

Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»

Кафедра биологической химии

Авторы:

О.С. Логвинович, заведующий кафедрой, к.б.н.

А.Н. Коваль, доцент, к.б.н., доцент

А.В. Литвинчук, к.х.н.

М.В. Громыко, старший преподаватель

А.А. Шихалова, преподаватель

Е.М. Белоус, преподаватель

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

для проведения лабораторного занятия
по учебной дисциплине «Биологическая химия»

для студентов

2-го курса факультета иностранных студентов (ФИС русс),
обучающихся по специальности 7-07-0911-01 «Лечебное дело»

Тема: Ферменты 3. Медицинская энзимология

Время: 4 часа

Утверждены на заседании кафедры биологической химии
(протокол от 29.08.2025 № 10)

Гомель, 2025

1. УЧЕБНЫЕ И ВОСПИТАТЕЛЬНЫЕ ЦЕЛИ, МОТИВАЦИЯ ДЛЯ УСВОЕНИЯ ТЕМЫ, ТРЕБОВАНИЯ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ ЗНАНИЙ

Ферменты находят самое широкое применение в медицинской практике. Изменения их функционирования является причиной возникновения патологии. Они используются как маркеры различных заболеваний, а также как лекарственные препараты.

Цель занятия: сформировать представления об основных аспектах и проблемах медицинской энзимологии. Воспитать у студентов чувство гордости за избранную профессию и сформировать у них культуру бережного отношения к своему здоровью.

Задачи занятия: научиться определять активность креатинкиназы в плазме крови и оценивать ее диагностическую значимость. Воспитать у студентов чувство гордости за избранную профессию и сформировать у них культуру бережного отношения к своему здоровью.

Требования к исходному уровню знаний:

Студент должен знать:

- 1.1. Структуру ферментов.
- 1.2. Механизме действия ферментов.
- 1.3. Основные факторы, влияющие на скорость ферментативных реакции.
- 1.4. Причины мутаций ДНК.

Студент должен уметь:

- 1.5. Работать с полуавтоматическим биохимическим анализатором или спектрофотометром.
- 1.6. Работать с микропипетками.

2. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ИЗ СМЕЖНЫХ ДИСЦИПЛИН

Строение и функции клетки. Основные отличия животных и растительных клеток (гистология, биология).

2.1. Структура и функции отдельных органелл, их роль в процессах жизнедеятельности клетки (гистология, биология).

3. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

Аллостерическая регуляция активности ферментов. Свойства аллостерических ферментов.

3.1. Изоферменты, их биологическая роль. Локализация ферментов в клетке. Маркерные и органоспецифические ферменты. Характеристика изоформ лактатдегидрогеназы. Характеристика изоформ КФК.

3.2. Энзимопатии: классификация, степень клинических проявлений, причины возникновения, примеры энзимопатий.

3.3. Энзимодиагностика. Принципы, объекты и задачи энзимодиагностики. Использование ферментов в энзимодиагностике.

3.4. Энзимотерапия. Использование ферментов для заместительной терапии.

4. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ ЗАНЯТИЯ

Лабораторная работа №1 «Количественное определение активности амилазы мочи по Вольгемуту» (выполняется теоретически). Лабораторная работа №2 «Определение активности креатинкиназы в плазме крови» (выполняется практически).

5. ХОД ЗАНЯТИЯ

5.1 Введение.

5.2 Теоретическая часть занятия.

5.3 Практическая часть занятия: Лабораторная работа №1 «Количественное определение активности амилазы мочи по Вольгемуту» (выполняется теоретически). Лабораторная работа №2 «Определение активности креатинкиназы в плазме крови» (выполняется практически).

Лабораторные работы выполняются согласно изданию «Биологическая химия: рабочая тетрадь для студентов 2 курса, обучающихся по специальностям «Лечебное дело», «Медико-диагностическое дело» : в 2 ч., / М.В.Громыко [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2024. – Ч.1. – 97 с.

5.4 Контроль усвоения темы.

5.5 Заключительная часть занятия. Подведение итогов, проверка протоколов, объявление заданий к очередному занятию.

6. ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

Самоконтроль знаний по теме «Ферменты 3. Медицинская энзимология» осуществляется путём компьютерного тестирования с использованием платформы Moodle режим доступа: <https://dl.gsmu.by/course/view.php?id=81>

или с использованием учебно-методического пособия сборник тестовых заданий по биологической химии. В 2 ч. Ч.1: учеб.- метод. пособие для самостоятельной работы студентов 2 курса всех фак. мед. вузов / М-во здравоохранения РБ, УО «ГомГМУ», Каф. общей, биоорганической и биологической химии; А. И. Грицук [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2019. – стр. 79-83. - режим доступа: <https://elib.gsmu.by/handle/GomSMU/3658>

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия : учебник / под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – стр. 29-42 - режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970448816.html> – Дата доступа: 20.05.2024.

2. Схемы и реакции основных метаболических путей : учеб.-метод. пособие для студентов учреждений высш. образования, обучающихся по специальностям 1-79 01 01 "Лечеб. дело", 1-79 01 04 "Мед.-диагност. дело" / М-во здравоохранения РБ, УО "ГомГМУ", Каф. общей, биоорганической и биологической химии ; А.И. Грицук [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2018. – 127 с. – Рек. УМО по высш. мед., фармацевт. образованию. Стр. 11-14, режим доступа: <http://elib.gsmu.by/handle/GomSMU/9190> – Дата доступа: 20.05.2024.

3. Сборник тестовых заданий по биологической химии. В 2 ч. Ч.2 :

учеб.-метод. пособие для самостоятельной работы студентов 2 курса всех фак. мед. вузов / М-во здравоохранения РБ, УО "ГомГМУ", Каф. общей, биорганической и биологической химии ; А. И. Грицук [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2019. – стр. 5-29- режим доступа: <https://gsmu.by/upload/file/kafedra%20studentu/biohimia/6-1.pdf> – Дата доступа: 20.05.2024.

4. <https://www.clutchprep.com/biochemistry/allosteric-regulation>

5. https://en.wikipedia.org/wiki/Monod-Wyman-Changeux_model

6. Биохимия (общая, медицинская, фармакологическая): Курс лекций / Е.Г. Зезеров. – М. : ООО «Издательство «Медицинское информационное агенство», 2014. – 456 с.

7. Биологическая химия: учебник / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович; под ред. А.Д.Тагановича. – Минск: Асар, М.: Издательство БИНОМ, 2008. – 688 с. – Режим доступа: https://kingmed.info/knigi/Biohimia/book_1866/Biologicheskaya_himiya-Kuhta_VK_Morozkina_TS_Taganovich_AD-2008-pdf - Дата доступа: 20.05.2024.

8. Фармацевтическая биохимия : учеб. пособие / А.Д. Таганович, Е.А. Девина, Э.И. Олецкий ; под общ. ред. А.Д. Тагановича. – Минск : Новое знание, 2019. – 663с.

9. Бркич, Г. Э. Перспективы применения производных 3,7-диазабицикло[3.3.1] нонана для коррекции нейродегенеративных состояний / Г. Э. Бркич, Н. В. Пятигорская, О. А. Зырянов // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 22-28. – DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-4-22-28. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42803900> – Дата доступа: 20.05.2024.

10. Парнова, Р. Г. GPR40/FFA1-рецепторы свободных жирных кислот и их функциональная роль / Р. Г. Парнова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2020. – Т. 106. – № 5. – С. 584-600. – DOI 10.31857/S0869813920050088. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42810029> – Дата доступа: 20.05.2024.

11. Шпаков, А. О. Эндогенные и синтетические регуляторы периферических звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадной и -тиреоидной осей / А. О. Шпаков // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2020. – Т. 106. – № 6. – С. 696-719. – DOI 10.31857/S0869813920060126. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42964206> – Дата доступа: 20.05.2024.

12. Иммунная система в этиологии и патогенезе острого периода травматической болезни и инфекционных осложнений травматической болезни / А. В. Кривенцов, А. А. Кокорина, В. С. Сидорин [и др.] // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39. – № S3-5. – С. 57-60. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44386292> – Дата доступа: 20.05.2024.

13. CASBench: эталонный набор белков с аннотированными каталитическим и аллостерическим сайтами в их структурах / А. С. Злобин, Д. А. Суплатов, К. Е. Копылов, В. К. Швядас // Acta Naturae (русскаяязычная

версия). – 2019. – Т. 11. – № 1(40). – С. 74-80. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41176494> – Дата доступа: 20.05.2024.

14. Башарина, О. В. Сорбция ферментов на клеточной мембране и субклеточных структурах: механизмы, биологическая роль (обзор) / О. В. Башарина, В. Г. Артюхов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2019. – Т. 19. – № 5. – С. 606-617. – DOI 10.17308/sorpchrom.2019.19/1176. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41355768> – Дата доступа: 20.05.2024.

15. Механизм нейропротекторного эффекта аллостерических модуляторов Ca^{2+} -активируемых k^{+} -каналов в нейронах первичной культуры мозжечка / Ю. Д. Степаненко, Т. В. Карелина, Д. А. Сибаров [и др.] // Биологические мембраны. – 2017. – Т. 34. – № 4. – С. 313-317. – DOI 10.7868/S0233475517040077. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29656283> – Дата доступа: 20.05.2024.

16. Результаты валидации нового метода определения активности α -амилазы человека для диагностики патологий поджелудочной железы / К. А. Черемисина, А. В. Барабошкина, Г. Е. Яковлева, Э. Ф. Аглетдинов // Сибирский научный медицинский журнал. – 2021. – Т. 41. – № 4. – С. 79-85. – DOI 10.18699/SSMJ20210411. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46448497> – Дата доступа: 20.05.2024.

17. Использование ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе для разделения изоферментов малатдегидрогеназы из гепатоцитов крыс в норме и при аллоксановом диабете / Н. В. Селиванова, А. В. Моисеенко, М. Ю. Бакарев, А. Т. Епринцев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2021. – Т. 21. – № 4. – С. 568-576. – DOI 10.17308/sorpchrom.2021.21/3641. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46675313> – Дата доступа: 20.05.2024.

18. Сутько, И. П. Роль изоформ цитохрома P450 эндоплазматического ретикулума гепатоцитов в метаболизме этанола / И. П. Сутько, И. Н. Семененя, А. Г. Шляхтун // Гепатология и гастроэнтерология. – 2021. – Т. 5. – № 2. – С. 132-137. – DOI 10.25298/2616-5546-2021-5-2-132-137. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47453847> – Дата доступа: 20.05.2024.

19. Эффективность лечения ларингофарингеального рефлюкса ингибиторами протонной помпы в зависимости от полиморфизма CYP2C19 / И. Б. Анготоева, Н. П. Денисенко, Д. А. Сычев [и др.] // Медицинский совет. – 2021. – № 21-2. – С. 35-43. – DOI 10.21518/2079-701X-2021-21-2-35-43. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47493452> – Дата доступа: 20.05.2024.

20. Рациональный выбор ингибитора протонной помпы у больных, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты / Е. Н. Карева, С. Ю. Сереброва, Н. В. Павлова, И. В. Долгалев // Трудный пациент. – 2020. – Т. 18. – № 4. – С. 17-20. – DOI 10.24411/2074-1995-2020-10024. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43180535> – Дата доступа: 20.05.2024.

21. Золотарев, А. Д. Значение полиморфизма генов биотрансформации в выборе антитирозинкиназной терапии при хроническом миелоидном лейкозе / А. Д. Золотарев, А. С. Поляков, С. Н. Колубаева // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 1. – № S1. – С. 56-58. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43836428> – Дата доступа: 20.05.2024.

22. Чаулин, А. М. Кардиоспецифические изоформы тропонинов как биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний / А. М. Чаулин // Оригинальные исследования. – 2021. – Т. 11. – № 6. – С. 90-98. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46490523> – Дата доступа: 20.05.2024.

23. Определение активности изоформ пируваткиназы в норме, при токсическом повреждении и в процессе регенерации печени / А. Г. Скуратов, А. Н. Лызилов, А. С. Шафорост [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2021. – Т. 18. – № 3. – С. 116-123. – DOI 10.51523/2708-6011.2021-18-3-14. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46596106> – Дата доступа: 20.05.2024.

24. Роль новой изоформы ALK в диагностике и таргетной терапии меланомы кожи / К. С. Титов, А. А. Маркин, А. М. Казаков, С. В. Чулкова // Российский биотерапевтический журнал. – 2021. – Т. 20. – № 4. – С. 33-41. – DOI 10.17650/1726-9784-2021-20-4-33-41. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47281859> – Дата доступа: 20.05.2024.

25. Котова, П. Д. Изоформы P13-киназы в пуринаргических мезенхимных стромальных клетках / П. Д. Котова, М. Ф. Быстрова // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37. – № 2. – С. 156-160. – DOI 10.31857/S0233475520020073. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42366332> – Дата доступа: 20.05.2024.

26. Ранние изменения энергетического метаболизма, изоформного состава и уровня фосфорилирования титина при диастолической дисфункции / В. Л. Лакомкин, А. А. Абрамов, И. М. Студнева [и др.] // Кардиология. – 2020. – Т. 60. – № 2. – С. 4-9. – DOI 10.18087/cardio.2020.3.n531. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42748789> – Дата доступа: 20.05.2024.

27. Слесаренко, Я. С. Клинические исследования для лечения наследственных заболеваний методами геномного редактирования / Я. С. Слесаренко, А. В. Лавров, С. А. Смирнихина // Гены и Клетки. – 2020. – Т. 15. – № 2. – С. 51-57. – DOI 10.23868/202004023. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44142783> – Дата доступа: 20.05.2024.

28. Байгишиева, Н. Д. Фенотипические проявления сочетания серповидноклеточной анемии с альфа-талассемией / Н. Д. Байгишиева, Н. В. Багомедова, А. А. Байгишиева // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2019. – Т. 24. – № 1. – С. 47-50. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41209572> – Дата доступа: 20.05.2024.

29. Клинико-генетические аспекты альбинизма / В. В. Кадышев, С. А. Ряжская, О. В. Халанская [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2021. – Т. 21. – № 3. – С. 175-180. – DOI 10.32364/2311-7729-2021-21-3-175-180. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46550726> – Дата доступа:

20.05.2024.

30. Жигалева, Е. О. Врожденные нарушения пигментации / Е. О. Жигалева, С. И. Нагдимаева // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2017. – Т. 7. – № 6. – С. 967. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29981285> – Дата доступа: 20.05.2024.

31. Качество жизни больных с алкаптонурией / А. В. Кузин, В. Н. Амирджанова, Е. М. Зайцева, Е. А. Долженкова // Научно-практическая ревматология. – 2021. – Т. 59. – № 1. – С. 93-96. – DOI 10.47360/1995-4484-2021-93-96. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=47150059> – Дата доступа: 20.05.2024.

32. Алкаптонурия - морфологические изменения тканей суставов. Обзор литературы и собственные наблюдения / С. Г. Раденска-Лоповок, А. А. Тимакова, А. В. Кузин, В. Ю. Мурылев // Архив патологии. – 2020. – Т. 82. – № 4. – С. 41-46. – DOI 10.17116/patol20208204141. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43175502> – Дата доступа: 20.05.2024.

33. Охроноз как причина вторичного остеоартроза / И. Б. Башкова, В. А. Кичигин, Р. Ш. Шаипов [и др.] // РМЖ. – 2017. – Т. 25. – № 7. – С. 474-480. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30121864> – Дата доступа: 20.05.2024.

34. Ведение детей с гликогеновой болезнью (нозологические формы с поражением печени). Современные клинические рекомендации / А. А. Баранов, Л. С. Намазова-Баранова, А. Н. Сурков [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2020. – Т. 17. – № 4. – С. 303-317. – DOI 10.15690/pf.v17i4.2159. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43954612> – Дата доступа: 20.05.2024.

35. Проблемы своевременной диагностики и лечения болезни Помпе / С. Т. Кизатова, А. Л. Абылкасымова, С. а. Баймаганбет [и др.] // Наука и образование сегодня. – 2019. – № 12(47). – С. 81-85. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41658127> – Дата доступа: 20.05.2024.

36. Емельянова, О. Н. Клиническое наблюдение детей с гликогенозами / О. Н. Емельянова, И. И. Петрухина, Н. Н. Боровик // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2018. – Т. 20. – № 12. – С. 189-192. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=36545767> – Дата доступа: 20.05.2024.

37. Особенности нутритивного статуса у пациентов с печеночными формами гликогеновой болезни / И. В. Прохорова, Т. В. Строкова, М. Э. Багаева [и др.] // Вопросы детской диетологии. – 2018. – Т. 16. – № 6. – С. 5-15. – DOI 10.20953/1727-5784-2018-6-5-15. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37008505> – Дата доступа: 20.05.2024.

38. Леонтьева, И. В. Дифференциальная диагностика гипертрофической кардиомиопатии / И. В. Леонтьева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62. – № 3. – С. 20-31. – DOI 10.21508/1027-4065-2017-62-3-20-31. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29432247> – Дата доступа: 20.05.2024.

39. Родственная пересадка фрагментов печени при гликогенозах I

типа: первый российский опыт / А. В. Филин, А. В. Семенов, Н. А. Коротеева [и др.] // Трансплантология. – 2011. – № 2-3. – С. 24-28. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29947651> – Дата доступа: 20.05.2024.

40. Терехина, Н. А. Энзимодиагностика осложнений офтальмогерпеса / Н. А. Терехина, С. Э. Реук // Медицинский алфавит. – 2020. – № 5. – С. 50-53. – DOI 10.33667/2078-5631-2020-1-5(419)-50-53. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43028424> – Дата доступа: 20.05.2024.

41. Энзимодиагностика в спортивной практике (обзор литературы и собственный опыт) / С. Е. Бакулев, В. В. Дорофейков, Н. Д. Гольберг [и др.] // Человек. Спорт. Медицина. – 2020. – Т. 20. – № 3. – С. 15-24. – DOI 10.14529/hsm200302. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=44077196> – Дата доступа: 20.05.2024.

42. Литвинко, Н. Биокатализаторы и молекулярная диагностика / Н. Литвинко // Наука и инновации. – 2017. – № 11(177). – С. 57-63. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=32555984> – Дата доступа: 20.05.2024.

43. Стернин, Ю. И. Ключевые вопросы фармакологии системной энзимотерапии / Ю. И. Стернин // Znanstvena Misel. – 2020. – № 41-1(41). – С. 6-10. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42740770> – Дата доступа: 20.05.2024.

44. Роль энзимотерапии в лечении хронических инфекционных процессов нижних мочевых путей и урогенитальной области у женщин / Т. И. Деревянко, К. А. Папикова, Э. В. Рыжкова [и др.] // Вестник молодого ученого. – 2020. – Т. 9. – № 2. – С. 65-68. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43117399> – Дата доступа: 20.05.2024.

45. Казыбаева, А. С. Системная энзимотерапия в лечении хронического эндометрита у пациенток с нарушением репродуктивной функции / А. С. Казыбаева // Медицина (Алматы). – 2019. – № 10-11(208-209). – С. 48-55. – DOI 10.31082/1728-452X-2019-208-209-10-11-48-55. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42804811> – Дата доступа: 20.05.2024.

46. Проценко, О. А. Опыт лечения больных ранними формами сифилиса с применением системной энзимотерапии / О. А. Проценко // Торсуевские чтения: научно-практический журнал по дерматологии, венерологии и косметологии. – 2019. – № 4(26). – С. 20-23. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42847790> – Дата доступа: 20.05.2024.

47. Рахманова, Л. К. Эффективность системной энзимотерапии при хроническом гломерулонефрите у детей с лимфатическим диатезом / Л. К. Рахманова, И. Р. Искандарова, С. А. Мирзалиева // Детская медицина Северо-Запада. – 2018. – Т. 7. – № 1. – С. 273-274. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=35646809> – Дата доступа: 20.05.2024.

48. Грунина, О. С. Энзимотерапия в лечении бронхопневмонии у детей / О. С. Грунина, Р. Н. Тахирова // Medicus. – 2018. – № 1(19). – С. 37-38. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=38593716> – Дата доступа: 20.05.2024.

49. Богданец, Л. И. Влияние системной энзимотерапии на заживление венозных трофических язв / Л. И. Богданец, И. М. Васильев // Медицинский совет. – 2017. – № 11. – С. 189-193. – DOI 10.21518/2079-701X-2017-11-189-193. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29430549> – Дата доступа: 20.05.2024.