

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет біології, географії і екології
Кафедра біології людини та імунології

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ВІТАМІНІВ НА ПАРАМЕТРИ РОСТУ
КУЛЬТУРИ IN VITRO ДЛЯ ФОРМУВАННЯ СПЕЦІАЛЬНИХ
ПОНЯТЬ У ШКІЛЬНОМУ КУРСІ БІОЛОГІЇ**

Кваліфікаційна робота (проект)

на здобуття ступеня вищої освіти “магістр”

Виконала: здобувачка 2 курсу 212- М групи

Спеціальності: 014 Середня освіта (Біологія
та здоров'я людини)

Освітньо-професійної програми:

Середня освіта (Біологія та здоров'я
людини)

Садлівська Юлія Миколаївна

Керівники: доц.,к.б.н. Шкуропат Анастасія
Вікторівна

Рецензент: вч.біології Кулініч І. І.

Херсон – 2021

ЗМІСТ

ВСТУП	3
РОЗДІЛ 1. Біологічна дія вітамінів групи В	6
1.1. Історія вивчення вітамінів.....	6
1.2. Вивчення біологічної дії вітамінів у шкільному курсі біології (основи здоров'я).....	9
1.3. Культура клітин та поживне середовище.....	25
РОЗДІЛ 2. Методика виділення органічної культури	30
2.1. Виділення органічної культури.....	30
2.2. Біохімічні показники.....	33
РОЗДІЛ 3. Результати та обговорення	36
3.1. Результати дослідження.....	36
3.2. Впровадження результатів лабораторного дослідження в шкільному курсі біології.....	38
ВИСНОВКИ	40
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	42
ДОДАТКИ	
Додаток А. Кодекс академічної доброчесності здобувача вищої освіти ХДУ.....	48

ВСТУП

Актуальність дослідження. Продукти харчування містять поживні речовини, необхідні для життя та розвитку. Ці складові інгредієнти — це білки, жири, вуглеводи, вітаміни та мінеральні речовини. Вітаміни необхідні для нормальної життєдіяльності та функціонування організму, обміну речовин як для людей так і для тварин [36].

Вони беруть участь в обміні речовин і допомагають захистити організм від інфекцій, необхідні для процесу росту, підтримки зору. Офіційні статистичні дані та результати спеціальних досліджень за останнє десятиріччя, свідчать приділяється недостатньо уваги щодо стану здоров'я і фізичного розвитку дитячого населення України.

Вважаючи на те, що останнім часом стиль харчування дітей і підлітків в Україні все більше набуває рис західної дієти, враховуючи збіднення ґрунтів і відповідно, зменшення вітамінів і мікроелементів у плодах, що на них зростають, проблема дефіциту вітамінів і мінералів у раціоні, а, отже, і в організмі дітей набуває великого розмаху.

Нестача вітамінів призводить до багатьох хвороб, зокрема захворювання печінки, яке має вагоме місце серед причин передчасної смертності. Печінка, є органом, яка в свою чергу виконує захисні, знешкоджувальні, ензиматичні і видільні функції, спрямовані на те що, бере участь у білковому, вуглеводному, жировому і мінеральному обмінах та підтримання гомеостазу в організмі, її морфологічний стан при різноманітних токсичних ураженнях завжди представляє особливий інтерес.

Клітинна культура, а саме органотипові «*in vitro*» є важливим інструментом для біологічних досліджень як окремо взятих клітинних популяцій, потрібні для вивчення в умовах збереження життєздатності ізольованих органів, а також вплив на ці процеси різних субстанцій .

Вони дозволяють вивчати життєздатність, морфологію, поведінку, функцію клітин, що мають токсичну, захисну або регуляторну дію.

Служать засобом і об'єктом у багатьох медико-біологічних дослідженнях з більшості існуючих моделей.

Тому доцільне впровадження у шкільному курсі біології такого експериментального дослідження, може сформувати в учнів вміння організації, самостійності, вмінням творчого і практичного застосування здобутих знань. У результаті виконання даного лабораторного експерименту надасть змогу школярам аналізувати отриманні результати та засвоювати нові знання.

Проте застосування такого виду лабораторних робіт та підготовка вчителів до такої діяльності не були предметом спеціальних наукових пошуків. Саме це і обумовило вибір нами теми кваліфікаційної роботи «Вивчення впливу вітамінів на параметри росту культури *in vitro* для формування спеціальних понять у шкільному курсі біології».

Зв'язок дослідження з науковими програмами, планами, темами. Кваліфікаційна робота виконана у відповідності до напрямку науково-дослідної теми кафедри біології людини та імунології Херсонського державного університету «Дослідження та змістовно-методичне забезпечення процесу навчання біології та основ здоров'я у загальноосвітніх і вищих навчальних закладах».

Метою роботи є формування спеціальних понять у шкільному курсі біології

Відповідно до теми були визначені наступні **завдання:**

1. Проаналізувати історію вивчення вітамінів
2. Відібрати матеріал щодо вивчення біологічної дії вітамінів у шкільному курсі біології (основи здоров'я).
3. Виконати виділення органічної культури їх біохімічні показники.

4. Дослідити результативність впливу вітамінів на культуру клітин «in vitro» та впровадити в шкільний курс біології.

Об'єкт дослідження: органотипові культури печінки в умовах стимуляції вітамінів

Предмет дослідження: концентрація білка у культурах клітин печінки під впливом різних вітамінів

Методи дослідження: аналіз літературних джерел, методи введення у культуру клітин, відновлення концентрації білка у біологічних рідинах

Наукова новизна і практичне значення результатів дослідження полягає в розробці, та впровадженні спеціальних понять про вплив вітамінів на параметри росту культури «in vitro» у шкільному курсі біології.

Апробація результатів дослідження та публікації. Для досягнення результатів дослідження опубліковано одну наукову статтю в збірнику матеріалів конференції.

Структура кваліфікаційної роботи: робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел і додатків

РОЗДІЛ 1

БОЛОГІЧНА ДІЯ ВІТАМІНІВ ГРУПИ В

1.1. Історія вивчення вітамінів

Засновниками дослідження харчових інгредієнтів були давньогрецький філософ Арістотель (IV ст. До н. Е.) Та давньоримський лікар К. Гален. (II століття нашої ери). Основні досягнення науки про харчування в XIX-XX столітті, такі як відкриття вітамінів та формування концепції харчового ланцюга, дозволили нам розглядати їжу як джерело відновлення споживання енергії людиною. Ці знахідки стали науковою основою класичної теорії збалансованого харчування. Він став основою сучасних концепцій харчування та основою для визначення потреби в продуктах харчування для енергії, пластмас та інших інгредієнтів [40].

Основні принципи класичної теорії збалансованого харчування були сформовані наприкінці XIX – на початку XX століття. Згідно з її правилами, життя нормальних людей має забезпечувати певний ступінь фізіологічної потреби в енергії, білках, вуглеводах, вітамінах та мінералах, враховуючи при цьому різних груп людей та їх потреби.

З відкриттям нових механізмів травлення наприкінці XX ст. вченими було сформовано теорію збалансованого харчування [45]. Згідно з її положеннями, харчовий раціон людини має містити продукти, здатні не тільки задовольняти потребу організму в енергії і харчових речовинах, а й відповідати природній асиміляції їжі [23].

З роботами багатьох дослідників відкриття вітамінів *табл. 1.1* пов'язане у XIX-XX столітті, таких як Ф. Маджанді, К. Такакі, К. Айкман і Л. К. Полінг. Вони виявили, що існують необхідні сполуки, необхідні для нормального росту їжі, а також розвиток і значення організмів [27].

Джеймс Лінд запропонував використати цитрусові для лікування й профілактики цинги і став першим, хто вивчив ефективність такого

лікування в результаті систематичних експериментів у 1747 р. Це був один з перших клінічних експериментів в історії медицини. Лінд дав докладний опис цинги та запропонував способи її лікування й запобігання («Lind's Treatise on scurvy», Edinburgh, 1753).

Існування та значення вітамінів було відкрито російським лікарем М. Луніним наприкінці XIX століття. Лікар-революціонер для свого часу Микола Іванович Лунін (1853-1937) у своїй роботі 1880 р. описав що, група тварин яка одержувала приготовлені компоненти їжі (штучно): білки, жири, вуглеводи, а також додатково мінеральні воду й солі. Але на такому раціоні тварини довго жити не могли, тому що гинули. Якщо ж у цю штучно приготовлену їжу додавалося трохи натурального молока, то залишалися здоровими [30]. Так експериментально було доведено, що у раціоні повинні бути ще якісь речовини, крім відомих п'яти компонентів їжі. «Очевидно, у природній їжі... повинні міститися у малих кількостях, крім відомих... ще і невідомі речовини, необхідні для життя», написавши вчений у своїй дисертації. Зробив висновок про існування необхідної для життя в невеликих кількостях невідомої речовини «Про значення неорганічних солей у харчуванні тварин» зробив революційний висновок вчений Росії.

Голландський лікар Христіан Ейкман (нідерл. Christiaan Eijkman 1858-1930), виявив у 1889 році, що кури страждають на авітаміноз тобто занедужують хворобою, що в перекладі означає «кайдани ніг», тобто бері-бері, коли їдять варений білий рис. Вони виліковуються, якщо додавати до їжі рисові висівки. Ейкман отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини за «внесок у відкриття вітамінів»

Таблиця 1.1

Історія вивчення вітамінів

Вчений	Рік	Відкриття
Д. Лінд	1747	Відкрита властивість цитрусових попереджувати цингу
М. Лунін	1881	Було встановлено, що організму потрібні вітаміни для життя
Х. Ейкман	1897	Доведено, що хвороба бері-бері обумовлена нестачею вітамінів
К. Функ	1912	Запропоновано назву «вітаміни»
О. В. Палладій	1944	Синтезовано аналог вітаміну К – вікасол (водорозчинний)

Дослідження вітамінів та їх фізіологічної ролі та значення у розвитку багатьох хвороб налічує історію понад 200 років [19]. За цей період часу було виявлено:

- встановлені фізико-хімічні властивості 10 вітаміноподібних і понад 15 вітамінів речовин та структури;
- в організмі їх роль у фізіологічних та метаболічних процесах та вивчено метаболізм вітамінів;
- механізми дії багатьох вітамінів розшифровані;
- про наявність вітамінів накопичені свідчення у продуктах харчування;
- вивчені їх біодоступність з різних джерел, збереження, фізіологічні потреби у вітамінах та втрати під час переробки або зберігання;
- розроблені критерії оцінки забезпечення організму, методи ідентифікації вітамінів у біологічному матеріалі;

- розроблені методи лікування та профілактики цих станів і вивчені причини гіпо-, гіпер-, авітамінозів та наслідки;
- були впроваджені у технології промислового виробництва вітамінів та збагачення ними продуктів харчування [27].

Польський хімік К.Функ називає цю біологічно активну речовину вітаміном, оскільки вона містить у своїй молекулі аміногрупу, але надалі з'ясувалося що не усі вітаміни містять у своєму складі аміногрупу. Вчений в 1911 році з оболонки рисового зерна виділив перший вітамін, який попереджав розвиток хвороби бері-бері. Назвали його тіамін – вітамін В1.

У 1912 році назву та термін «вітамін» ввів К. Функ, тобто «аміни життя» щоб представити невелику кількість додаткових факторів харчування, які ефективні у малих кількостях при лікуванні багатьох захворювань. Тоді були відокремлені лише два вітаміни-А (жиророзчинний) і В (водорозчинний), а сьогодні їх десятки [43].

Подальша робота вітамінів і їх дослідження в 1929 році пов'язана з іменами лауреатів Нобелівської премії: гігієніст Христіан Ейкман та біохімік Фредерік Гопкінс визначили причину авітамінозу тобто хвороби бері-бері; В 1934 році вчені: Джордж Уіпл, Вільям Мерфі, Джордж Майно займалися вивченням вітаміну В₁₂, Альберт Сент - Дьорді вивчав роль вітаміну С в організмі в 1937 році, а Едвард Дойзі та Генрік Дам присвятили себе (1940 р.) вивченню вітаміну В₁₂ та вітаміну К.

Та значний внесок вчені України зробили у дослідженнях вітамінів: О. В. Палладій, Р. В. Чаговець, О. Я. Шамрай, П.Г. Розанов, Я. І. Подорожний, П. Г. Томашевський, Мандрівник, та ін. [19].

1.2. Вивчення біологічної дії вітамінів у шкільному курсі біології (основи здоров'я)

Їжа тобто продукти харчування містить поживні речовини які є необхідними для життя та розвитку. Ці складові інгредієнти — це білки, жири, вуглеводи, вітаміни та мінеральні речовини. Вітаміни також потрібні для нормальної життєдіяльності та функціонування організму [34].

Вітаміни (від лат. *Vita* — «життя» + *aminus* — «азотовмісні речовини», які для життя є необхідними) — органічні речовини з різною хімічною структурою та низькою молекулярною масою. Вони є біологічними каталізаторами хімічних реакцій, що відбуваються в живих клітинах. Це необхідно для нормального і важливо функціонального організму життєдіяльності для обміну речовин [36].

Складаються ці сполуки з гідрогену, карбону, нітрогену, кисню, фосфору, сульфуру та інших хімічних елементів. Вітаміни сприяють підтримці захисту організму, підвищують його стійкість до дії різних факторів навколишнього середовища, допомагають пристосовуватися до погіршення екологічної обстановки через те, що до складу входять більше ста ферментів, що запускають величезне число реакцій [36].

Найважливішу роль вітаміни відіграють у підтримці росту дитини та імунітету. За останнє десятиріччя офіційні статистичні дані та результати спеціальних досліджень свідчать що стану здоров'я та фізичного розвитку дитячого населення України приділяється недостатньо уваги. Особливо це стосується дітей молодшого шкільного віку, що обумовлено дією комплексу як медико-біологічних, так і соціальних факторів, пов'язаних з адаптацією або дезадаптацією дитини до шкільних навантажень [44].

Вітаміни – група незамінних органічних сполук для людини та тварин. Він має високу біологічну активність і може бути отриманий у невеликих кількостях з продуктами харчування (їжею). Більшість з них потрапляє в організм людини з їжею, і лише деяка частина її синтезується мікроорганізмами в кишечнику. Вітаміни є обов'язково

важливими компонентами ферментних системи та гормонів, в тому числі включає тканинні гормони, які забезпечують нормальну діяльність нервової системи, м'язів та інших органів [38].

Вони беруть участь в обміні речовин і допомагають захистити організм від інфекцій. Якщо людському організму не вистачає вітамінів то зір, міцність кісток, кровоточивість ясен тощо – погіршаться [34].

В майже у всіх продуктах харчування містяться вітаміни, особливо у багатьох продуктах – у свіжих овочах та фруктах. Люди, особливо підлітки, також потребують мінеральних речовин для росту та розвитку кісток скелету, м'язів та кровоносної системи. Нестача кальцію і фтору вплине на міцність зубів і кісток. Якщо спостерігати, що вам не вистачає заліза, ви можете незабаром відчуєте втому. Калій і натрій допомагають підтримувати постійну кількість води в організмі. Фосфор регулює діяльність центральної нервової системи і сприяє постачанню енергії важливих процесів в організмі [34].

Саме з латинської мови, прийшов до нас термін «вітамін» – він є похідним від слова *Vita* – життя.

На перший погляд, вітаміни мають невеликий вплив та роль на організм. Вони не є частиною клітинної мембрани. Як і жири та білки, вони не забезпечують енергією, як вуглеводи. Вітаміни входять до складу ферментів, які прискорюють реакції метаболічних процесів (ця функція властива так званим водорозчинним вітамінам В, С і жиророзчинному вітаміну К) і бере участь у побудові процесів та функціональній структурі клітинних мембран і клітини.

Зокрема, вітаміни необхідні для процесу росту, підтримки нормальних кровотворних та статевих функцій, нормальних функцій нервової, серцево-судинної та травної систем, ендокринних залоз, які виробляють різні гормони, та підтримки зору та нормальних характеристик шкіри. Вітаміни також відіграють надзвичайно важливу роль у забезпеченні адекватної імунної відповіді та підтримці стійкості

впливу організму на різні інфекції, отрути, радіацію та інші несприятливі зовнішні фактори.

Молодий організм, що постійно зростає і розвивається має високі потреби у вітамінах, за неадекватного їх надходження, функціонування в організмі чи порушеного всмоктування, у дітей виникає вітамінна недостатність. Вітамінну недостатність виділяють залежно від глибини і тяжкості та є три її форми: авітаміноз, гіповітаміноз та субнормальну забезпеченість вітамінами (вона є біохімічною формою вітамінної недостатності яку ще також називають маргінальною) [20].

Основні причини вітамінної недостатності дитячого віку:

I. Недостатність (аліментарна):

1. Дефіцит вітамінів у раціонах харчування матерів і вагітних, які годують груддю, відповідно виникає нераціональне харчування, що призводить зменшення вітамінів їх рівня в молоці, в організмі новонародженого та до зниження запасів.

2. Штучне вигодовування яке є нераціональним з переважним використанням кефіру, коров'ячого молока, сумішей неадаптованих для дитячого харчування.

3. Порушення такі як якісні та кількісні в введення прикормів.

4. У добових раціонах харчування дітей (дошкільного і шкільного віку) низький вміст вітамінів є обмеженим споживанням продуктів та обумовленим нераціональним раціоном — джерел вітамінів.

5. У процесі технологічної переробки продуктів харчування призводить втрат та руйнування вітамінів, їх тривалого і неправильного зберігання та неправильної кулінарної обробки.

6. До антивітамінних факторів, які містяться в продуктах харчування саме їх дія [20].

7. У продуктах з поганою засвоюваністю з наявністю вітамінів. Порушення оптимальних співвідношень між вітамінами та іншими

нутриєнтами і розбалансування хімічного складу раціону та також між окремими вітамінами.

8. Релігійні заборони щодо низки продуктів та харчові збочення, тобто релігійні заборони у певних національних груп, щодо низки продуктів.

9. *Anorexia nervosa* (у тому числі і Анорексія).

II. Порушення, тих біотопів, що відповідають за синтез вітамінів (особливо нормального кишкового мікробіоценозу):

1. Захворювання шлунково-кишкового тракту.

2. Медикаментозна терапія яка є нераціональною.

III. Порушення обміну та засвоєння вітамінів:

1. Порушення у шлунково-кишкового тракту всмоктування вітамінів:

A) шлункові захворювання;

B) подразнення кишечника;

C) подразнення гепатобіліарної системи;

D) абсорбційна конкуренція з іншихнутриєнтів і вітамінів;

E) вроджені дефекти або незрілість транспортних і ферментних механізмів абсорбції вітамінів.

2. З їжею, в кишечнику, що надходять паразитами або патогенною кишковою мікрофлорою відбувається утилізація вітамінів [20].

3. Порушення утворення вітамінів та їх біологічно активних форм (метаболізм):

A) дефекти за спадковістю;

B) недоношеність;

C) дія інфекційних агентів і набуті захворювання.

4. З утворенням вітамінів порушення транспортних форм:

A) спадкові;

B) наслідок незрілості метаболічних процесів (недоношеність тощо);

С) вже набуті.

5. Ефекти лікарських засобів, а саме антивітамінні та інших ксенобіотиків.

IV. Організм потребує у більше вітамінів:

1. Це особливо стосується в періоди інтенсивного росту.
2. Окремі кліматичні умови.
3. Потрібність до інтенсивної фізичної навантаженні.
4. Навантаження які є високими нервовопсихічними до стресу.
5. Інтоксикація та інфекційні захворювання.
6. Несприятливі екологічні фактори та їх вплив (важкі метали, радіонукліди, пестициди та інші).
7. Захворювання залоз внутрішньої секреції та внутрішніх органів.
8. Підвищена екскреція вітамінів (захворювання нирок тощо) [20].

Виникає підвищена потреба у вітамінах при розумовому навантаженні або фізичному підсиленому. За деяких фізичних факторів та під впливом таких як: переохолодженні організму та при перегріванні, у вагітних, залежно від ряду захворювань, якщо порушено процеси всмоктування вітамінів у кишківнику – і сприяє це все розвитку у організмі гіповітамінозних станів [30].

Дія вітамінів на профілактику та лікування, яку визначають за двома факторами:

1. Ферменти, що використовуються в різних біологічних процесах в організмі, містять у складі різноманітні вітаміни.
2. Безпосередньо вітаміни можуть впливати внутрішню діяльність організму який регулює і є ще одним механізмом у залозах внутрішньої секреції [20].

Нестача вітамінів може призвести до фізичних захворювань – авітамінозу, а також до зниження імунітету та загальної сонливості. Найбільший попит на вітаміни мають молоді, добре розвинені люди.

Крім того, на кількість необхідних вітамінів впливають такі фактори:

- погодні умови навколишнього середовища,: вологість, атмосферний тиск, температура;
- інтенсивна розумова та м'язова діяльність;
- наявність певних захворювань та деяких інших факторів.

Наразі відомо і вивчено до 30 вітамінів, з яких близько 20 із них необхідні для забезпечення здоров'я людини. За характеристиками вітамінів, їх властивостей та розподілом у природних натуральних продуктах ці сполуки поділяються на кілька груп.

Всі вони поділяються на кілька груп: А, В, С, D, Е і К. Всі ці вітаміни містяться в різних продуктах харчування, але деякі з них знаходяться в дуже низьких концентраціях і можуть викликати (аналогічно дефіциту, такому як йод або селен) авітаміноз для цілих географічних районів [43].

Традиційно в залежності від розчинності у воді та жирах, вітаміни поділяють на:

- *водорозчинні*: В₁ (Тіамін), В₂ (Рибофлавін), В₃ (Нікотинамід, Нікотинова Кислота), В₄ (Аденін), В₅ (Пантотенова Кислота), В₆ (Піридоксин, Піридоксаль, Піридоксамін), В₈ (Інозитол), В₉ (Фолієва Кислота), В₁₀ (Параамінобензойна Кислота), В₁₁ (ВС) (Холін), В₁₂ (Кобаламін), С (Аскорбінова Кислота), Н (В₇) (Біотин);
- *жиророзчинні*: А (Ретинол), D₂ (Кальциферол), D₃ (Холекальциферол), Е (Бета-Каротин), К₁ (Філохінон).

Вітаміни не є джерелом енергії або пластичних матеріалів, на відміну від макронутрієнтів (вуглеводів, білків та жирів), але відіграють ключову роль у специфічних регуляторах фізіологічних та обмінних процесів. Ці регулятори лежать в основі реалізації більшості життєво

важливих вітамінів і є найважливішою функцією та балансом роботи всього організму [20].

Літери є однією з перших класифікацій вітамінів *табл. 1.2*, де літери (А, В, С, D, тощо), у якій літери надавалися вітамінам у міру їх відкриття. Вона використовується навіть і сьогодні. Вітаміни також класифікуються відповідно до їх розчинності у жирі та воді [19].

За тривіальною номенклатурою назва вітаміну містить 3 компоненти:

- символ у вигляді літери;
- хімічну назву;
- біологічну назву [27].

Водорозчинні вітаміни – група вітамінів, які розчинні у воді і можуть утворювати високоактивні комплекси з ферментами. Вони включають вітаміни групи В, а також біотин (вітамін Н) і аскорбінову кислоту (вітамін С) [34].

Крім того, вітаміни ціанокобаламіну не накопичуються в організмі, тому, засвоєваність їжі зазвичай дуже висока, їх сполуки легко обмінюються між внутрішньою та зовнішньою рідинами клітини; вони виводяться із сечею.

Водорозчинні вітаміни беруть участь в метаболізмі енергії, білка, амінокислот і нуклеїнових кислот як коферменти і служать спільним субстратом у ферментативних реакціях.

Жиророзчинні вітаміни зазвичай зберігаються в вигляді запасів у організмі, тому їх дефіцит, викликаний харчовими факторами, розвивається повільніше, ніж водорозчинними вітамінами у порівнянні. Засвоєння жиророзчинних вітамінів залежить від адекватного споживання жиру та нормального травлення та абсорбції, всмоктування. Складність нормального процесу засвоєння жиру та його можливість знищення за багатьох патологічних умов пояснюють універсальність цієї групи вітамінів та дефіциту [20].

Таблиця 1.2

Класифікація вітамінів за розчинністю. Жиророзчинні [4].

Вітаміни	Тривіальна назва	Міжнародна назва
A ₁	Аксерофтол 1	Ретинол
A ₂	Аксерофтол 2	Дигідроретинол
D ₂	Антирахітичний	Ергокальциферол
D ₃	Антирахітичний	Холекальциферол
E	Антистерильний	Токоферол, токотрієнол
K ₁	Антигеморагічний	Філлохінон
K ₂	Антигеморагічний	Менахінон
Q	Убіхінон	Убіхінон
F	Незамінні жирні кислоти	Незамінні жирні кислоти

Вітамін С – дегідроаскорбінова кислота є окисленою формою, та аскорбінова кислота основна її форма. В багатьох процесах біосинтезу вітамін С каталізує реакції гідроксилування в процесі утворення колагену включаючи гідроксилування проліну. Аскорбінова кислота є необхідною для нормального загоєння тканин та перебігу регенеративних процесів, дії отрут, підтримує адекватне кровотворення і проникність судин. Вітамін С бере участь в окисно-відновних реакціях, у процесах всмоктування заліза, обміні холестерину і гормонів кори наднирників [20].

Вітаміни групи В *табл 1.3* розчинні у воді тому називються саме водорозчинними. Основою їх високої біологічної активності є участь у побудові ферментної системи в якості коферментів як низькомолекулярних небілкових речовин, що утворюють комплекси з ферментами для прямого регулювання біохімічних реакцій [25].

Таблиця 1.3

Класифікація вітамінів за розчинністю. Водорозчинні [4].

Вітаміни	Тривіальна назва	Міжнародна назва
B ₁	Анейрин	Тіамін
B ₂	Рибофлавін	Рибофлавін
B ₄	Холін	Холін
B ₅	Пантотенова кислота	Пантотенова кислота
B ₆	Піридоксин	Піридоксаль, піридоксамін
B ₉	Фолієва кислота	Фолієва кислота
B ₁₀	Параамінобензойна кислота	Параамінобензойна кислота
B ₁₂	Протианемічний вітамін	Ціанокобаламін
C	Аскорбінова кислота	Аскорбінова кислота
H	Біотин	Біотин
PP	Антипеларгічний вітамін	Ніацин, нікотинамід, нікотинова кислота
P	Вітамін проникливості	Біофлавоноїд

Вітаміни групи В використовуються організмом для відтворення генетичної інформації між клітинами (під час їх розподілу) та для нормальної передачі електричних сигналів у нервових волокнах. Крім того, ця група вітамінів бере активну участь в обміні жирів і вуглеводів, тому вплив на організм людини різноманітний [43].

Відомо вісім видів вітамінів групи В. Важливо кожен регулярно з них поповнювати, оскільки вони не можуть накопичуватися в організмі тривалий час [26].

Вітамін B₁ (тіамін) - один з найважливіших вітамінів групи В, відіграє ключову роль в енергетичному обміні, нормалізуючи діяльність,

саме центральну нервову систему, серцево-судинну та ендокринну систему периферичну нервову системи. Вітамін В₁ входить до складу багатьох ферментів, найважливішим з яких є транскетолаза [25]. Тіамін синтезується рослинами, клітинами грибів, бактеріями. В організмі людини він не утворюється і повинен надходити з їжею. Мікрофлора ШКТ також може синтезувати вітамін [27].

Вітамін В₁ (тіамін, активна форма тіамінфосфату) необхідний, оскільки він є коферментом для фосфотрансферази. За участю вітаміну В₁ відбуваються такі реакції, як декарбоксілювання, перефосфорилування, реакція транскетолази та синтез нуклеїнової кислоти та її компонентів. Цей вітамін є більш важливим для зв'язку між важливими метаболічними циклами: пентозою та ацетальдегідом з нуклеїновими кислотами та циклом (Кребса) трикарбонової кислоти з окисненням амінокислот та жирних кислот. Тіамін входить до складу глюкозо-6-фосфатази, яка забезпечує синтез глікогену через печінку. Катаболічні метаболіти тіаміну можуть регулювати різноманітні ферменти печінки, які метаболізують органічні кислоти, які разом з нирками, м'язами та нервовими тканинами метаболізують вітамін В₁ найактивніше. Саме в цих органах шляхом фосфорилування тіаміну утворюється його активна форма кокарбоксілази.

Вітамін В₁ необхідний для біосинтезу ацетилхоліну - стероїдного гормону, який захищає адреналін від окислення.

В останні роки люди розшифрували нервовий механізм вітаміну В₁ і виявили його білок – носій через клітинні мембрани. Цей вітамін бере участь у найважливіших реакціях метаболізму вуглеводів, окислювальному декарбоксілюванні кетокислот та реакціях транскетолази, необхідних для нормального росту [19].

Тіамін (вітамін В₁) діє як кофермент у біохімічних реакціях, пов'язаних з обміном вуглеводів, декарбоксілюванням та шляхами, що включають транскетолазу. Тіамін бере участь у декарбоксілюванні

амінокислот з розгалуженим ланцюгом. Вітаміни руйнуються під час пастеризації та стерилізації молока [20].

Біологічна дія вітаміну B₂ (рибофлавіну) – в невеликих кількостях продуктами окиснення люміфлавіном і люміхромом реалізується фосфорильованими його похідними – флавінмононуклеотидом, флавінаденіндинуклеотидом у сітківці ока [26].

Рибофлавін існує у складі флавонів у вигляді його похідних і необхідний для багатьох окислювально – відновних реакцій: перенесення електронів і протонів з відновлених піридинових коферментів або окислених субстратів (цикл утворення сечової кислоти); а також фолієва кислота та оротова кислота, необхідні для цієї функції пов'язаної з перетворенням дегідрогенази (синтез пуринових та піримідинових основ для синтезу ДНК); дегідрогенази жирної кислоти тощо. Рибофлавін ефективно взаємодіє з органічними вільними радикалами, надає антиоксидантну дію, сприяє накопиченню глікогену в печінці, нормалізує ліпідний, вуглеводний та енергетичний обмін у клітинах печінки, впливає на ріст і розвиток плоду, забезпечує світло та кольоровий зір.

Фосфорилується вітамін B₂ після всмоктування в тонкому кишечнику, а потім переважно метаболізується в печінці, нирках, серці та мозку. Він також відіграє важливу роль у метаболізмі гормонів, особливо щитовидної залози.

Рибофлавін як і тіамін, бере участь у синтезі факторів і забезпечує фагоцитоз, і разом з вітамінами: С, B₆ та К підтримує реакції, які пов'язані з метаболізмом кісткової тканини [19].

Рибофлавін – є основним кофактором глутатіонредуктази, еритроцитів та лейкоцитів, які забезпечують найкращу активність. Розкриває синергетичний ефект рибофлавіну з вітаміном B₆ та цинком.

Вітаміни B₂, B₆ і B₁₂ необхідні для синтезу коферменту ФАД (флавінаденіндинуклеотіда), нікотинамід у та піридоксальфосфату [25].

Рибофлавін покращує стан шкіри та підтримує зір, відіграє ключову роль у кровотворенні. Вітамін В₂ зазвичай бере участь у метаболізмі кожної клітини людського організму, особливо синтезі та регуляції ДНК, а також синтезі жирних кислот та виробленні енергії, активізують розумову діяльність, підвищують працездатність, регулюють вуглеводний обмін і водний баланс, забезпечують нормальне функціонування нервової та серцево-судинної систем [26].

Рибофлавін (вітамін В₂). Необхідний для підтримки нормальних характеристик шкіри, слизової оболонки порожнини рота та статевих органів, а також для забезпечення зору та кровотворення. Вітаміни є основними компонентами найважливіших коферментів системи оксидоредуктази так званих флавопротеїдів, які забезпечують окислення харчових субстратів. При цьому виробляється АТФ, який акумулює енергію і може бути використаний для виконання багатьох фізіологічних функцій організму. Крім того, рибофлавін бере участь у формуванні зорової пурпури, захищаючи очі від надмірного впливу ультрафіолетового випромінювання [20].

Вітамін РР (нікотинова кислота та нікотинамід, ніацин) є найпоширенішим коферментом, який бере участь у більш ніж 150 ферментативних реакціях, це коферменти НАД (нікотинамідаденіндинуклеотиду) та НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату) та з одного виду коферменту до іншого.

Коферментами дегідрогеназ є НАД і НАДФ, що діють на всіх етапах окислення амінокислот, вуглеводів, гліцерину, жирних кислот, включаючи перетворення субстратів у циклі Кребса. Відновлена форма НАДФ крім того, застосовується як донатор водню в синтетичних відновних реакціях (синтез жирних кислот, стероїдів простагландинів).

Субстратом реакції є НАД, обов'язкової при репарації ДНК та реплікації, що є одним із регуляторів матричного синтезу нуклеїнових кислот, і біосинтезу білків, в зв'язку з цим [19].

Ніацин як алостеричний ефектор низки ферментів циклу Кребса виконує регуляторну функцію, глюконеогенезу, пентозного шунта. Задіяний вітамін РР у активації системи кінінів та вивільнення гістаміну в тканинах, поліпшує мікроциркуляцію, що зменшує прояви до гіпоксії.

Встановлено, що вітамін активує фібриноліз і впливає на зниження ліпідів крові, а утворення метильованих похідних та їх дії на ніацин опосередковано впливає на метаболізм ліпопромоторних факторів (метіоніну, холіну) і запобігає інфільтрації жиру в печінці [19].

Ніацин (вітамін РР) також допомагає відновити пошкодження ДНК, викликане клітинами печінки, і активує її систему детоксикації. Рівень цього вітаміну в організмі людини вважається маркером стану та функції печінки. Вітамін має гіпотензивний, антисклеротичний, вазодилатуючий ефекти.

Особливою функцією і важливою є участь його у переносі електронів і водню від субстратів, які окислюються, до кисню в процесі тканинного дихання; встановлена міжмолекулярна взаємодія з компонентами мембран [19].

Основними сполуками ніацину є нікотинова кислота і нікотинамід (ніацинамід). Головна форма вітаміну (нікотинамід), проявляє себе як компонент коферментів НАД (нікотинамідаденіндинуклеотиду) та НАДФ (аденіндинуклеотидфосфату). У багатьох обмінних процесах вітамін РР бере участь включаючи внутрішньоклітинне дихання, синтез жирів та гліколіз [20].

Дефіцит вітаміну B₆ (піридоксин) – призводить до анемії, затримки росту, атрофії лімфоїдної тканини, зменшення числа лейкоцитів і антитіл і, отже, до зниження резистентності є необхідний для вироблення ряду цитокінів [25].

До вітаміну належать три природні піридини такі як: піридоксин або піридоксол, піридоксаль і піридоксамін. Останні два фосфати піридинів конвертуються в печінці в коферментну форму

піридоксальфосфат і функціонально та метаболічно пов'язані між собою.

Функції вітаміну B_6 (метаболічні) охоплюють реакції взаємоперетворення амінокислот, утворення з триптофану серотоніну та ніацину, в головному мозку метаболічні реакції, розвиток імунної системи та обмін вуглеводів, а також біосинтез гема-і простагландинів.

Піридоксамін і Піридоксаль руйнуються під час нагрівання (втрати вітаміну за теплової обробки становлять 20–35%); термічна обробка спричиняє судоми в малюків через дефіцит вітаміну B_6 , яких годують сумішами, отриманими з порушеннями в процесі виробництва [20].

Вітамін B_9 (фолієва кислота) – у складі коферментів підтримує реакції синтезу метіоніну і є надзвичайно важливим для нормального гемопоезу – серину, пуринових основ та необхідний для обміну одновуглеводних сполук, синтезу нуклеїнових кислот.

Відповідальна за білковий та жировий обміни саме фолієва кислота та запобігає розвитку жирової інфільтрації печінки через ліпотропну дію і має здатність знижувати рівень гомоцистеїну [19].

Біологічна роль вітаміну B_9 - молекулярні механізми дії фолієвої кислоти дуже подібні до ролі і механізму дії вітаміну B_{12} .

Фолієва кислота, як і вітамін B_{12} , необхідна для нормального кровотворення і побудови коферментів, які каталізують синтез нуклеїнових кислот і перетворення метіоніну.

Особливо важливою для процесів росту і розвитку є фолієва кислота, яка разом із вітаміном B_{12} діє як попередження ожиріння печінки, а також характеризується високою швидкістю синтезу нуклеїнових кислот та білка. Фолати значно термолабільні. Приготування в домашніх умовах може знизити кількість її удвічі в процесі теплової стерилізації молочної суміші. При подрібненні продуктів та їх тривалого відварювання у воді збільшуються втрати

фолієвої кислоти (втрата фолацину може сягати 80–90% вихідного рівня вітаміну в продукті) [20].

Вітамін B₁₂ (Ціанкобаламін) – має виражену ліпотропну дію та бере участь у переносі метильних груп у синтезі метіоніну, запобігає жировій дистрофії печінки, задіяний у обміні тетрагідрофолієвої кислоти, активно впливаючи на процеси кровотворення та синтезі нуклеїнових кислот, пуринових і піримідинових основ.

Ціанкобаламін має також анаболічну дію, впливаючи на фагоцитарну активність лейкоцитів, бактерицидні властивості крові, стимулює імунологічну реактивність [19].

Також вітамін регулює синтез ліпопротеїнів і глутатіону забезпечуючи процес трансметилування в мієліновій тканині; дефіцит вітаміну B₁₂ саме тому супроводжується розвитком неврологічних розладів (фунікулярний мієлоз), мегалобластичної анемії, нейтропенії.

Недостатність вітаміну B₁₂ пов'язана з імунодефіцитом яка необхідна для знищення внутрішньоклітинних бактерій і вірусів з утворенням гіперсегментування нейтрофілів, малостійких до «дихального вибуху». При дефіциті вітаміну B₁₂ є погіршення пізнавальних здібностей, які пов'язують з порушенням синтезу нейромедіаторів і мієліну, фактором ризику розвитку коронарного атеросклерозу і порушення мозкового кровообігу є низька забезпеченість ціанкобаламіном [25].

Одним із вітамінів із найскладнішою молекулярною будовою є вітамін B₁₂ (Ціанкобаламін), що містить атом кобальту (подібно до заліза в гемоглобіні) та складається з корінового кільця. Для прикріплення алкільних груп слугує ділянкою у процесі їх переміщення і в активному центрі кільця де знаходиться іон кобальту. Вітамін тісно пов'язаний з функціонуванням і взаємоперетворенням фолатів та бере участь у передаванні одновуглецевих фрагментів.

Ціанкобаламін є вкрай важливим для забезпечення нормального біосинтезу білка та нуклеїнових кислот, обміну жирів і вуглеводів та продукції енергії. Процес всмоктування вітаміну В₁₂ на противагу іншим водорозчинним вітамінам є комплексним та включає зв'язування його з глікопротеїном — внутрішнім фактором, що секретується слизовою оболонкою шлунка (парієтальними клітинами) і відщеплення вітаміну від отриманого з їжею білка. Ефективно всмоктується в дистальній частині клубової кишки комплекс кобаламін як внутрішній фактор. Ціанкобаламін потрапляє до системи ворітної вени і транспортується у зв'язаному стані зі специфічним протеїном — транскобаламіном II, після його всмоктування. Також нетиповими як для водорозчинного вітаміну є значні його запаси в печінці. Захищає від розвитку дефіциту на місяці та роки його ефективна ентерогепатична циркуляція [20].

Вітамін В₁₂ (Біотин) – бере участь у метаболізмі амінокислот і вуглеводів; сприяє утворенню жирних кислот; забезпечує нормальне функціонування нервової тканини, потових залоз, кісткового мозку, чоловічих сім'яних залоз, мінімізує симптоми дефіциту цинку, клітин шкіри та волосся [20].

Біотин (вітамін Н) – оскільки для нормальної життєдіяльності організму його потрібно вкрай мало то іноді його називають мікровітаміном. Це пов'язано з тим, що він бере участь у метаболізмі глюкози та входить до складу ферментів, такі як: піруватдегідрогенази і транскетолази – це і є основна біологічна роль вітаміну Н.

Забезпечує нормальне функціонування нервової тканини та потових залоз, також сприяє утворенню жирних кислот та бере участь у процесі вуглеводів і амінокислот.

1.3. Культура клітин

Культура клітин - це клітини багатоклітинного організму, що живуть і розмножуються в штучних умовах поза організмом (*in vitro*).

Методика культивування клітин особливо успішно стала розвиватися після 40-х років ХХ століття. Цьому сприяли наступні обставини: відкриття антибіотиків, що запобігають бактерійному зараженню культур клітин, відкриття Ху-ангом (1943) і Ендерсом (1949) здібності вірусів викликати специфічну деструкцію клітин (цитопатичний ефект) – зручний метод індикації вірусів в культурах клітин, нарешті, Дульбекко і Фогт (1952) запропонували методику трипсинизації тканин і отримання одношарових культур клітин.

У своїй класичній роботі в 1955 р. Х. Голок досліджував потреби клітинних ліній мишей L і HeLa в поживних речовинах. Це злякисні клітини, що характеризуються різним каріотипом і схожі по своїй морфології з клітинами плоского епітелію. Х. Голок використав середовища певного складу, що містять суміш амінокислот, вітамінів, солей і вуглеводів, а також невелику кількість діалізованої сироватки коня або людини. В ході досліджень 27 чинників було визначено як незамінні для зростання. Вони склали основу середовища, відомого як «базальне середовище Ігла», або БСИ. З 20 амінокислот 13 виявилися незамінними, а інші 6 могли бути синтезовані клітинами з інших джерел вуглецю. Видалення будь-якого з 7 вітамінів призводило до розвитку симптомів недостатності. Таким чином, Х. Голок, використовуючи метод культивування клітин, продемонстрував поживні потреби клітин миші і людини.

Органні культури використовують при вивченні закономірностей розвитку органів, для вивчення способів збереження життєздатності ізольованих органів, призначених для трансплантації в культуру і тим самим служити засобом і об'єктом у багатьох медико-біологічних дослідженнях. Найчастіше культивуються наступні елементи: - сполучній тканині - фібробласти; - скелетною - кістка і хрящі; - м'язовою - скелетні, сердечні і гладкі м'язи; - епітеліальною - печінка, легені, шкіра, сечовий міхур, бруньки, молочна залоза; - нервовою -

гліальні клітини і нейрони(хоча вони позбавлені здатності до проліферації); - ендокринної системи - гіпофіз, надниркові залози, клітини острівців Лангерганса; - різні типи пухлинних клітин [18].

Клітинні культури *in vitro* є важливим інструментом в дослідженнях окремо взятих клітинних популяцій в умовах їх ізоляції, і істотним доповненням до експериментів, що проводяться *in vivo*. Клітинні культури дозволяють вивчати життєздатність, морфологію, поведінку, функцію клітин і їх популяцій, а також вплив на ці процеси різних субстанцій, що мають токсичну, захисну або регуляторну дію. Окрім цього, клітинне культивування – незамінний інструмент у вивченні молекулярних чинників регуляції проліферації і диференціювання клітин, змін або конверсій клітинного фенотипа. Ну і, нарешті, культивування клітин *in vitro* – інструмент виробництва і накопичення популяцій стовбурових або малодиференційованих клітин для найрізноманітніших потреб сучасної біомедицини.

Культуру тваринних тканин застосовують для і диференціювання клітин і вивчення механізмів росту, міжтканинних і міжклітинних взаємодій, гістогенеза і обміну речовин. Клітини тварин є важливими продуцентами багатьох біологічно важливих речовин. Та через це на них вирощують віруси для їх ідентифікації та отримання різних вакцин.

Застосовують культуру клітин часто при вивченні і тестуванні механізму дії лікарських і косметичних засобів, консервантів і пестицидів тощо. Широке застосування знайшли методи клітинної культури для реконструкції різних органів та тканин. Тому культуру клітин шкіри використовують як альтернативну терапію при опіках, а культуру ендотеліальних клітин – для відновлення стінок кровоносних судин.

Здатність клітин рости в органотиповій культурі призвела до розвитку методів клонування, зберігання та злиття клітин, що, у свою

чергу, призвело до утворення нової галузі науки – генетики соматичних клітин для трансплантації [18].

Використовують органотипові культури для вивчення способів збереження життєздатності ізольованих органів та для вивчення закономірностей розвитку органів, призначених для трансплантації.

В даний час практично будь-які клітини людини і тварин можуть бути введені в культуру і тим самим служити засобом і об'єктом в багатьох медико-біологічних дослідженнях. Найбільш часто культивуються такі елементи:

- сполучної тканини – фібробласти;
- скелетної – кістка і хрящі;
- м'язової – скелетні, серцеві та гладкі м'язи;
- епітеліальної – печінку, легені, шкіра, сечовий міхур, нирки, молочна залоза;
- нервової – гліальні клітини і нейрони (хоча вони позбавлені здатності до проліферації);
- ендокринної системи – гіпофіз, надниркові залози, клітини острівців Лангерганса;
- різні типи пухлинних клітин [18].

Незважаючи на усі переваги клітинного культивування, ізольовані, висаджені *in vitro* клітини, позбавлені звичного оточення і впливів з боку прилеглих тканин. Це, як відомо, є певною перешкодою для екстраполяції отримуваних відомостей на ситуацію *in situ*.

В зв'язку з цим в останні два десятиліття велика увага приділяється органотиповому культивуванню, що є адекватнішим для симуляції умов цілого організму, тому часто в літературі ця технологія розцінюється як «*in vivo* - like *in vitro* technology» (Schutgens et al., 2016), а культивована тканина як «*in vivo* - like *in vitro* model» (Cho et al., 2018). Значною мірою це стосується нейтральної тканини, при вивченні якої

дуже важливе збереження існуючої початково складної структурної і синаптичної організації (Humpel, 2015).

Умови для органотипового культивування застосовують у проведенні генно-інженерних маніпуляцій (Moritoh et al., 2010), зокрема перенесення генів, здатних транзитно експресуватися в клітинах культивованої сітківки (Moritoh et al., 2013). І, нарешті, органотипове культивування дозволяє проводити численні фармакологічні випробування, в ході яких можна строго контролювати умови тестування препаратів, що мають протекторний, або токсичний ефект [31].

Клітинна культура є важливим інструментом для біологічних досліджень.

Поживні середовища.

Розрізняють природні і штучні (синтетичні і напівсинтетичні) поживні середовища. Природні середовища складаються з суміші сольового розчину (Хенкса, Ерла), сироватки крові (тварин або людини), тканинного (ембріонального) екстракту (ембріонів курей, корів, людини), коров'ячої амніотической рідини і т. д. Кількість кожного компонента в різних домішках середовищ значно варіює. Але використовують ці середовища рідко.

Нині застосовують в основному штучні поживні середовища. До напівсинтетичних поживних середовищ відносять ферментативний гідролізат різних білкових продуктів: гідролізат лактальбуміну, м'язовий ферментативний гідролізат, ферментативно-казеїновий дріжджовий гідролізат, гемогідролізат, амінопептид та ін. Найширше використовують у вірусологічній практиці 5%-й розчин гідролізату лактальбуміну, 5%-й і 2,5%-й розчин гемогідролізату. З синтетичних середовищ найбільш широке застосування знайшли середовище 199 і середовище «Ігла» [41].

Найбільш популярними на сьогодні, в які додається сироватка є в модифікації Дюльбекко DMEM середовища Ігла RPMI 1640 [Moore et al., 1967] або [Dulbecco & Freeman, 1959].

Середовище без сироватки зараз використовується в промисловій технології для спрощення процесу та зниження ризику контамінації культури клітин внаслідок випадкового зараження як інфекції [41].

Середовище з подвійною модифікацією – це середовища Ігла (Дюльбекко DMEM або DME). Це основа безсироваткового середовища.

Для використання цього середовища необхідний інкубатор з 10% концентрацією CO₂.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИКА ВИДІЛЕННЯ ОРГАНІЧНОЇ КУЛЬТУРИ

2.1. Виділення органічної культури

Для дослідження нами та досягнення завдань було проведено виділення органної культури печінки у білих безпородних мишей.

Печінка, є органом, яка в свою чергу виконує захисні, знешкоджувальні, ензиматичні і видільні функції, спрямовані на те що, бере участь у білковому, вуглеводному, жировому і мінеральному обмінах та підтримання гомеостазу в організмі на стан її морфологічний стан при різноманітних токсичних ураженнях завжди представляє особливий інтерес.

Серед засобів, що сприяють збереженню та відновленню роботи печінки визначають засоби рослинного та тваринного походження, препарати на основі есенціальних фосфоліпідів, амінокислот та їх похідних, вітамінів та антиоксидантів та інші.

Служать засобом і об'єктом у багатьох медико-біологічних дослідженнях, зокрема, рекомендовані настановами з до клінічних випробувань, здійснюються *in vivo* (на тваринах) [29].

За темою нашого дослідження не випадково дослідженні були вітаміни: Вітамін В₆, Вітамін С. Вітамін В₆ в концентрації 0,01 нм, та вітамін С в такій ж самій концентрації 0,01 нм.

Культивували органні культури на протязі тижня з вітаміном С, вітаміном В₆ та добавками з сировини НК (суспензії тканин печінки мишей).

За методикою нами лабораторно було проведено виділення органічної культури печінки *in vitro*.

Суть методики полягає у культивуванні фрагментів печінки у поживному середовищі (Ігла на буферному розчині Хенкса або інше та бича сироватка крові для культур, 5–10 %). При цьому зберігається

пошарова будова органу, взаємозв'язки між клітинними популяціями. Також ця методика проста та відтворювана [29].

Описана методика використовується для *in vitro* експрес-оцінки гепатотропної (гепатопротекторної) дії сполук, що вносяться у середовище за інтенсивністю формування «зони виселення та росту» [29].

Для культивування використовувалися зрізи печінки білих безпородних мишей. Товщина зрізу печінки складала 0,3-0,5 мм.

Після зрізу печінки, її поміщували у фізіологічний розчин та багаторазово промивали від згустків крові. Далі за допомогою біуретової реакції виявили концентрацію білка тест-системами після виділення культури яку гомогенізували.

Наявність білка в розчині можна визначити за допомогою кольорової реакції. Найпоширенішою якісною реакцією на білок є біуретова реакція. Ця реакція характерна для атомних груп, які утворюють пептидні зв'язки. Додайте до розчину білка трохи лужного розчину і кілька крапель слабкого розчину Купрум (II) сульфату. Рідина стала фіолетовою, що свідчить про наявність білка в розчині.

Органні культури – це дорослі тварини, ембріони або фрагменти органів, культивовані *in vitro*, без розмноження клітин, тому діапазон сприйнятливості органу до вірусів в організмі зберігається. Тому культура органів є дуже корисною системою для вивчення взаємодії між чутливими клітинами -господарями, вірусами та чутливими клітинами – господарями *in vitro*.

Органна культура зберігає міжклітинні взаємодії, протягом довгого періоду підтримує гістологічну і гістохімічних диференціювання, як правило, залишається в не зростаючому стані протягом декількох днів і навіть тижнів. Культури не здатні до розмноження.

Під час культивування клітин у моношаровій культурі, вони виявляються позбавленими всього спектру впливу біологічно активних речовин, які є у живому організмі. Під час такого культивування дуже важко відтворити умови існування клітин, що наявні у цілому живому організмі. Органна культура позбавлена таких недоліків, оскільки для культивування використовуються зрізи або фрагменти органів, у яких зберігаються всі тканини, що входять у цей орган та взаємозв'язки між окремими складниками [16, 24].

Зрізи печінки робили скальпелями, після чого їх поміщували у чашки Петрі на агарову підкладку та на скельця з 0,1% желатином для кращої адгезії зрізів. Агарова підкладка містила спеціальне поживне середовище, необхідне для культивування клітин нервової тканини. В якості культивованого середовища використовували поживне середовище DMEM на солях Ігла, в яке додається сироватка печінки.

Для попередження мікробної контамінації застосовували антибіотик пеніцилін та стрептоміцин (у концентрації: 40 мкг/мл). Культивування проводилося при температурі 37C°.



Рис.2.1 – Виділення органної культури печінки білих безпорідних лабораторних мишей.

За культурами спостерігали впродовж 7, після чого зрізи фіксували у рідині Карнуа для подальшого виготовлення постійних гістологічних препаратів.

Гістологічні препарати дозволять з'ясувати особливості зміни тканин під час культивування зрізів печінки.

Приблизно 1 раз на добу культури зрізів печінки оглядалися на наявність вогнищ некрозу (омертвіння тканин). При цьому оцінювався колір поверхні зрізу та його блискучість. При наявності вогнищ некрозу на зрізах з'являються темні плями, у цих місцях зрізи не прозорі та не мають характерного блиску.

2.2. Біохімічні показники

Важливим показником якості органотипової культури є їх гістологічна структура. В органотипової культурі є фрагменти, які зберігають сполучнотканинні мішки та капсули. Багато плоских клітин у клубочковій зоні, які безпосередньо розташовані під капсулою. Фрагменти коркового матеріалу (речовини) зберігають в епітеліальну систему тяжів. Життєздатні клітини (адреноцити) надниркових залоз розташовані у зовнішній та центральній частинах фрагментів тканини.

Щільність клітин (адреноцитів) надниркових залоз дорівнює (253 + -34) клітин/мм.кв. Мітоз є ознакою поділу клітин, 4 мітозу і визначається мітотичні поділи на кожні 100 клітин. [4].

Якісним критерієм органної культури є:

- імуногенність;
- гормональна активність;
- гістологічна будова.

Критерієм якості органотипової культури також є їх імуногенність, що дозволяє передбачити тривалість функції трансплантата у реципієнта в організмі. При пасивній гемаглютинації імуногенність не повинна перевищувати зворотного титру в реакції (1,9 + (-0,15))

Методи отримання органотипових культур:

Органотипові культури за медико-біологічними вимогами відібраних для ксенотрансплантації, передбачає використання органів здорових новонароджених мишей (1,5 + -0,5) год

Від народження санітарно-епідеміологічні документи та документи ветеринарної служби підтверджують наявність здорових осіб.

Підготовка до культивування органотипової культури:

Промийте подрібнений матеріал шість разів і охолодіть до (4 + -0,1) градусів. Використовуйте розчин Хенкса, що містить антибіотики, і помістіть його у флакон (5 + -0,1) мл. до повного живильного середовища.

Нотатки. Склад повноцінного живильного середовища: середовище 199 у кількості (200+/-0,5) мл, гідролізат білка молочної сироватки (200+/-0,5) мл, бичача сироватка або великої рогатої худоби (40+/-2) мл, пеніцилін 100 одиниць/мл. доведіть 5% рН розчину гідрокарбонату натрію до 7.

Помістіть суспензію в холодильник при температурі (4 + -0,1) градусів. С° протягом (60 + -1,5) хвилин, потім вставте пляшки в пристрій для культивування клітин при швидкості обертання 2 об / хв і помістіть їх у термостат для культивування, де вони витримуються та зберігаються при (28 + -0,2) град.С°.

Протягом перших трьох днів посіву поживне середовище слід міняти кожні (12+/-0,1) години вранці та ввечері, а потім-раз на ніч, в один і той же час. Необхідно щодня контролювати стерильність органотипових культур.

Загальний час культивування (5 + -0,1) днів.

Перед введенням до реципієнта органотипову культуру слід промити з живильного середовища фізіологічним розчином при температурі (28 + -0,3) С° градусів 7 разів, додайте (10 + -0,2) мл. сольового розчину і зберігайте в ньому до пересадки в тіло реципієнта, але не більше (15 + -0,5) хвилин

За день до клінічного використання органотипової культури її необхідно контролювати за допомогою морфології-гормональної імунології та бактерій-вірусу-мікології контролю.

Прийняття методів органотипової культури та контроль для посіву за наступними пунктами:

1. Тест на культуру органів;
2. Тест на контроль бактерій;
3. Тест на вірологічний контроль;
4. Тест на мікологічний контроль.

Виконайте перевірку стерильності на культурах органів згідно з чинними інструкціями.

Виконайте бактеріологічний контроль згідно з чинними інструкціями та, щоб виключити зараження органотипових культур грамозитивними та грамнегативними аеробами та анаеробами [5].

Він також контролюється за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, що дозволяє ідентифікувати та видалити інфіковану органотипову культуру яка заражена мікроорганізмами мікоплазму, трепонему білду (сифіліс), токсоплазму, ВІЛ (ВІЛ-1 / ВІЛ-2), гепатит (В і С), органотипову культуру краснухи, герпес та цитомегаловірус [5].

Відповідно до українського Закону «Про вимірювання та вимірювальну діяльність» (113/98-VR) [6], усі вищезазначені роботи проводяться в акредитованих лабораторіях та використовують акредитовані методи вимірювання.

Дозволити персоналу з вищою медичною або біологічною освітою займатись посадкою та якісною оцінкою органічних культур.

Культивована культура органів реєструється в журналі бухгалтерського обліку виробника закладу культури органів.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Результати дослідження

Завдання роботи включали дослідження з концентрації білка у культурах клітин печінки під впливом різних вітамінів та інших добавок.

Для експерименту були обрані вітаміни: С та В₆, печінка білих безпородних мишей, зрізи робили скальпелем і фіксували у рідині Карнуа.

В якості поживного середовища для культивування було взято середу DMEM на солях «Ігла» та додавалась сироватка печінки.

В основі роботи ми культивували органотипічні культури печінки протягом 7 діб. Печінку брали у білих безпородних лабораторних мишей.

Концентрацію білка *табл 3.1* визначали після виведення культури тест-системами за допомогою біуретової реакції з методики.

Таблиця 3.1

Концентрація білка

№ п/п	Білок А	Концентрація мкг/мл	Проби	%	мкг/мл
1	А	0,017	Vit C	-	0,01
2	А	0,023	Vit B6	-	0,01
3	А	0,059	NK	1%	0,01
4	А	0,026	-	-	-
5	А	0,021	NK	0,01%	0,01
6	А	0,045	Сировина	10%	0,01

Наявність білків в розчині виявляли кольоровими реакціями.

Найбільш універсальною якісною реакцією на білки є біуретова реакція. В органотипічній культурі печінки білих безпородних мишей з вітаміном С в концентрації 0,01 мкг/мл, де концентрація білка складала 0,017 мкг/мл, в органотипічній культурі печінки з вітаміном В₆ в концентрації 0,01 мкг/мл, концентрація білка складає 0,023 мкг/мл.

Більш висока концентрація в білка була в культурах, що культивувалися з вітаміном В₆. Концентрація нижче була в вітаміну С.

В ході даного експерименту можна побачити, що вітамін під номером 2 тобто В₆ проявив себе краще ніж вітамін С, так як концентрація білка в печінці білих безпородних мишей більше.

Концентрація білка в органотиповій культурі пов'язана з рівнем синтезу його в клітинах.

Білок є інгібітором ферментів. Так як в біологічна дія вітаміну В₆ (Піридоксин) характеризує те, що метаболічно та функціонально пов'язані фосфати піридинів конвертуються в печінці у коферментну форму, а саме піридоксальфосфат. Метаболічні функції вітаміну В₆ (Піридоксин) охоплюють реакції взаємоперетворення амінокислот, утворення серотоніну та ніацину з триптофану, метаболічні реакції в головному мозку, обмін вуглеводів, розвиток імунної відповіді.

Білки плазми крові, альбуміни і фібріноген, утворюються виключно в печінці. Піридоксин також відповідає за те щоб отриманий білок з харчових продуктів в організмі накопичувався, регулював його обмін, був добре засвоєним і це приблизно 10% в печінці.

Окрім того, нестача вітаміну В₆ призводить до зниження синтезу білих кров'яних тілець, що регулює імунну систему та забезпечує відповідну реакцію на інфекцію.

Організм також використовує піридоксин для вироблення білка під назвою інтерлейкін 2, який є лідером білих кров'яних клітин.

Експериментально доведено ефективність дії вітамінів на кількість білка в харчовому раціоні. Тому є дуже важливим регулювати вміст, слідкувати за його настанням в організмі.

Вітамін С (аскорбінова кислота) також дуже важливий для організму, але його концентрація була нижче, тому засвоюється не так вигідно для організму як (Піридоксин) вітамін В₆.

3.2. Впровадження результатів лабораторного дослідження в шкільному курсі біології.

Організація всіх аспектів лабораторних практикумів класу біології була, є і буде важливою для шкільної біологічної освіти. Тому із встановленням нових стандартів освіти змінюється і формування ключових здібностей учнів, змінюються і вимоги до знань, умінь та навичок, набутих учнями. Оскільки лабораторні практикуми є основним джерелом предметних навичок учнів та дають можливість практичного застосування предметних знань, організація лабораторних та практичних робіт на уроках біології з кожним роком стає все гострішою.

Методи навчання біології залишаються відкритими. Щодо змісту та структури біологічних знань учнів, типів знань учнів, співвідношення теоретичних знань та знань досвіду в початкових та середніх школах тощо. зв'язок між знаннями з біології та навичками навчання, включаючи тему та методологію.

У цьому випадку ми вважаємо, що методичні рекомендації, наведені в кваліфікаційній роботі, будуть корисними вчителям-практикам, методистам, студентам вищих навчальних закладів під час викладацької практики та школярам.

Для цього пропонуємо впровадити в шкільному курсі біології лабораторні дослідження, які є складовою частиною організаційних форм навчання.

Лабораторне дослідження ми рекомендуємо впровадити в тему: «Вітаміни їх роль в обміні речовин», згідно діючої навчальної програми з біології для учнів 10 класу для закладів середньої загальної освіти. Таким чином лабораторні дослідження дадуть змогу дітям узагальнити знання та підвищити інтерес до навчання. Заняття в такому вигляді дадуть змогу зв'язати фундаментальний та практичний матеріал та під час яких сформуються загальні поняття, закріпляться навички і вміння.

Впровадження цього дослідження може мати позитивне педагогічне значення. Для кращого засвоєння навчального матеріалу необхідно проводити лабораторні роботи під час яких відбувається поглиблення і закріплення вмінь та навичок, які можуть бути отриманні на уроках біології шляхом вивчення об'єкту у лабораторних умовах.

Експериментальне проведення дослідження формує в учнів вміння організації, самостійності, вмінням творчого і практичного застосування здобутих знань. У результаті виконання лабораторного експерименту дає змогу аналізувати отриманні результати та засвоювати нові знання.

Ми пропонуємо цю лабораторну роботу, тому що вона наглядно показує вплив вітамінів і його нестачею в організмі.

ВИСНОВКИ

Виконана кваліфікаційна робота присвячена актуальній проблемі сучасності: формуванню спеціальних понять у шкільному курсі біології

Теоретична розробка цієї проблеми дала змогу встановити сутність та вплив вітамінів на ріст культур.

1. Проведено літературний огляд з питання історії вивчення вітамінів, та було з'ясовано, що дослідження налічує 200 річну історію.

Багато вчених і їх дослідження послугували початком вивчення вітамінів. У результаті була відкрита нова галузь знань яку і до сьогодні досліджують вчені.

2. Проаналізовано біологічну дію вивчення вітамінів і встановлено поняття про вітаміни, їх класифікацію, склад і нестачу.

Вітаміни — органічні речовини з низькою молекулярною масою з різною хімічною структурою. Було з'ясовано, що вітаміни поділяють на водорозчинні та жиророзчинні. Вони є біологічними каталізаторами хімічних реакцій, що відбуваються в живих клітинах. Проаналізовано біологічну дію кожного з водорозчинних вітамінів. Так як вітаміни містяться в усіх продуктах харчування, вони допомагають захистити організм від інфекції та беруть участь в обміні речовин. Відповідно за нестачею в організмі виділяють: авітаміноз і гіпоавітаміноз.

3. Охарактеризовано культури клітин та поживні середовища. Це клітини багатоклітинного організму, що живуть і розмножуються в штучних умовах поза організмом (*in vitro*). Клітинна культура є важливим інструментом для біологічних досліджень. На сьогодні, найбільш популярними є середовища Ігла в модифікації Дюльбекко DMEM, в які додається сироватка.

4. Завдання роботи включали дослідження концентрації білка у культурах клітин печінки, для експерименту були обрані вітаміни: С та В₆ і це дає змогу встановити сутність та вплив різних вітамінів та добавок на ріст органотипової культури. В ході даного експерименту

було зрозуміло що, піридоксин (вітамін В₆) відповідає за те щоб отриманій білок з харчових продуктів в організмі накопичувався та регулював його обмін і був добре засвоєним, в печінці.

Окрім того, нестача вітаміну В₆ призводить до зниження синтезу білих кров'яних тілець, що регулює імунну систему та забезпечує відповідну реакцію на інфекцію в організмі.

Експериментально доведено ефективність дії вітамінів на кількість білка в харчовому раціоні. Тому є дуже важливим регулювати вміст, слідкувати за його настанням в організмі. Також дуже важливий для організму є вітамін С, але його концентрація була нижче, тому засвоюється не так вигідно для організму як вітамін В₆.

Для формування спеціальних понять у вигляді лабораторного дослідження ми рекомендуємо впровадити в тему: «Вітаміни їх роль в обміні речовин», навчальної програми з біології для учнів 10 класу для закладів середньої загальної освіти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Beketova NA, Spiricheva TV, Pereverzeva OG i dr. (2009). Izuchenie obespechennosti vodo- i zhirorastvorimyimi vitaminami vzroslogo trudosposobnogo naseleniya v zavisimosti ot vozrasta i pola. Voprosyi pitaniya. 6: 53-59. [Бекетова НА, Спиричева ТВ, Переверзева ОГ и др. (2009). Изучение обеспеченности водо- и жирорастворимыми витаминами взрослого трудоспособного населения в зависимости от возраста и пола. Вопросы питания. 6: 53-59].
2. Borovik TE, Ladodo KS (red.). (2015). Klinicheskaya dietologiya detsko go vozrasta. Rukovodstvo dlya vrachev. Moskva. [Боровик ТЭ, Ладодо КС (ред.). (2015). Клиническая диетология детского возраста. Руководство для врачей. Москва].
3. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. — 2001. — V. 414, № 6865. — P. 813–820.
4. Emelyanova TP (sost.). (2001). Vitaminyi i mineralnyie veschestva. Polnyiy spravochnik dlya vrachev. Moskva.: ID «Ves». [Емельянова ТП (сост.). (2001). Витамины и минеральные вещества. Полный справочник для врачей. Москва.: ИД «Весь»].
5. Kharchenko NV, Anokhina NA (Red.). (2012). Diietolohiia. Kyiv. [Харченко НВ, Анохіна ГА (Ред.). (2012). Дієтологія. Київ].
6. Kliegman RM, Stanton BF, St Geme JW et al. (2016). Nelson Textbook of Pediatrics (20 ed). Elsevier: Philadelphia.
7. Markdante KDzh, Klichman RM. (2019). Osnovy pediatrii za Nelsonom (Per. 8-ho anhl. vyd.T. 1). Kyiv. [Маркданте КДж, Клігман РМ. (2019). Основи педіатрії за Нельсоном (Пер. 8-го англ. вид.Т. 1). Київ].
8. Milazzo, S., Ernst, E., Lejeune, S., Boehm, K., Horneber, M. (2011). Laetrile treatment for cancer. The Cochrane Library.
9. Mindel E (sost.). (1997). Spravochnik po vitaminam i mineralnyim veschestvam (per. s angl.). Moskva: Meditsina i pitanie. [Миндел Э

- (сост.). (1997). Справочник по витаминам и минеральным веществам (пер. с англ.). Москва: Медицина и питание].
10. Ministerstvo okhorony zdorov'ia Ukrainy (2017). Pro zatverdzhennia norm fiziologichnykh potreb naselennia Ukrainy v osnovnykh kharchovykh rehovynakh i enerhii. Nakaz No. 1073 vid 03.09.2017. [Міністерство охорони здоров'я України (2017). Про затвердження норм фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах і енергії. Наказ № 1073 від 03.09.2017]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1206-17/page>.
 11. Pitanie materi i rebenka (2008). Noveyshaya entsiklopediya meditsinskihznaniy. Moskva: Eksmo. [Питание матери и ребенка (2008). Новейшая энциклопедия медицинскихзнаний. Москва: Эксмо].
 12. Rebrov VG, Gromova OA. (2003). Vitaminyi i mikroelementyi. Moskva. [Ребров ВГ, Громова ОА. (2003). Витамины и микроэлементы. Москва].
 13. Shabrov AV, Dadali VA, Makarov VA. (2003). Biohimicheskie svoystva mikronutrientov pischi. Moskva: Eksmo. [Шабров АВ, Дадали ВА, Макаров ВА. (2003). Биохимические свойства микронутриентов пищи. Москва: Эксмо].
 14. Shtabskyi BM, Fedorenko VI; Tsypriiian VI (Red.). (2007). Hihiiena kharchuvannia z osnovamy nutrytsiologhii. Pidruchnyk (u 2 kn.). Kyiv: Medytsyna. [Штабський БМ, Федоренко ВІ; Ципріян ВІ (Ред.). (2007). Гігієна харчування з основами нутриціології. Підручник (у 2 кн.). Київ: Медицина].
 15. Siri P.W., Verhoef P., Kok F.J. Vitamins B6, B12 and folate: Association with plasma total homocysteine and risk of coronary ath7 erosclerosis // J. Nutrition. — 1998. — V. 17, № 5. — P. 435–441.
 16. Tutelyan VA, Kon IYa (Red.). (2013). Detskoe pitanie. Rukovodstvo dlya vrachey. 3 eizd. Moskva. [Тутельян ВА, Кон ИЯ (Ред.). (2013). Детское питание. Руководство для врачей. 3-е изд. Москва].

17. Барштейн В. Ю. Вітаміни. Сторінки історії / В. Ю. Барштейн. // Проблеми харчування. – 2010. – №1. – С. 63–66.
18. Блажевич О. В. Б68 Культивирование клеток: Курс лекций / О. В. Блажевич – Мн.: БГУ, 2004. – 78 с.
19. Вдовиченко В. І. Вітамінопрофілактика: користь, марність, шкідливість / В. І. Вдовиченко, Т. В. Острогляд. // Рациональна Фармакотерапія. – 2017. – №4. – С. 56–63.
20. Горобець А. О. Вітаміни і мікроелементи як специфічні регулятори фізіологічних та метаболічних процесів в організмі дітей та підлітків / А. О. Горобець // Український журнал перинатологія і педіатрія. - 2019. - № 4. - С. 75-92. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/perynatology_2019_4_13.
21. Громова О.А., Галицкая С.А., Лиманова О.А. и др. Возможности микронутриентной и фитокоррекции в повышении резистентности к простудным заболеваниям у детей // Вопросы современной педиатрии. — 2008. — Т. 7, № 6. — С. 156–160.
22. Громова О.А., Намазова Л.С. Витамины и минералы в современной клинической медицине. — М.: Союз педиатров России, 2003. — С. 57.
23. Кирилюк О. Ф. Теоретичні аспекти забезпечення раціонального харчування населення та його вплив на формування попиту на продовольчому ринку України / О. Ф. Кирилюк. // збірник наукових праць уманського національного університету садівництва. – 2011. – №76. – с. 215–221.
24. Лавров Б. А. Очерки по истории отечественной витаминологии / Б.А. Лавров. – М.: Медицина, 1980. – 168 с.
25. Левчук Л. В. Витамины группы В и их влияние на состояние здоровья и интеллектуальное развитие детей / Л. В. Левчук, О. В. Стенникова. // вопросы современной педиатрии. – 2009. – С. 42–47.

26. Лисенко, О. Л. Вітаміни групи в. Амігдалін / О. Л. Лисенко,, С. В. Гирич. // Традиційні та інноваційні підходи до наукових досліджень. – 2020. – С. 80–82.
27. Метаболізм вітамінів і мінеральних речовин : навчальний посібник / Л. О. Прімова, І. Ю. Висоцький. – Суми : Сумський державний університет, 2014. – 256 с.
28. Мещишен І.Ф. Обмін речовин у людини / І.Ф. Мещишен, В.П. Пішак. – Чернівці:Медінститут, 1995. – 193 с.
29. Москальов В. Б. Модель органотипової (органної) культури печінки / В. Б. Москальов, С. Ю. Мельниченко. // Научный журнал "Молодой вчений" Инновационные достижения современных научных исследований». – 2021. – №1. – С. 26–28.
30. Нетюхайло Л. Г. Вітаміни / Л. Г. Нетюхайло, Л. К. Іщейкіна. // „Світ медицини та біології”. – 2012. – №2. – С. 191–194.
31. Новикова Ю. П. Органотипическое культивирование как способ изучения восстановительных возможностей сетчатки глаза позвоночных животных и человека / Ю. П. Новикова, В. А. Поплинская, Э. Н. Григорян. // Онтогенез. – 2020. – С. 35–50.
32. Няньковський С. Л., Яцула М. С. Стан здоров'я першокласників, їх готовність до систематичного навчання в школі. // Child`s Health. – 2010. – Т. 3. – № 24.
33. Няньковський С. Л., Яцула М. С., Чикайло М. І., Пасечнюк І. В. Стан здоров'я школярів в Україні // Child`s Health. – 2012. – Т. 5. – № 40.
34. Основи здоров'я : підруч. для 6-го класу загальноосвіт, навч. закладів / Т.Є. Бойченко, І.П. Василяшко, С.В. Василенко та ін. — К. : Генеза, 2014. — 160 с.
35. Основи харчування: підручник / М.І. Кручаниця, І.С. Миронюк, Н.В. Розумикова, В.В. Кручаниця, В.В. Брич, В.П. Кіш. Ужгород: Вид-во УжНУ «Говерла», 2019. 252 с.

36. Ребров В. Г. Витамины, макро- и микроэлементы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 128 с.
37. Регуляція вітаміном в1 та його тіольною формою активності катепсин-1-подібних ферментів в органах білих щурів / О.Устянська, О. Шварцова, С. Петрова, С. Петров. // Вісник Львівського університету. Серія біологічна.. – 2011. – С. 47–51.
38. Руководство по детскому питанию. Под ред. Тутельяна В.А., Коня И.Я. — М., 2004. — С.661.
39. Clayton P.T. B(6) responsive disorders: A model of vitamin dependency // J. Inherit. Metab. Dis. — 2006. — V. 29, № 2–3. — P. 317–326.
40. Смоляр В.І. Харчування в античну епоху [Електронний ресурс] / В.І.Смоляр. — Режим доступу: <[http:// www.medved.kiev.ua/arh_2007/n07_3-8.htm](http://www.medved.kiev.ua/arh_2007/n07_3-8.htm)>
41. Строганова, И.Я. Использование в вирусологии культуры клеток: метод. указания / И.Я. Строганова, А.А. Трухоненко; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2013. – 48 с.
42. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж.Теппермен, Х. Теппермен. – М.: Мир, 1989. – 653 с.
43. Титаренко, А. В. Вплив вітамінів та мінералів на організм людини / А. В. Титаренко, Е. О. Гришина // Наукові записки : зб. наук. пр. - Кіровоград : КНТУ, 2011. - Вип. 11, ч. 3. - С. 240-246.
44. Філіппова Г. В. Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології, косметології та аромології». ОМІ МГУ, Одеса, 15.09.2017 р. – С. / Г. В. Філіппова, В. В. Бачеріков, В. А. Бачеріков. // «Сучасні проблеми фармакології, косметології та аромології». – 2017. – №1. – С. 63–68.
45. Шелтон Г. Здоровье для всех / Г. Шелтон; перевод с англ. Л.А. Владимирского. — М.: Сов. Спорт. — 2001. — 288с

46. Шкуропат, А.В. Ефективність віртуальних лабораторних практикумів з Фізіології людини і тварин у структурі підготовки / Шкуропат А.В., Гасюк О.М. // Information Technologies in Education. 2018. № 1 (34). С. 62-70
47. Шкуропат, А.В., Головченко, І.В., Юріна, Ю.М. (2021) Формування компетентностей у майбутніх вчителів біології та основ здоров'я у закладі середньої освіти. Вісник Черкаського національного університету імені Богдана Хмельницького. Серія «Педагогічні науки». (2). 188-193.

Додаток А

КОДЕКС АКАДЕМІЧНОЇ ДОБРОЧЕСНОСТІ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ХЕРСОНСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Я, Садлівська Юлія Миколаївна, учасник освітнього процесу Херсонського державного університету, **УСВІДОМЛЮЮ**, що академічна доброчесність – це фундаментальна етична цінність усієї академічної спільноти світу.

ЗАЯВЛЯЮ, що у своїй освітній і науковій діяльності **ЗОБОВ'ЯЗУЮСЯ**:

- дотримуватися:
 - вимог законодавства України та внутрішніх нормативних документів університету, зокрема Статуту Університету;
 - принципів та правил академічної доброчесності;
 - нульової толерантності до академічного плагіату;
 - моральних норм та правил етичної поведінки;
 - толерантного ставлення до інших;
 - дотримуватися високого рівня культури спілкування;
- надавати згоду на:
 - безпосередню перевірку курсових, кваліфікаційних робіт тощо на ознаки наявності академічного плагіату за допомогою спеціалізованих програмних продуктів;
 - оброблення, збереження й розміщення кваліфікаційних робіт у відкритому доступі в інституційному репозитарії;
 - використання робіт для перевірки на ознаки наявності академічного плагіату в інших роботах виключно з метою виявлення можливих ознак академічного плагіату;
- самостійно виконувати навчальні завдання, завдання поточного й підсумкового контролю результатів навчання;
 - надавати достовірну інформацію щодо результатів власної навчальної (наукової, творчої) діяльності, використаних методик досліджень та джерел інформації;
 - не використовувати результати досліджень інших авторів без використання покликань на їхню роботу;
 - своєю діяльністю сприяти збереженню та примноженню традицій університету, формуванню його позитивного іміджу;
 - не чинити правопорушень і не сприяти їхньому скоєнню іншими особами;
 - підтримувати атмосферу довіри, взаємної відповідальності та співпраці в освітньому середовищі;
 - поважати честь, гідність та особисту недоторканність особи, незважаючи на її стать, вік, матеріальний стан, соціальне становище, расову належність, релігійні й політичні переконання;
 - не дискримінувати людей на підставі академічного статусу, а також за національною, расовою, статевою чи іншою належністю;
 - відповідально ставитися до своїх обов'язків, вчасно та сумлінно виконувати необхідні навчальні та науково-дослідницькі завдання;
 - запобігати виникненню у своїй діяльності конфлікту інтересів, зокрема не використовувати службових і родинних зв'язків з метою отримання нечесної переваги в навчальній, науковій і трудовій діяльності;
 - не брати участі в будь-якій діяльності, пов'язаній із обманом, нечесністю, списуванням, фабрикацією;
 - не підроблювати документи;
 - не поширювати неправдиву та компрометуючу інформацію про інших здобувачів вищої освіти, викладачів і співробітників;
 - не отримувати і не пропонувати винагород за несправедливе отримання будь-яких переваг або здійснення впливу на зміну отриманої академічної оцінки;
 - не залякувати й не проявляти агресії та насильства проти інших, сексуальні домагання;
 - не завдавати шкоди матеріальним цінностям, матеріально-технічній базі університету та особистій власності інших студентів та/або працівників;
 - не використовувати без дозволу ректорату (деканату) символіки університету в заходах, не пов'язаних з діяльністю університету;
 - не здійснювати і не заохочувати будь-яких спроб, спрямованих на те, щоб за допомогою нечесних і негідних методів досягати власних корисних цілей;
 - не завдавати загрози власному здоров'ю або безпеці іншим студентам та/або працівникам.

УСВІДОМЛЮЮ, що відповідно до чинного законодавства у разі недотримання Кодексу академічної доброчесності буду нести академічну та/або інші види відповідальності й до мене можуть бути застосовані заходи дисциплінарного характеру за порушення принципів академічної доброчесності.

_____ (дата)

_____ (підпис)

_____ Садлівська Юлія
(ім'я, прізвище)

