст}}$ – концентрація хлоридів в стандартному розчині, ммоль/л

Для визначення хлоридів у сечі зразок розводять у 2 рази бідистильованою або деіонізованою водою і додають краплю азотної кислоти до кислого рН. Отриманий результат помножують на 2 (коефіцієнт розведення). Термін збереження зразка – 1 тиждень при температурі від +4 до +8°C. Для розрахунку кількості хлоридів у добовій сечі отримане значення множать на об'єм добової сечі, виражений у літрах (для одержання ммоль/добу)

Примітки

1. Робочий та холостий реактиви містять розчинні солі ртуті – отруйні речовини. При роботі з набором необхідно використовувати рукавички. При потраплянні реактивів на шкіру та в очі необхідно вимити забруднені ділянки водою. При випадковому прийомі всередину негайно випити білок з яйця, молоко або 2% розчин бікарбонату натрію та викликати блювоту. У всіх випадках необхідно надати медичну допомогу.
2. Якщо концентрація хлоридів у зразку перевищує 160 ммоль/л, його розводять у співвідношенні 1:1 дистильованою водою. Повторюють аналіз та результат множать на 2.
3. При концентрації хлоридів у досліджуваному матеріалі нижче 25 ммоль/л, об'єм зразка, що додається у дослідну та холосту проби, збільшують удвічі, калібрувальна проба ставиться відповідно таблиці 1. отриманий результат множать на 0,505.

4. Кювети та лабораторний посуд, що використовуються для аналізу, повинні бути бездоганно чистими, призначеними винятково для дослідження хлоридів. Мити посуд рекомендується хромовою сумішшю або 10% розчином азотної кислоти (залишати в них посуд на ніч), потім ретельно промити дистильованою водою і нарешті деіонізованою (або бідистильованою) водою та висушити.
5. Медикаментозні субстанції, що підвищують рівень хлоридів у крові: ацетазоламід, андрогени, діазоксид, естрогени, гуанетидин, метилдопа, оксифенбутазон, фенілбутазон, триамтерен.
6. Медикаментозні субстанції, що знижують рівень хлоридів у крові: бікарбонати, карбеноксолон, кортикотропін, діуретики, проносні засоби, теофілін.
7. При визначенні хлоридів інтерферують броміди, йодиди і речовини, що утворюють стійкі комплекси з залізом (III), наприклад, ацетилсаліцилова і саліцилова кислота, їх похідні.
8. У випадку збереження набору при низькій температурі в робочому реагенті з'являється осад (помутніння), яке після нагрівання до температури + 25⁰С і енергійного струшування розчиняється (не нагрівати до більш високих температур)

Клініко-діагностичне значення. Хлорид-іон головний позаклітинний аніон. Гіпохлоремія розвивається при зменшенні рівня хлоридів нижче 95 ммоль/л. вона відмічається при формах дегідратації, що пов'язані з надмірним потовиділенням, частими проносами, тривалим блюванням, нефритах з втратою солей, нирковому діабеті. Гіпохлоремію викликають також наднирковий криз, метаболічний та респіраторний ацидоз, травма голови, формування набряків і ексудатів, пневмонія, інфекційні захворювання, отруєння сулемою. Відносна гіпохлоремія розвивається при водяній інтоксикації та інших станах, що супроводжуються збільшенням об'єму позаклітинної рідини, синдромі неадекватної, підвищеної секреції антидіуретичного гормону.

Гіперхлоремія виникає при концентрації хлорид-іонів у плазмі вище 105 ммоль/л та тісно пов'язана з гіпернатріємією. Вона спостерігається при зневодненні, яке виникло внаслідок недостатнього потрапляння рідини в організм, порушенні депураційної здатності нирок у хворих нефритами, нефротичним синдромом, нефросклерозом, нирковому каналцевому ацидозі,

гострій нирковій недостатності, нецукровому діабеті, респіраторному алкалозі, інтоксикації саліцилатами, гіпофункції кори наднирників, пошкодженні гіпоталамусу при травмах голови, декомпенсації серцевої діяльності.

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | Абсолютне значення, ммоль/л |
|-------|----------|-------------------|-----------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Висновок:

2. Визначення концентрації заліза та загальної залізов'язуючої здатності сироватки крові

Обладнання і реанти:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) здовжиною хвилі 562 нм та довжиною оптичного шляху 10 або 5мм
- 2) Центрифуга для пробірок
- 3) Автоматичні або скляні піпетки на 0,1, 1,0 та 5,0 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Фізіологічний розчин
- 6) Буферний розчин
- 7) Розчин феррозину (20 г/л)
- 8) Стандартний розчин заліза (20 мкмоль/л)
- 9) Насичуючий розчин заліза
- 10) Сорбент (лужний карбонат магнію)

Зразки для аналізу

Сироватка або гепаринізована плазма

Не застосовувати ЕДТА, оксалатну та цитратну плазму. Не використовувати для аналізу мутну (ліпемічну) чи гемолітичну сироватки – можливо отримання завищених результатів. Концентрація заліза стабільна протягом 4 діб при кімнатній температурі.

Приготування робочих розчинів

Розчини готові та придатні до використання після відкупорювання флаконів протягом місяця при зберіганні від +2 до +8⁰С.

Визначення концентрації заліза в сироватці крові

Принцип методу: залізо звільняється з залізов'язуючих пептидів сироватки крові та відновлюється завдяки дії гуанідинута гідроксиламіну. Феррозин дає з іонами заліза Fe⁺² комплекс фіолетового кольору. Оптична щільність дослідного розчину пропорційна концентрації заліза в пробі.

Лінійність методу: 4 – 200 мкмоль/л

Нормальні значення: сироватка крові

Чоловіки – 9,5 – 29,9 мкмоль/л

Жінки – 8,8 – 27,0 мкмоль/л

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 1.

Таблиця 1

| Відміряти у пробірці: | Дослідна проба | Калібрувальна проба | Холоста проба |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|---------------|
| Буферний розчин | 2,0 мл | 2,0 мл | 2,0 мл |
| Сироватка крові | 0,5 мл | | |
| Стандартний розчин | | 0,5 мл | |
| Деіонізована вода | | | 0,5 мл |
| Витримати 5 – 10 хв. при кімнатній температурі, виміряти оптичну щільність дослідної (E _{досл}) і калібрувальної (E _{каліб}) проб проти холостої проби при довжині хвилі 562 нм. | | | |
| Розчин феррозину | 0,04 мл | 0,04 мл | 0,04 мл |

Ретельно перемішати вміст пробірок та інкубувати при температурі 25⁰С протягом 15 – 20 хвилин. Виміряти оптичну щільність дослідної (E_{дос2}) і стандартної (E_{каліб2}) проб проти холостої проби при довжині хвилі 562 нм. Забарвлення розчину стабільне протягом 30 хвилин.

Розрахунок

Вміст заліза у досліджуваному матеріалі розраховують за стандартом по формулі:

$$E_{\text{дос2}} - E_{\text{дос1}}$$

$$C_{\text{дос}} \text{ (мкмоль/л)} = \frac{\dots}{\dots} \times C_{\text{каліб}}$$

$$E_{\text{каліб2}} - E_{\text{каліб1}}$$

де C_{дос} – концентрація заліза у досліджуваній пробі, мкмоль/л;

E_{дос1}, E_{дос2} – оптична щільність дослідної проби;

E_{каліб1}, E_{каліб2} – оптична щільність стандартної проби;

C_{каліб} – концентрація заліза в стандартному розчині, мкмоль/л

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | | Абсолютне значення, мкмоль/л |
|-------|----------|-------------------|-----|------------------------------|
| | | E 1 | E 2 | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Висновок:

Визначення загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові

Принцип методу: Трансферин в непатологічних сироватках зв'язує іони заліза до 1/3 свого об'єму. Для насичення трансферину сироватку обробляють надлишковою кількістю іонів заліза Fe^{+3} . Від незв'язаних іонів заліза розчин звільняють за допомогою карбонату магнію. Визначаючи концентрацію заліза в насиченій сироватці, знаходять її загальну залізовв'язуючу здатність (ЗЗЗЗ). Різниця між ЗЗЗЗ та залізом сироватки крові – це ненасичена залізовв'язуюча здатність (НЗЗЗ).

$$ЗЗЗЗ = \text{концентрація заліза у сироватці} + НЗЗЗ$$

Нормальні значення ЗЗЗЗ: 44,8 – 76,1 мкмоль/л

НЗЗЗ: 32 – 46 мкмоль/л

Насичення трансферину: чоловіки – 20 – 50%

жінки – 15 – 50%

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці 2.

Таблиця 2

| Відміряти у пробірку: | Дослідна проба |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Насичуючий розчин заліза | 1,0 мл |
| Сироватка крові | 0,5 мл |
| Перемішати вміст пробірок та витримати їх 5 – 6 хвилин при кімнатній температурі | |
| Сорбент | 0,1 – 0,2 г (близько 0,5 мл) |
| Витримати 5 – 10 хв. при кімнатній температурі, перемішуючи кожні 2 – 3 хв. Центрифугувати 15 хв. при 1500 об/хв. та провести визначення концентрації заліза згідно таблиці 1, використовуючи замість сироватки надосадкову рідину | |

Розрахунок

Концентрацію заліза у надосадковій рідині, знайдену згідно формули 1, необхідно помножити на коефіцієнт розведення – 3. отриманий результат означає 3333. Для розрахунку Н333 із знайденого значення 3333 вилучають концентрацію заліза в сироватці крові.

Залізо сироватки × 100

% насичення трансферину = -----

3333

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Оптична щільність | | Абсолютне значення | | |
|-------|----------|-------------------|-----|--------------------|------|-------------------------|
| | | Е 1 | Е 2 | 3333 | Н333 | % насичення трансферину |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Висновок:

Клініко-діагностичне значення. Зниження кількості заліза в організмі може бути викликане декількома факторами:

1. недостатнім надходженням з їжею, наприклад при тривалому молочно-рослинному харчуванні
2. поганим засвоєнням в шлунково-кишковому тракті (при антацидних та гіпоацидних гастритах, резекції шлунку та кишечника, профузних проносах)
3. посиленій утилізації органами та тканинами (під час вагітності, швидкому рості організму, фізичній активності)

4. втратою заліза при кровотечах, дисфункціональних метрорагіях, фіброміомах та внаслідок активації клітинних елементів системи фагоцитуючих мононуклеарів

5. тимчасовим перерозподілом заліза в організмі (при системних захворюваннях сполучної тканини – колагенозах, ревматизмі, ревматоїдному поліартриті, злоякісних новоутвореннях, хронічному гепатиті, сепсисі, уремії

Вміст заліза сироватки крові значно знижується при залізодефіцитній анемії. При цьому ЗЗЗЗ або в нормі, або дещо підвищена за рахунок компенсаторного посилення біосинтезу трансферину. НЗЗЗ різко знижена внаслідок зменшення вмісту заліза сироватки, процент насичення залізом трансферину знижений.

Висока концентрація заліза пов'язана з недостатнім використанням його органами кровотворення або при підвищеному надходженні в організм. Недостатнє використання заліза для утворення феритину спостерігається при захворюваннях печінки – хронічному гепатиті та при всіх типах жовтяниць. Надлишок заліза в таких випадках накопичується у паренхіматозних клітинах у вигляді гемосидерину. Відкладання заліза у печінці призводить до цирозу, у підшлунковій залозі – до цукрового діабету, у шкірі – до пігментації. Збільшення вмісту заліза у сироватці крові одночасно з зниженням ЗЗЗЗ і НЗЗЗ характерне для перцинозної, апластичної та гемолітичної анемії, повторних трансфузіях, таласемії, дефіциті вітаміну В₁₂, надлишкової терапії препаратами заліза.

Перед лабораторним дослідженням на вміст заліза сироватки крові пацієнт не повинен приймати препарати заліза протягом 5 діб, інакше будуть отримані завищені результати.

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть місце переважного розподілу іонів хлору в організмі

- A. Позаклітинно
- B. Внутрішньоклітинно
- C. М'язова тканина
- D. Клітини шкіри та сухожилля
- E. Кісткова тканина

2. Яка біологічна роль іонів хлору?

- A. Визначає осмотичний тиск у позаклітинній рідині
- B. Бере участь у підтримці КЛС і газообмінній функції еритроцитів
- C. Має знешкоджуючу дію
- D. Бере участь у синтезі соляної кислоти, активує амілазу
- E. Всі відповіді правильні

3. Вкажіть нормальну концентрацію іонів хлору в плазмі:

- A. 50 – 90 ммоль/л
- B. 95 – 110 ммоль/л
- C. 150 – 200 ммоль/л
- D. 45 – 54 ммоль/л
- E. 55 – 105 ммоль/л

4. При яких станах і захворюваннях спостерігається гіперхлоремія?

- A. Метаболічному ацидозі ниркового генезу
- B. набряках, трансудатах
- C. Серцево-судинній недостатності
- D. Гіпертонічній хворобі
- E. Всі відповіді правильні

5. При яких станах і захворюваннях спостерігається гіпохлоремія?

- A. Недостатньому надходженні з їжею
- B. При захворюваннях ШКТ, що супроводжуються блювотою
- C. Підвищеному потовиділенні
- D. Нирковому діабеті
- E. Всі відповіді вірні

6. Які з перекислених речовин відносяться до клітинних сполук заліза?

- A. Гемоглобін, міоглобін
- B. Цитохроми, міоглобін
- C. Ксантинооксидаза, сукцинат-ДГ, ацетил-КоАДГ
- D. Ферити, гемосидерин
- E. Всі відповіді вірні

7. Які з перелічених клітинних сполук заліза є гемопротеїнами?

- A. Феритин
- B. Гемосидерин

- C. Гемоглобін, міоглобін, цитохроми, каталаза
 - D. Ксантиноксидаза
 - E. Сукцинатдегідрогеназа
8. Які з перелічених речовин відносяться до позаклітинних сполук заліза?
- A. Гемоглобін, міоглобін
 - B. Ферити
 - C. Гемосидерин
 - D. Залізовмісні ферменти
 - E. Трансферин
9. Вкажіть, яка нормальна концентрація сироваткового заліза у дорослого:
- A. 7,0 – 17,9 мкмоль/л
 - B. 8,9 – 21,5 мкмоль/л
 - C. 10,8 – 28,8 мкмоль/л
 - D. 29,0 – 35,0 мкмоль/л
 - E. 20,0 – 44,5 мкмоль/л
10. Як змінюється концентрація сироваткового заліза при залізодефіцитних анеміях?
- A. Підвищується
 - B. Не змінюється
 - C. Знижується
 - D. Підвищується, а потім знижується
 - E. Різко знижується, потім зростає

5. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 62)

Заняття №25

ТЕМА: Дослідження системи згортання крові

МЕТА: На основі знань про гемостаз визначити основні види порушень та лабораторні методи дослідження згортальної та протизгортальної системи крові

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

1. Загальна характеристика системи гемостазу
2. Характеристика судинно-тромбоцитарного гемостазу
3. Коагуляційний гемостаз
4. Система фібринолізу
5. Основні лабораторні тести, що характеризують систему гемостазу
6. Правила підготовки досліджуваних зразків та лабораторного посуду

Теми рефератів:

1. *Лабораторна діагностика системи фібринолізу*
2. *Міжнародне нормалізоване відношення*

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 25

Дата

1. Визначення протромбінового часу та проценту протромбіну за Квіком

Принцип методу: при додаванні до цитратної плазми надлишку тканинного тромбoplastину та іонів кальцію час утворення згустку фібрину залежить лише від активності факторів зовнішнього та загального шляху коагуляції – I, II, V, VII та X.

Нормальні значення: протромбіновий час – 14 – 18 сек

протромбіновий індекс за Квіком – 70 – 130%

міжнародне нормалізоване відношення – 0,8 – 1,2

Обладнання і реagenти:

- 1) Водяний термостат з підтриманням температури $+37^{\circ}\text{C}$ або коагулометр
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,1 і 0,2 мл
- 3) Плазма крові
- 4) Тромбопластин, стандартизований за міжнародним індексом чутливості
- 5) 0,025 М розчин кальцію хлориду

Приготування реактивів

У флакон з ліофілізованим тромбопластином додати 2,5 мл дистильованої води та розчинити вміст при перемішуванні. До вмісту флакону додати 2,5 мл розчину кальцію хлориду 0,025 М. Перед проведенням аналізу отриману тромбопластин-кальцієву суміш нагріти до $+37^{\circ}\text{C}$ протягом 30 хвилин. Стабільність отриманого реагенту 5 діб при зберіганні у холодильнику.

Отримання плазми для аналізу

Венозну кров взяти у пластикову пробірку на 3,8% цитрат натрію у співвідношенні 9:1, центрифугувати 7 хвилин при 1000 об/хв. Плазму перенести в іншу пробірку на повторно центрифугувати 15 хвилин при 3000 об/хв. Після центрифугування негайно перенести отриману плазму у пластикову пробірку, зберігати при кімнатній температурі не більше 4 годин. Зберігання зразків при $+2$ $+8^{\circ}\text{C}$ не допускається через холодову активацію VII фактору. Для отримання плазми, бідної на тромбоцити, однократне центрифугування крові 15 хвилин при 3000 об/хв

Проведення аналізу

| Внести у кювету аналізатору | Об'єм реагенту |
|-------------------------------------------------------|-----------------------|
| Досліджувана плазма | 50 мкл |
| Інкубувати 1 хв при температурі $+37^{\circ}\text{C}$ | |
| Тромбопластин-кальцієва суміш | 100 мкл |
| Зафіксувати час згортання у секундах на коагулометрі | |

Клініко-діагностичне значення. Протромбіновий час – скринінговий тест, що широко використовується для оцінки зовнішнього каскаду згортання плазми.

Скорочення протромбінового часу спостерігається при активації зовнішнього механізму згортання, на останніх тижнях вагітності, прийомі пероральних контрацептивів, лікуванні концентратами факторів протромбінового комплексу. Протромбіновий час подовжується при дефіциті або аномалії факторів протромбінового комплексу, хворобі печінки та жовчовивідної системи, у випадку використання антикоагулянтів непрямої дії, лікуванні не фракціонованим гепарином, ДВС-синдромі.

Протромбіновий індекс дозволяє визначити активність протромбінового комплексу плазми крові пацієнта у порівнянні з визначеним протромбіновим часом контрольної плазми.

Заповнити таблицю

| № п/п | № зразка | Протромбіновий час, сек | Протромбіновий індекс, % |
|-------|----------|-------------------------|--------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Висновок:

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які групи факторів згортання крові виділені відповідно до міжнародної класифікації компонентів гемостазу?
 - A. Тромбоцитарні, еритроцитарні,
 - B. Лейкоцитарні
 - C. Фактори плазми крові
 - D. Тканинні

Е. Всі відповіді правильні

2. У якому органі, переважно, здійснюється синтез факторів згортання плазми крові?

А. Кістковий мозок

В. Печінка

С. Нирки

Д. Селезінка

Е. Всі відповіді правильні

3. Які фактори згортання крові, що містяться в плазмі крові, відносяться до кінінової системи?

А. Фібриноген, тромбостенін

В. Тромбін

С. Тромбопластин

Д. Прекаликреїн, кініноген

Е. Всі відповіді правильні

4. Який механізм є пусковим у процесі згортання крові?

А. Активація фактора Флетчера

В. Активація фактора Хагемана (контакту)

С. Активація антигемофільного глобуліну А

Д. Активація проакцелерину

Е. Активація проконвертину

5. Які компоненти гемостазу є вітамін-К залежними факторами?

А. Тромбопластин

В. Проконвертин, протромбін, фактор Стюарта-Прауера

С. Прекаликреїн

Д. Кініноген

Е. Всі відповіді правильні

6. Який із перелічених лабораторних показників указує на наявність запального процесу?

А. Збільшення вмісту фібриногену

В. Зниження вмісту фібриногену

С. Збільшення концентрації іонів кальцію

- D. Зниження концентрації іонів кальцію
 - E. Збільшення концентрації фібринази
7. Що таке протромбіназа?
- A. Комплекс проконвертину та кальцію
 - B. Комплекс акцелерину і тромбопластину
 - C. Комплекс акцелерину, тромбопластину, кальцію, фактора Стюарта-Прауера
 - D. Тромбопластин
 - E. Всі відповіді правильні
8. Які компоненти гемостазу необхідні для здійснення ретракції кров'яного згустка?
- A. Протромбін, гепарин
 - B. Протромбіназа, тромбін
 - C. Калікреїн, кініноген
 - D. Тромбостенін, кальцій
 - E. Гепарин
9. Під час якої фази згортання крові здійснюється контактна калікреїн-каскадна активація?
- A. Утворення протромбінази
 - B. Утворення тромбіну
 - C. Утворення фібрину
 - D. Посткоагуляційна фаза
 - E. Всі відповіді правильні
10. Що є джерелом фосфоліпиду при формуванні протромбінази по внутрішньому механізмі?
- A. Судинна стінка
 - B. Плазма
 - C. Формені елементи крові
 - D. Білки плазми
 - E. Фібриноген

5. ЛІТЕРАТУРА (див. на стор. 62)

ЗАНЯТТЯ №26

1. ТЕМА: Підсумкове заняття з модулю 3

2. МЕТА: Узагальнити знання про роль гормонів в організмі людини, водно-електролітний обмін та систему гемостазу

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

3.1 Теоретичні питання до заняття

1. Загальна характеристика та роль гормонів в організмі людини
2. Значення білково-пептидних гормонів та їхня класифікація
3. Механізм дії та органи-мішені білково-пептидних гормонів
4. Пептидні гормони
5. Гормони – похідні амінокислот
6. Порушення функцій гіпоталамо-гіпофізарної системи
7. Порушення функцій щитовидної залози
8. Лабораторна діагностика цукрового діабету
9. Особливості структури та синтезу стероїдних гормонів
10. Класифікація стероїдних гормонів
11. Основні механізми дії стероїдних гормонів
12. Порушення обміну стероїдів
13. Лабораторні методи визначення рівня гормонів в організмі людини
14. Порушення функцій кори надниркових залоз
15. Порушення функцій мозкового шару надниркових залоз
16. Порушення функцій статевих залоз
17. Загальний вміст та розподіл катіонів натрію та калію в організмі
18. Біологічна роль та добова потреба натрію та калію в організмі
19. Порушення обміну катіонів натрію та калію
 - a. гіпер- та гіпонатріємія
 - b. гіпер- та гіпокаліємія
20. Гормональна регуляція рівня натрію та калію в організмі людини
21. Методи визначення натрію та калію в біологічних рідинах
22. Загальний вміст та розподіл катіонів фосфору та кальцію в організмі
23. Біологічна роль та добова потреба фосфору та кальцію в організмі

24. Патології обміну катіонів фосфору та кальцію:
 - a. Гіпер- та гіпокальциємія
 - b. Гіпер- та гіпофосфатемія
25. Гормональна регуляція рівня фосфору та кальцію в організмі (паратгормон, кальцитонін, кальцитріол)
26. Методи визначення фосфору та кальцію у біологічних рідинах
27. Загальний вміст та розподіл іонів хлору та заліза в організмі
28. Біологічна роль та добова потреба хлору та заліза в організмі
29. Патології обміну іонів хлору та заліза:
 - a. Гіпер- та гіпохлорплазмія
 - b. Гіпосидероз та гіперзаліземія
30. Гормональна регуляція рівня хлору в організмі
31. Методи визначення хлору та заліза в біологічних рідинах
32. Загальна характеристика системи гемостазу
33. Характеристика судинно-тромбоцитарного гемостазу
34. Коагуляційний гемостаз
35. Система фібринолізу
36. Основні лабораторні тести, що характеризують систему гемостазу
37. Правила підготовки досліджуваних зразків та лабораторного посуду

ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Вороніна Л.М. Клінічна біохімія. – Харків: Основа, 2005.
2. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч.3: Клиническая биохимия / Под ред. проф. М.А.Базарновой, проф. В.Т.Морозовой – К.: Вища школа. Головное изд-во, 1986. – 279 с.
3. Вороніна Л.М. Біологічна хімія. – Харків: Основа, 2000. – 608 с.
4. Губський Ю.І. Біологічна хімія. – Київ – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
5. Клиническая оценка лабораторных тестов: перевод с англ./ Под редакцией Н.У. Тица. – М.: Медицина, 1986. – 480 с.

Додаткова:

1. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической биохимии. – Минск: Беларусь – 1982. – 367 с.
2. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Биохимические анализы в клинике. Справочник. – М.: Мед.информ.агентство. – 1998. – 302 с.
3. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина. – 1987. – 437 с.
4. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. Перевод с англ. – СПб.: Изд-во БИОНОМ «Невский диалект». – 2000. – 368 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
6. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – М.: Медицина, 2002. – 544 с.
7. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АЛЛ «Джангар», 1998. – 250 с.
8. Бышевский А.Ш. Биохимия для врача. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. – 384 с.
9. Клиническая биохимия /Под редакцией В.А. Ткачука. – 2-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 512 с.

План самостійної роботи студентів
з модулю 3 «Біохімія ендокринної системи, водно-електролітний
обмін та система гемостазу»

| № з/п | <i>Завдання</i> | Кількість годин СРС |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 1 | Визначення активності ферментів, які найчастіше застосовують в діагностиці | 3 |
| 2 | Водно-мінеральний обмін у нормі і патології. | 3 |
| 3 | Екзо- і ендогенна вода. Обмін води в організмі | 2 |
| 4 | Регуляція водно-мінерального обміну | 2 |
| 5 | Гіпо- і гіпергідратація (екстра- і інтрацелюлярні) | 2 |
| 6 | Обмін калію, натрію, кальцію, хлору, фосфору, магнію. Функції вказаних елементів | 3 |
| 7 | Клініко-біохімічна діагностика порушень водно-мінерального обміну. Методи дослідження | 3 |
| 8 | Патологія обміну мікроелементів | 2 |
| 9 | Поняття про біогеохімічні провінції | 3 |
| 10 | <i>Підготовка до підсумкового контролю засвоєння модуля</i> | 3 |
| Всього | | 26 |

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

**ПО ПРОВЕДЕННЮ ПЕРЕДДИПЛОМНОЇ
ПРАКТИКИ З КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ**

1. ОСНОВНІ ОРГАНІЗАЦІЙНІ ЗАХОДИ

Переддипломна практика з клінічної біохімії студентів IV курсу медичного факультету зі спеціальності “Лабораторна діагностика” проводиться після зимової екзаменаційної сесії протягом 2 тижнів на базі клініко-діагностичної лабораторії навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка».

Тривалість робочого дня – 6 годин (при 5-денному робочому тижні).

Вихідні дні – субота, неділя.

2. МЕТА ТА ЗАВДАННЯ ПРАКТИКИ

Мета проведення переддипломної практики полягає у формуванні, закріпленні та актуалізації у студентів, на посаді бакалавра-лаборанта, вмінь та навичок проведення лабораторних робіт у клініко-діагностичній та біохімічній лабораторіях лікувально-профілактичних установв межах цілей, визначених у освітньо-професійній програмі підготовки фахівця за спеціальністю 6.120102 “Лабораторна діагностика”.

Завданням практики є закріплення професійних навичок і умінь майбутнього спеціаліста згідно з кваліфікаційною характеристикою, поглиблення і систематизація знань, засвоєння сучасних методів лабораторних досліджень, відпрацювання та вдосконалення техніки виконання лабораторних досліджень, інтерпретація лабораторних даних при різних нозологічних одиницях та невідкладних станах, відповідно до стандартів вищої освіти.

Після проходження **переддипломної практики** студент повинен

знати:

- принципи і норми медичної етики і деонтології;
- основи медичної термінології;
- особливості в обладнанні робочого місця для різних біохімічних досліджень;
- правила техніки безпеки та протипожежної безпеки, особистої гігієни, асептики та антисептики;
- принципи санітарно-протиепідемічного режиму в лабораторії;

- особливості приготування реактивів, миття лабораторного посуду, стерилізації, дезінфекції;
 - правила знешкодження відпрацьованого матеріалу
 - найефективніші комбінації біохімічних тестів у діагностиці захворювань;
 - сучасні методи досліджень у клінічній біохімії;
 - нормальні показники лабораторних досліджень та їх зміни при патологічних процесах;
 - анатомо-фізіологічні, вікові, статеві особливості здорової і хворої людини;
 - значення клінічних лабораторних досліджень у комплексному обстеженні пацієнта;
 - причини гіпо- і гіперпротеїнемії, диспротеїнемії, парапротеїнемії;
 - значення протеїнограм в діагностиці захворювань;
 - діагностичну цінність визначення глюкози у біологічних рідинах;
 - регуляцію вуглеводного обміну;
 - проміжний обмін гемоглобіну, утворення білірубіну в печінці, пігментів калу і сечі;
 - види жовтяниць, причини їх виникнення;
 - значення загальних ліпідів, ТАГ, фосфоліпідів, холестерину;
 - роль води і мінеральних речовин в організмі, регуляцію водно-мінерального обміну;
 - біохімічні показники для диференціальної діагностики різних патологій;
- вміти:**
- обладнати робоче місце відповідно до виду біохімічних досліджень;
 - готувати реактиви, барвники, середовища, індикатори, дезінфікуючі розчини;
 - забезпечити санітарно-протиепідемічний режим в лабораторіях;
 - надавати першу медичну допомогу при нещасних випадках;
 - отримувати біологічний матеріал для визначення біохімічних показників;

- знешкодити інфекційний матеріал, володіти методами стерилізації та дезінфекції;
- мити лабораторний посуд;
- працювати з сучасним лабораторним обладнанням та апаратурою;
- володіти технікою проведення лабораторних досліджень з основних напрямків майбутньої спеціальності;
- організовувати роботу шляхом групування однотипних досліджень, виконати їх у суворій послідовності, раціонально використати свій робочий час;
- вести облікову та звітну документацію;
- аналізувати найбільш інформативні клініко-біохімічні показники для діагностики патологічних процесів, контролю за перебігом захворювання;
- трактувати біохімічні основи змін дії біологічно активних речовин – ферментів, гормонів, вітамінів при захворюваннях;
- аналізувати типові помилки при клініко-біохімічній оцінці результатів лабораторного обстеження пацієнтів.
- планувати стратегію клініко-біохімічних обстежень пацієнтів при різних захворюваннях;
- аналізувати клініко-біохімічну оцінку результатів лабораторного обстеження пацієнта при порушенні функцій органів і систем.

3. Програма переддипломної практики.

Модуль I. Основні біохімічні показники біологічних рідин в нормі та при патології

Змістовий модуль I. Основні обов'язки та професійні дії лаборанта біохімічної лабораторії.

Тема 1. Принципи організації робочого місця лаборанта біохімічної лабораторії відповідно до вибору біохімічних досліджень.

Тема 2. Миття лабораторного посуду та його стерилізація. Правила приготування розчинів та реактивів для біохімічного дослідження.

Тема 3. Визначення загального білку біуретовим методом та способи розділення білкових фракцій

Тема 4. Виявлення С-реактивного білку, ревматоїдного фактору та антистрептолізину-О методом латекс-аглютинації

Тема 5. Визначення креатиніну у сироватці крові та сечі. Методи визначення сечовини.

Тема 6. Дослідження ліпідного спектру крові за вмістом загального холестерину, холестерину ЛПВЩ, холестерину ЛПНЩ, тригліцеридів.

Тема 7. Удосконалення навичок взяття крові та визначення глюкози в капілярній крові глюкозооксидазним методом.

Тема 8. Дослідження стану гепатобіліарної системи за вмістом індикаторних ферментів – АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази.

Тема 9. Визначення активності α -амілази у сироватці крові та сечі методом Каравея. Проби на колоїдну стійкість та визначення білірубину.

Тема 10. Визначення сечової кислоти у сироватці крові та сечі

Підсумковий модульний контроль.

4. Структура переддипломної практики.

| Назви змістових модулів і тем | Кількість годин | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------|-----|------|--|--|
| | денна форма | | | | | |
| | усього | у тому числі | | | | |
| | | л | пр. | с.р. | | |
| Модуль 1. Основні біохімічні показники біологічних рідин в нормі та при патології | | | | | | |
| <i>Змістовий модуль 1. Основні обов'язки та професійні дії лаборанта біохімічної лабораторії.</i> | | | | | | |
| Тема 1. Принципи організації робочого місця лаборанта біохімічної лабораторії відповідно до вибору біохімічних досліджень. | 8 | - | 6 | 2 | | |
| Тема 2. Миття лабораторного посуду та його стерилізація. | 6 | - | 4 | 2 | | |
| Правила приготування розчинів та реактивів для біохімічного дослідження. | 4 | - | 2 | 2 | | |
| Тема 3. Визначення загального білку біуретовим методом та способи розділення білкових фракцій | 8 | - | 6 | 2 | | |
| Тема 4. Виявлення С-реактивного білку, ревматоїдного фактору та антистрептолізину-О методом латекс-аглютинації | 8 | - | 6 | 2 | | |
| Тема 5. Визначення креатиніну у сироватці крові та сечі. Методи визначення сечовини. | 8 | - | 6 | 2 | | |
| Тема 6. Дослідження ліпідного спектру крові за вмістом загального холестерину, холестерину ЛПВЩ, холестерину ЛПНЩ, тригліцеридів. | 8 | - | 6 | 2 | | |

| | | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|---|-----------|-----------|--|--|
| Тема 7. Удосконалення навичок взяття крові та визначення глюкози в капілярній крові глюкозооксидазним методом. | 8 | - | 6 | 2 | | |
| Тема 8. Дослідження стану гепатобіліарної системи за вмістом індикаторних ферментів – АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази. | 8 | - | 6 | 2 | | |
| Тема 9. Визначення активності α -амілази у сироватці крові та сечі методом Каравея. | 4 | - | 2 | 2 | | |
| Проби на колоїдну стійкість та визначення білірубіну. | 6 | - | 4 | 2 | | |
| Тема 10. Визначення сечової кислоти у сироватці крові та сечі | 6 | - | 4 | 2 | | |
| Тема 13. Підсумковий модульний контроль. | 8 | | 2 | 6 | | |
| Разом за змістовим модулем 1 | 90 | | 60 | 30 | | |
| Усього годин | 90 | | 60 | 30 | | |

5. Теми практичних занять переддипломної практики

| № з/п | Назва теми | Кількість годин |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| | Модуль 1. | |
| 1 | Основні правила роботи в біохімічній лабораторії | 6 |
| 2 | Дезинфекція біологічного матеріалу та стерилізація лабораторного посуду та інструментарію | 4 |
| | Обладнання біохімічної лабораторії та сучасні методи лабораторних досліджень | 2 |
| 3 | Білки плазми крові та методи їхнього визначення | 6 |
| 4 | Методи латексної аглютинації для якісного визначення специфічних білків | 6 |
| 5 | Залишковий азот сироватки крові та його лабораторне дослідження | 6 |
| 6 | Дослідження ліпідного спектру крові за вмістом загального холестерину, холестерину ЛПВЩ, холестерину ЛПНЩ, тригліцеридів. | 6 |
| 7 | Удосконалення навичок взяття крові та визначення глюкози в капілярній крові глюкозооксидазним методом | 6 |
| 8 | Дослідження стану гепатобіліарної системи за вмістом індикаторних ферментів – АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази. | 6 |
| 9 | Визначення активності α -амілази у сироватці крові та сечі методом Каравея. | 2 |
| | Проби на колоїдну стійкість та визначення білірубину. | 4 |
| 10 | Визначення сечової кислоти у сироватці крові та сечі | 4 |
| | Підсумковий модульний контроль | 2 |
| | УСЬОГО | 60 |

6. Самостійна робота

| № з/п | Назва теми | Кількість годин |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| | Модуль 1. | |
| 1. | Методи біохімічних досліджень, що використовуються у роботі біохімічних лабораторій | 2 |
| 2. | Паровий та хімічний методи стерилізації | 2 |
| 3. | Автоматизація біохімічних досліджень | 2 |
| 4. | Електрофоретичне розділення білкових фракцій | 2 |
| 5. | Імунотурбідиметричні методи дослідження | 2 |
| 6. | Методи визначення вільних амінокислот | 2 |
| 7. | Дисліпопротеїнемії, класифікація та лабораторна діагностика | 2 |
| 8. | Рання діагностика цукрового діабету, тести толерантності до глюкози | 2 |
| 9. | Побудова калібрувальних графіків для визначення активності ферментів | 2 |
| 10. | Лабораторна діагностика захворювань підшлункової залози | 2 |
| 11. | Патології пігментного обміну | 2 |
| 12. | Обмін пуринових та піримідинових нуклеотидів | 2 |
| 13. | Підготовка до підсумкового модульного контролю. Заповнення основної звітної документації: Щоденника переддипломної практики та підсумкового звіту. | 6 |
| | УСЬОГО | 30 |

7. Критерії оцінювання успішності студентів

Інструкція з методики оцінювання успішності студентів в умовах КМСОНП розглянута і затверджена на спільному засіданні Вчених Рад медичних та міжнародних факультетів ЗДМУ 28.04.2012р. протокол №8.

Оцінка за модуль визначається як сума оцінок поточного контролю за змістовий модуль (у балах) та оцінки підсумкового модульного контролю (у балах), яка виставляється при оцінюванні теоретичних знань та практичних навичок відповідно до переліку, визначеного програмою практики, і вирішення двох ситуаційних завдань.

Максимальна кількість балів, що присвоюється студентам при засвоєнні модуля (залікового кредиту) – 200, в тому числі за поточну діяльність (змістовий модуль) – 120 балів, за результатами модульного підсумкового контролю – 80 балів.

Поточний контроль студентів здійснюється керівником - викладачем практики від кафедри навчального закладу та керівниками переддипломної практики від бази.

Поточний контроль здійснюється відповідно до конкретних цілей на змістовому модулі. Одним із видів діяльності студента та його контролю з боку керівника практики є ведення Щоденника переддипломної практики (*Додаток №1*), який заповнюється студентом після кожного дня проходження практики та підписується керівником переддипломної практики від бази та навчального закладу.

Після закінчення змістового модуля студент заповнює Підсумковий звіт про виконану роботу (*Додаток №2*). Наявність заповненого та завіреного підписом керівників практики Щоденника та Підсумкового цифрового звіту є обов'язковим для допуску студента до підсумкового модульного контролю.

Керівники переддипломної практики аналізують роботу студентів на базі, враховуючи їх дисципліну (студент не повинен мати пропусків днів практики), якість ведення Щоденника, якість оволодіння навичками лабораторної

діагностики. Заповнення Підсумкового цифрового звіту по змістовому модулю дає можливість вірно оцінити поточну навчальну діяльність студента.

Підсумковий модульний контроль здійснюється по завершенню вивчення всіх тем модуля на останньому контрольному занятті з модуля. До підсумкового модульного контролю допускаються студенти, які виконали програму переддипломної практики, мають належно оформлені звітні документи (Щоденник і Підсумковий цифровий звіт) та отримали за поточну діяльність не менше 60 балів.

Підсумковий модульний контроль переддипломної практики студентів IV курсу передбачає стандартизований тестовий контроль теоретичних знань та практичної підготовки вирішення двох ситуаційних завдань.

Максимальна кількість балів, яку може отримати студент під час модульного контролю, становить 80, при цьому:

- стандартизований тестовий контроль - 60 балів
- ситуаційні завдання - 20 балів (по 10 балів за кожне завдання).

Підсумковий модульний контроль вважається зарахованим, якщо студент набрав не менше 50 балів.

Для оцінювання **поточної навчальної діяльності** встановлюється єдина шкала, яка визначає фіксовані значення для максимально можливої та мінімально необхідної кількості балів (110 балів, якщо поточні оцінки – «відмінно» та 60 балів, якщо поточні – «задовільно». До 110 максимальних балів можуть додаватись бали за індивідуальну роботу – не більше 10).

Бали за поточну успішність прив'язуються до середньої арифметичної оцінки за традиційною п'ятибальною системою незалежно від кількості занять в модулі.

Вимоги до відповіді:

- «5» - знання і розуміння всього програмного матеріалу в повному обсязі;
- послідовне, логічне, обґрунтоване, безпомилкове викладення матеріалу;
- вірне формулювання висновків та узагальнень;

- самостійне, впевнене і правильне застосування знань при вирішенні практичної частини
- «4» - знання та розуміння всього програмного матеріалу в цілому;
 - послідовне, логічне, обґрунтоване викладення матеріалу;
 - допущення окремих несуттєвих помилок під час відповіді;
 - правильне і без особливих труднощів застосування знань при вирішенні практичних завдань.
- «3» - знання та розуміння тільки основного програмного матеріалу в обсязі, який дозволяє застосувати наступний програмний матеріал;
 - спрощене викладення матеріалу;
 - допущення окремих суттєвих помилок під час відповіді;
 - нечітке та непослідовне застосування окремих знань під час вирішення практичних завдань.
- «2» - поверхнєве знання і розуміння основного програмного матеріалу в обсязі, який дозволяє застосувати наступний програмний матеріал;
 - непослідовне викладення матеріалу з допущенням багатьох істотних помилок;
 - невміння робити висновки та узагальнення;
 - невміння застосувати знання під час вирішення практичних завдань

Остаточна конвертація середньої арифметичної в кількість балів за КМСОНП проводиться перед підсумковим модульним контролем відповідно наступної таблиці:

| Середня арифметична оцінка за п'ятибальною шкалою | Бали ECTS | Середня арифметична оцінка за п'ятибальною шкалою | Бали ECTS |
|----------------------------------------------------------|------------------|----------------------------------------------------------|------------------|
| 4,97 - 5 | 110 | 3,97 – 4,0 | 85 |
| 4,93 – 4,96 | 109 | 3,93 – 3,96 | 84 |

| | | | |
|-------------|-----|-------------|----|
| 4,89 – 4,92 | 108 | 3,89 – 3,92 | 83 |
| 4,85 – 4,88 | 107 | 3,85 – 3,88 | 82 |
| 4,81 – 4,84 | 106 | 3,81 – 3,84 | 81 |
| 4,77 – 4,8 | 105 | 3,77 – 3,80 | 80 |
| 4,73 – 4,76 | 104 | 3,73 – 3,76 | 79 |
| 4,69 – 4,72 | 103 | 3,69 – 3,72 | 78 |
| 4,65 – 4,68 | 102 | 3,65 – 3,68 | 77 |
| 4,61 – 4,64 | 101 | 3,61 – 3,64 | 76 |
| 4,57 – 4,6 | 100 | 3,57 – 3,60 | 75 |
| 4,53 – 4,56 | 99 | 3,53 – 3,56 | 74 |
| 4,49 – 4,52 | 98 | 3,49 – 3,52 | 73 |
| 4,45 – 4,48 | 97 | 3,45 – 3,48 | 72 |
| 4,41 – 4,44 | 96 | 3,41 – 3,44 | 71 |
| 4,37 – 4,4 | 95 | 3,37 – 3,40 | 70 |
| 4,33 – 4,36 | 94 | 3,33 – 3,36 | 69 |
| 4,29 – 4,32 | 93 | 3,29 – 3,32 | 68 |
| 4,25 – 4,28 | 92 | 3,25 – 3,28 | 67 |
| 4,21 – 4,24 | 91 | 3,21 – 3,24 | 66 |
| 4,17 – 4,20 | 90 | 3,17 – 3,20 | 65 |
| 4,13 – 4,16 | 89 | 3,13 – 3,16 | 64 |
| 4,09 – 4,12 | 88 | 3,09 – 3,12 | 63 |
| 4,05 – 4,08 | 87 | 3,05 – 3,08 | 62 |
| 4,01 – 4,04 | 86 | 3,01 – 3,04 | 61 |
| | | 3,0 | 60 |

Індивідуальна робота студентів оцінюється за кожен вид роботи з урахуванням якості її виконання. Максимальна кількість балів, яка може додаватися до кількості балів поточної успішності не може перевищувати 10 балів.

Оцінка з дисципліни:

Оцінка за практику виставляється лише студентам, які виконали програму переддипломної практики, мають належно оформлені звітні документи (Щоденник і Підсумковий цифровий звіт) та отримали за поточну діяльність не менше 60 балів, а також склали підсумковий модульний контроль, набравши не менше ніж 50 балів. Оцінка за практику є сумою балів за поточну діяльність і підсумковий модульний контроль.

Максимальна кількість балів, яку може отримати студент за практику, становить 200.

Студенти, які навчаються за однією спеціальністю, з урахуванням кількості балів, набраних за практику, ранжуються за шкалою ECTS таким чином:

| Оцінка ECTS | Статистичний показник |
|-------------|------------------------|
| A | Найкращі 10% студентів |
| B | Наступні 25% студентів |
| C | Наступні 30% студентів |
| D | Наступні 25% студентів |
| E | Останні 10% студентів |

Бали за переддипломну практику для студентів, які успішно виконали програму, конвертуються у традиційну чотирибальну шкалу за абсолютними критеріями як наведено нижче у таблиці:

| Бали з дисципліни | Оцінка за чотирибальною шкалою |
|----------------------------|--------------------------------|
| Від 170 до 200 балів | 5 |
| Від 140 до 169 балів | 4 |
| Від 139 балів до 110 балів | 3 |
| Нижче 110 балів | 2 |

Шкала оцінювання: національна та ECTS

| Сума балів за всі види навчальної діяльності | Оцінка ECTS | Оцінка за національною шкалою |
|----------------------------------------------|-------------|------------------------------------------------------------|
| | | для практики |
| 170 – 200 | A | відмінно |
| 151 – 169 | B | добре |
| 140 – 150 | C | |
| 130 – 139 | D | задовільно |
| 111 – 129 | E | |
| 51 – 110 | FX | незадовільно з можливістю повторного складання |
| 0 – 50 | F | незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни |

8. Рекомендована література.

Базова

1. Клінічна біохімія. Навчальний посібник для студентів вищих фармацевтичних закладів III-IV рівнів акредитації / Тимошенко О. П., Вороніна Л. М., Кравченко В. М. та ін.; За ред. О.П.Тимошенко. Х.: Вид-во НФаУ, Золоті сторінки, 2003. - 239 с.
2. Клінічна біохімія: Підручник / Д. П.Бойків, Т. І.Бондарчук, О. Л.Іванків та ін. За ред. О. Я Склярова. – К.:Медицина, 2006. – 432 с.
3. Основи клінічної біохімії. Навчально-методичний посібник для студентів медичного факультету зі спеціальності «Лабораторна діагностика» / [Александрова К. В., Макоїд О. Б., Горбачова С. В. та ін.]; за ред. проф. К. В. Александрової. - З.:Вид-во ЗДМУ, 2011. - 333 с.
4. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А. А. Кишкун. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 800 с.
5. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч.3: Клиническая биохимия / Под ред. проф. М. А.Базарновой, проф. В. Т.Морозовой – К.: Вища школа. Головное изд-во, 1986. – 279 с.
6. Базарнова С. А., Гетте З. П. Клінічна лабораторна діагностика: практичні заняття з клінічної біохімії. - К.: Вища школа, 1994. - 432 с., іл.
7. Клиническая оценка лабораторных тестов: перевод с англ./ Под редакцией Н. У. Тица. – М.: Медицина, 1986. – 480 с.
8. Зайчик А. Ш. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения): учебник для студ. мед. вузов [3-е изд.] / А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов. – СПб, ЗЛБИ, 2007. – 768 с.
9. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
10. Комаров Ф. И., Коровкин Б. Ф., Меншиков В. В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АЛЛ "Джангар", 1998. – 250 с., ил.
11. Ошибки в лабораторной диагностике / Л. Л. Громашевска, Е. Н. Баранина, В. И. Козир и др. - К.: Здоров'я, 1990. - 264 с.

12. Клиническая биохимия / Под редакцией В. А. Ткачука. – 2-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 512 с.
13. Назаренко Г. И., Кишкун А. А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. 2-е изд., стереотипное. – М.: Медицина, 2002. – 544 с.

Допоміжна

1. Колб В. Г., Камышников В.С. Справочник по клинической биохимии. – Минск: Беларусь – 1982. – 367 с.
2. Лифшиц В. М., Сидельникова В. И. Биохимические анализы в клинике. Справочник. 2-е изд. – М.: Медицинское и информационное агентство, 2001. – 303 с.
3. Бышевский А. Ш. Биохимия для врача. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. – 384 с.
4. Зилва Дж.Ф., Пэннел П.Р. Клиническая химия в диагностике и лечении. - М.: Медицина, 1988. - 528 с.
5. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. Перевод с англ. – СПб.: Изд-во БИОНОМ «Невский диалект». – 2000. – 368 с.
6. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення / За ред. О.Я.Склярова. – К.: Здоров'я, 2004. – 192 с.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Запорізький державний медичний університет

ЩОДЕННИК

переддипломної практики з клінічної біохімії
студента(ки) 4-го курсу ІІ медичного факультету
спеціальності “Лабораторна діагностика”

(прізвище, ім'я, по батькові)

Місце практики:

(назва підприємства, адреса)

Час проходження практики:

з ___ _____ 2013р.

по ___ _____ 2013р.

Керівник виробничої практики
від університету:

Керівник виробничої практики
від клінічної біохімічної лабораторії:

МІСТО

| Дата, години роботи | Підпис студента | Зміст виконаної роботи | Підпис керівників |
|---------------------------|--------------------|------------------------|----------------------|
| | | | |

ЗВІТ

про переддипломну практику з клінічної біохімії
студента (ки) 4-го курсу ІІ медичного факультету
Запорізького державного медичного університету

Прізвище, ім'я, по батькові

Місце проходження практики

Час проходження практики:

з ____ _____ 2013 р.

по ____ _____ 2013 р.

МІСТО

| № п/п | Практичні завдання | Мінімум | Виконано |
|-------|--------------------|---------|----------|
| | | | |

Для приміток:

Для приміток: