

IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

Catedra de biochimie și biochimie clinică

BIOCHIMIE

Ghid de lucrări practice pentru studentii anului I ai facultății Medicina preventivă

Student _____

Grupa _____

Profesor _____

Chișinău 2020

CUPRINS:

Reguli privind protecția muncii și asigurarea securității în laboratoarele de biochimie ...	3
Cerințele față de studenți la Catedra de biochimie și biochimie clinică	5

Indicația metodică nr. 1

Tema: Natura chimică și structura enzimelor. Coenzimele. Vitaminele în calitate de coenzime .. 6

Indicația metodică nr. 2

Tema : Proprietățile fizico-chimice. Mecanismul de acțiune al enzimelor. Nomenclatura și clasificarea enzimelor 9

Indicația metodică nr. 3

Tema: Cinetica reacțiilor enzimatiche. Reglarea activității enzimatiche 11

Indicația metodică nr. 4

Totalizare la capitolul “Enzimele” 15

Indicația metodică nr. 5

Tema: Noțiuni generale despre metabolism. Bioenergetica 16

Indicația metodică nr. 6

Tema: Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic. Ciclul Krebs 18

Indicația metodică nr. 7

Tema: Oxidarea biologică. Lanțul respirator. Fosforilarea oxidativă. Oxidarea microzomală. Noțiuni de stres oxidativ 23

Indicația metodică nr. 8

Tema: Digestia și absorbția glucidelor. Metabolismul glicogenului 26

Indicația metodică nr. 9

Tema: Metabolismul glucozei 29

Indicația metodică nr. 10

Tema: Calea pentozofosfaților. Metabolismul fructozei și galactozei. Reglarea și patologia metabolismului glucidic 33

Indicația metodică nr. 11

Totalizare la capitolele: „Bioenergetica” și „Metabolismul glucidelor” 35

Indicația metodică nr. 12

Tema: Digestia și absorbția lipidelor. Resinteza lipidelor. Lipoproteinele plasmatiche. Metabolismul trigliceridelor 36

Indicația metodică nr. 13

Tema: Metabolismul acizilor grași. Corpii cetonici 38

Indicația metodică nr. 14

Tema: Metabolismul lipidelor structurale. Reglarea și patologia metabolismului lipidelor 42

Indicația metodică nr. 15

Totalizare la capitolul “Metabolismul lipidelor” 44

Reguli privind protecția muncii și asigurarea securității în laboratoarele de biochimie

1. Întregul personal și studenții, trebuie să cunoască și să respecte regulile de protecția muncii și asigurarea securității, pentru prevenirea accidentelor de muncă.
2. Tot personalul care lucrează în laboratoarele de biochimie este obligat să poarte halate albe curate.
3. Aparatele electrice (centrifugă, termostate, frigidere, spectrofotometru etc.) trebuie să aibă prizele cu împământare și izolare electrică perfectă. Fixarea lor în priză se face numai cu mâna uscată.
4. Înainte de începerea oricărei lucrări de laborator trebuie însușite tehnic problemele teoretice.
5. Toate reacțiile chimice se execută în conformitate cu condițiile prescrise (cantitatea, concentrația, vesela, etc.).
6. Masa de lucru se păstrează într-o ordine și curățenie exemplară.
7. Nu se execută nici o operație în vase murdare.
8. După întrebuințare toate vasele de laborator se spală cu apă de robinet și cu apă distilată.
9. Nu se aglomerează masa cu vase și aparate inutile, pe masă se pun numai reactivii și vesela necesară pentru lucrarea respectivă.
10. Sticlele cu reactivi să fie întotdeauna închise cu dop. Dacă se folosesc diferiți reactivi trebuie de avut grijă să nu se schimbe dopurile. Excesul luat dintr-un reactiv nu trebuie turnat înapoi în sticlă.
11. Încăperea unde se prepară acizii minerali, apa de brom, solvenții organici trebuie să fie prevăzută cu nișă, exhaustor și ventilație electrică.
12. Înainte de folosirea unor substanțe inflamabile (sulfură de carbon, benzină, eter, etc.) se sting toate becurile de gaz.
13. Fiecare laborator trebuie să fie dotat cu extincător, să se facă instructaj periodic de utilizarea extincătorului și să fie precizată o echipă care să intervină în caz de incendiu.
14. Evaporarea solvenților inflamabili se va face numai pe băi de nisip sau băi de apă electrice, sub nișe.
15. Trebuie să se lucreze cu mare precauție cu metalele alcaline, fosfor, brom, clor, acid azotic, substanțe toxice și inflamabile.
16. Pipetarea produselor biologice se face cu pipete prevăzute cu filtru de vată.
17. Pipetarea acizilor concentrați și bazelor se face cu pipetă cu volum mai mare decât volumul de pipetat și prevăzute cu filtru de vată.
18. Acidul sulfuric diluat se prepară prin turnarea acidului sulfuric concentrat în vasul cu apă și nu invers.
19. În timpul încălzirii unei eprubete care conține un lichid capătul deschis al eprubetei nu se tine spre cel care efectuează operația și nici spre vecini.
20. Nu se lasă substanțe în vase neetichetate.
21. Substanțele toxice se țin sub cheie și în borcane sau sticle prevăzute cu etichete cu cap de mort.
22. Este strict interzisă gustarea reactivilor deoarece majoritatea substanțelor chimice folosite sunt toxice sau caustice.
23. Mirosirea substanțelor chimice nu se face prin apropierea nasului direct la gâtul sticlei cu reactivi, ci prin aducerea unui curent de aer care conține vapori ai substanțelor de la gâtul sticlei

cu ajutorul palmei în apropierea nasului.

24. Când se lucrează cu substanțe care în cursul operației se pot împrăști sau se pot produce mici explozii, se folosesc ochelari de protecție.
25. Tuburile de oxigen, bioxid de carbon și azot lichid se depozitează, în afara laboratorului. Când sunt strict necesare anumitor operații în laborator ele se ancorează cu lanț în locuri anume prevăzute.
26. Cromatografia și electroforeza se efectuează în încăperi izolate de restul laboratorului și prevăzute cu ventilatoare electrice.
27. În legătură cu lucrarea practică efectuată se notează toate observațiile precum și schița instalației folosite.
28. Acizii minerali și hidroxizii concentrați, hârtiile și eprubetele sparte nu se aruncă în chiuvete.
29. După terminarea lucrării practice, se pun toate vasele la loc, se curăță masa și se controlează dacă aparatura electrică a fost scoasă din prize și robinetele de apă și gaz închise.
30. Fiecare laborator trebuie să fie dotat cu o trusă de prim ajutor care să conțină medicamente și material sanitar strict necesar (antinevralgice, cardiotonice, antibiotice, antiseptice, calmante, tifon etc.).
31. Este interzisă păstrarea alimentelor în frigider cu produse biologice, pentru a evita pericolul de infectare.
32. Este necesar ca măsurile de protecția muncii, asigurarea securității, prevenirea toxicității să fie prelucrate cu fiecare grupă de studenți la începutul activității anului universitar și reamintite periodic.
33. În cazul unor accidente se va apela la conducătorul lucrării.

CERINȚELE FAȚĂ DE STUDENȚI

la Catedra de biochimie și biochimie clinică

În conformitate cu carta universității și codul moral toți studenții sunt obligați să respecte următoarele reguli:

1. Să îndeplinească toate sarcinile care le revin potrivit planului de învățământ și curriculumului disciplinei Biochimie.
2. Să se informeze prompt asupra a ceea ce li se aduce la cunoștință prin avizierul plasat pe pagina catedrei – www.biochimia.usmf.md.
3. Frecvența la curs și lucrările de laborator este obligatorie.
4. Studenții se prezintă la orele de curs și lucrări de laborator fără întârziere, în halate (nu se admit costume chirurgicale), cu toate rechizitele necesare și temele pregătite.
5. Studenții se prezintă la lucrările de laborator cu Ghidul pentru lucrări practice îndeplinit.
6. Semnarea procesului verbal al lucrării de laborator este obligatorie și atestă îndeplinirea părții practice. În cazul nesemnării procesului verbal, partea practică a orei se recuperează conform orarului recuperării restanțelor practice (absențelor).
7. Absențele la lucrările de laborator se recuperează numai cu permisiunea vice-decanului. La recuperare studentul se prezintă ca la orele de lucrări practice: cu proces verbal, testele și itemii pentru lucru individual rezolvați, tema învățată.
8. Studenții sunt obligați:
 - să folosească cu grijă bunurile materiale existente în spațiul catedrei, să păstreze utilajul și mobilierul, să le întrețină în stare bună. Prejudiciile constând în deteriorarea sau distrugerea bunurilor se vor recupera, conform procedurii legale, de la cei care le-au produs;
 - să urmeze întocmai regulile tehnicii securității în laboratorul biochimic;
 - să păstreze ordinea și curățenia în incintă catedrei;
 - să păstreze liniștea în incintă catedrei;
 - în sezonul rece al anului hainele (paltoane, scurte) se lasă la vestiar.
9. În timpul cursului sau lucrării de laborator este interzisă folosirea telefoanelor mobile cât și utilizarea diverselor mijloace tehnice (laptop-urilor; iPad-urilor, etc).
10. Responsabil de disciplină în timpul lucrărilor practice este studentul de serviciu.
11. De a respecta drepturile de autor ale altor persoane și de a recunoaște paternitatea informațiilor prezentate în lucrările elaborate.

Indicația metodică nr. 1

Tema: Natura chimică și structura enzimelor. Coenzimele. Vitaminele în calitate de coenzime

Experiența 1. Identificarea vitaminelor B₁, B₂, B₆ și PP (B₅)

Identificarea vitaminei B₁ (tiaminei)

Principiul metodei: Tiamina în mediul alcalin formează cu diazoreactivul un compus complex de culoare oranj.

Mod de lucru: La 5 picături de diazoreactiv (care constă din volume egale de soluție de acid sulfanilic 1% și soluție de nitrit de sodiu 5%), se adaugă 1-2 picături lichid biologic cercetat. Înclinând eprubeta se picură atent pe pereții ei 5-7 picături de sol. 10% carbonat de sodiu (Na₂CO₃). În prezența tiaminei la hotarul dintre lichide apare un inel colorat în oranj.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Identificarea vitaminei B₂ (riboflavinei)

Principiul metodei: Vitamina B₂ posedă proprietatea de a se reduce. În formă oxidată vitamina are culoare galbenă, la începutul reacției de reducere are culoare roză, care în cele din urmă se decolorează, deoarece forma redusă a vitaminei este incoloră.

Mod de lucru: Într-o eprubetă se iau 10 picături de lichid biologic cercetat, se adaugă 5 picături de acid clorhidric concentrat și o granulă de zinc metalic. În prezența riboflavinei se observă degajarea bulelor de hidrogen, lichidul galben se colorează treptat în roz, după care se decolorează.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Identificarea vitaminei PP (B₅)

Principiul metodei: La interacțiunea vitaminei PP cu acetatul de cupru se formează un precipitat albastru al sării de cupru a acidului nicotinic.

Mod de lucru: Se agită soluția de acetat de cupru 5% și se adaugă 20 picături lichid biologic cercetat. Eprubeta se încălzește până la fierbere și după aceea se răcește într-un jet de apă rece. În prezența nicotinamidei la fundul eprubetei se depune un precipitat de culoare albastră de sare de cupru a acidului nicotinic.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Identificarea vitaminei B₆ (piridoxinei)

Principiul metodei: Vitamina B₆ reacționând cu clorura de fier formează o sare complexă de tipul fenolatului de fier de culoare roșie.

Mod de lucru: La 5 picături de lichid biologic cercetat se adaugă un volum egal soluție de clorură de fier 1%. Amestecul se agită. În prezența piridoxinei apare o colorație roșie.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Întrebări pentru autopregătire

1. Noțiune despre enzime și rolul lor biologic. Asemănările și deosebirile dintre acțiunea enzimelor și a catalizatorilor nebiologici.
2. Natura chimică a enzimelor. Dovezile naturii proteice a enzimelor. Structura enzimelor. Centrul activ și centrul alosteric al enzimelor.
3. Enzimele simple și conjugate. Noțiune de holoenzimă, apoenzimă, cofactor, coenzimă, cosubstrat și grupă prostetică.

- Vitaminele ca coenzime. Structura vitaminelor B1, B2, PP și B6 și a coenzimelor lor. Caracteristica funcțională a coenzimelor date.
- Microelementele în calitate de cofactori.

Probleme de situație

- Explicați dacă e posibil de separat din enzime centrele active, păstrându-le integritatea structurală și funcțională.

- Completați tabelul conform exemplului:

Vitamina	Denumirea	Coenzima	Rolul biologic	Hipovitaminoza. Principalele semne clinice
Exemplu: B₁	Tiamina	Tiamin-pirofosfat (TPP)	1.Decarboxilarea oxidativă a α-cetoacizilor. 2.Reacții transcetolazice.	Beri-beri; depresie psihică, confuzie mentală, neuropatie periferică
B₂				
B₆				
PP				

- Scrieți câte un exemplu de reacții, în care participă coenzimele vitaminelor B₁, B₂, B₆, PP.

Teste pentru autoevaluare

1. Selectați afirmația corectă referitoare la centru activ (CA) al enzimelor:

- a) este o linie frântă în molecula enzimei
- b) reprezintă un plan în molecula proteică
- c) este un punct din structura terțiară a enzimei
- d) reprezintă locul de legare a modulatorilor alosterici
- e) este structură compusă unică tridimensională

2. Referitor la centrul activ (CA) al enzimelor sunt corecte afirmațiile:

- a) CA este partea enzimei care fixează substratul
- b) grupele funcționale din CA aparțin aminoacizilor amplasați succesiv în lanțul polipeptidic
- c) în holoenzime CA conține și coenzima
- d) CA al enzimelor simple conține coenzima
- e) CA se formează în baza structurii secundare

3. Indicați afirmațiile corecte referitoare la substrat:

- a) substratul este compusul asupra căruia acționează enzima
- b) toate enzimele fixează numai un singur substrat
- c) unele enzime interacționează cu câteva substraturi
- d) substratul se leagă ireversibil la centrul activ al enzimei
- e) substratul nu este modificat în procesul de cataliză

4. Referitor la centrul alosteric al enzimelor sunt corecte afirmațiile:

- a) este separat spațial de centrul activ
- b) conține gruparea prostetică
- c) este caracteristic tuturor enzimelor
- d) este „sinonim” cu centrul activ
- e) este locul în care se fixează activatorii și inhibitorii

5. Selectați funcția vitaminelor:

- a) energetică
- b) structurală
- c) de transport
- d) coenzimatică
- e) contractilă

6. Selectați compușii chimici care pot îndeplini funcția de coenzimă:

- a) nucleotidele
- b) proteinele
- c) hemul
- d) peptidele
- e) trigliceridele

7. Ce funcții îndeplinesc coenzimele în cadrul activității enzimatic?

- a) stabilizează conformația activă a enzimelor
- b) nemijlocit îndeplinesc funcție catalitică
- c) determină specificitatea de acțiune a enzimei
- d) leagă substratul la enzimă
- e) determină direcția reacției chimice

8. Selectați coenzimele care conțin adenzin-monofosfat:

- a) piridoxalfosfat
- b) FMN
- c) FAD
- d) NAD⁺
- e) tiamin-pirofosfat

9. Selectați coenzimele care participă la reacții de dehidrogenare:

- a) piridoxaminofosfat
- b) piridoxalfosfat
- c) tiamin-pirofosfat
- d) FAD
- e) NAD⁺

10. Selectați coenzima care participă la reacții de transfer a grupării amino:

- a) tiamin-pirofosfat
- b) FAD
- c) NADP⁺
- d) NAD⁺
- e) piridoxalfosfat

11. Selectați coenzimele enzimelor enumerate:

- a) dehidrogenaze
- b) aminotransferaze
- c) decarboxilaze ale aminoacizilor
- d) decarboxilaze ale alfa-cetoacizilor
- e) transcetolaze
- f) hidroxilaza prolinei
- tiamin-pirofosfat
- FAD
- NAD⁺
- piridoxalfosfat
- acidul ascorbic

12. Selectați microelementele care sunt necesare pentru activitatea următoarelor enzime:

- a) hexokinaza
- b) lipaza
- c) amilaza
- d) ADN-polimeraza
- Ca²⁺
- Mg²⁺
- Mn²⁺
- Cl⁻
- Zn²⁺

Indicația metodică nr. 2

**Tema : Proprietățile fizico-chimice. Mecanismul de acțiune al enzimelor.
Nomenclatura și clasificarea enzimelor**

1. Mecanismul de acțiune al enzimelor. Centrul activ al enzimelor și rolul lui în formarea și transformarea complexelor intermediare dintre enzimă și substrat. Rolul modificărilor conformaționale reciproce ale moleculei enzimei și substratului în procesul de cataliză.
2. Nomenclatura (denumirea) și clasificarea enzimelor. Caracteristica generală a claselor și subclaselor principale de enzime. Numărul de cod al enzimei.
3. Specificitatea enzimelor (tipurile, exemple).

Probleme de situație

1. La ce clasă și subclasă se referă următoarele enzime? Completați tabelul.

Enzima	Clasa	Subclasa
Pepsina		
Amilaza		
Lipaza		

2. Care este diferența dintre enzimele numite sintetaze și acelea numite sintaze?

3. Completați tabelul indicând clasa și subclasa enzimelor care catalizează reacțiile date:

Reacția	Clasa	Subclasa
$\text{Glucoză} + \text{ATP} \rightarrow \text{Glc-6-P} + \text{ADP}$		
$\text{CO}_2 + \text{Piruvat} + \text{ATP} \rightarrow \text{Oxaloacetat} + \text{ADP} + \text{Pi}$		
$\text{Glc-6-P} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glucoză} + \text{Pi}$		
$\text{Lactat} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{Piruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+$		
$\text{Fru-1,6-bisP} \rightarrow \text{Gliceraldehidă-3-P} + \text{Dioxiacetonfosfat}$		
$\text{Glucoză} \rightarrow \text{Galactoză}$		

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la mecanismul de acțiune a enzimelor sunt corecte afirmațiile:

- a) în procesul de cataliză are loc formarea complexului enzima-substrat [ES]
- b) complexul ES e o structura rigidă, stabilă
- c) complexul ES nu disociază
- d) enzimele scad energia de activare a reacției chimice
- e) formarea complexului ES este ultima etapă a mecanismului de acțiune a enzimei

2. Selectați afirmațiile corecte referitoare la mecanismul de acțiune a enzimelor:

- a) în complexul ES substratul nu se modifică
- b) în complexul ES substratul se deformează
- c) în cadrul activității enzimatică poate avea loc cataliza covalentă
- d) în cadrul activității enzimatică poate avea loc cataliza acido-bazică
- e) la interacțiunea substratului cu enzima se modifică atât structura enzimei, cât și a substratului

3. Selectați enzimele din clasa ligazelor:

- a) argininosuccinatliaza
- b) citratsintaza
- c) piruvatcarboxilaza
- d) glutaminsintetaza
- e) glucokinaza

4. Selectați enzimele care se referă la oxidoreductaze:

- a) fenilalaninhidroxilaza
- b) fumaraza
- c) xantinoxidaza
- d) glutationreductaza
- e) succinatdehidrogenaza

5. Selectați enzimele din clasa liazelor:

- a) fumaraza
- b) citratsintaza
- c) piruvatcarboxilaza
- d) glutaminsintetaza
- e) glucokinaza

6. Selectați enzimele din clasa transferazelor:

- a) argininosuccinatliaza
- b) citratsintaza
- c) piruvatcarboxilaza
- d) glutaminsintetaza
- e) glucokinaza

Indicația metodică nr. 3

Tema: Cinetica reacțiilor enzimatică. Reglarea activității enzimatică

Experiența 1. Determinarea activității α -amilazei urinare cu substrat stabil de amidon (metoda Caraway)

Principiul metodei: α -amilaza scindează amidonul cu obținerea produșilor finali care nu se colorează cu soluția de iod. Activitatea amilazei se apreciază după micșorarea cantității de amidon scindat.

Mod de lucru: Experiența se efectuează în eprubete calibrate de 10 mL!

Nr.	Reagent	Eprubeta de experiență	Eprubeta martor
1.	Soluție de amidon	1 mL (conține 0,0004 g amidon)	1 mL (conține 0,0004 g amidon)
2.	Incubare	5 minute în baia de apă la temperatura de 37°C	-
3.	Urină	0,02 mL	-
4.	Amestecul se agită și se introduce din nou în baia de apă la 37°C exact 7,5 minute (calculul timpului se face din momentul adăugării urinei)		
5.	Soluție de iod	1 mL	1 mL
6.	Urină	-	0,02 mL
7.	H ₂ O dist.	până la 10 mL	până la 10 mL
8.	Imediat se determină densitatea optică a soluțiilor din eprubeta de martor (E_m) și de experiență (E_{exp}) față de <u>apa distilată</u> la fotocolorimetru (filtrul roșu, $\lambda=630-690$ nm) în cuve de 10 mm.		

Calculul: în unități SI activitatea amilazei se exprimă în grame de amidon hidrolizat de cantitatea de enzimă care se conține într-un litru de urină timp de o oră de incubare la temperatura de 37°C. Calculul se face conform formulei:

$$\text{Activitatea amilazei (g/oră} \cdot \text{L)} = [(E_m - E_{exp}) / E_m] \cdot 0,0004 \cdot 8 \cdot 50000 =$$

$$= [(E_m - E_{exp}) / E_m] \cdot 160, \quad \text{unde:}$$

E_m – extincția probei martor;

E_{exp} – extincția probei de experiență;

0,0004 – cantitatea de amidon în probă (g);

8 – coeficientul de transformare la o oră de incubare (60 min : 7,5 min = 8);

50000 – coeficientul de transformare la 1 L de urină (1000 mL : 0,02 mL = 50000).

Valorile normale ale activității amilazei din urină – 20-160 g/oră · L.

Valoarea diagnostică. În pancreatitele acute și parotitele epidemice se observă creșteri importante ale α -amilazei în sânge și urină. Creșteri moderate se depistează în pancreatitele cronice, litiază pancreatică, tumori ale pancreasului, litiază biliară, ulcerul gastric, insuficiența renală cronică și, uneori, după administrarea de opiacee (morfina, codeina, papaverina etc.).

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Întrebări pentru autopregătire

1. Cinetica enzimatică. Influența concentrației enzimei și a substratului, a pH-ului și a temperaturii asupra activității enzimaticice.
2. Principiul determinării activității enzimelor. Unitățile de activitate a enzimelor (unitatea internațională, katalul).
3. Activarea și inhibiția enzimelor:
 - a) Activarea enzimelor prin proteoliza limitată. Zimogenii (proenzimele).
 - b) Inhibiția activității enzimelor (specifică și nespecifică, reversibilă și ireversibilă, competitivă și necompetitivă).
4. Reglarea activității enzimelor (reglarea alosterică, reglarea covalentă). Importanța principiului de retroinhibiție.
5. Izoenzimele – particularitățile structurale și funcționale, valoarea lor biomedicală.
6. Utilizarea enzimelor în practica medicală: enzimodiagnosticul, enzimoterapia, utilizarea enzimelor în laborator.

Probleme de situație

1. Explicați de ce enzimele proteolitice gastrice și pancreatice se produc și se secretă în formă de proenzime neactive? Care este mecanismul activării lor?

2. Unele enzime posedă structură și proprietăți fizico-chimice diferite, dar catalizează aceeași reacție. Frecvent ele sunt proteine oligomere formate din monomeri diferiți. Acestea sunt: enzimele alosterice, izoenzimele sau proenzimele? Dați exemple de asemenea enzime și explicați care este valoarea lor clinico-diagnostică.

3. Ce mecanism de acțiune posedă sulfanilamidele? De ce depinde eficiența tratamentului cu aceste medicamente? Explicați.

4. Importanța clinico-diagnostică a determinării activității lactatdehidrogenazei (LDH) în serul sangvin. Care sunt izoenzimele LDH? Activitatea căror izoforme ale LDH crește în afecțiunile ficatului și ale miocardului?

Scrieți reacția catalizată de lactatdehidrogenază.

5. Valoarea clinico-diagnostică a determinării activității amilazei în serul sangvin și în urină? Ce reacție catalizează amilaza? Care este sediul de sinteză și de acțiune a amilazei?

6. În cazurile de intoxicație cu etilenglicol (antigel) sau metanol în calitate de antidot se administrează alcool etilic. Explicați care este scopul administrării etanolului.

Scrieți reacțiile de transformare a etanolului, etilenglicolului și metanolului sub acțiunea alcool dehidrogenazei și numiți produsele reacțiilor.

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la influența pH-ului asupra activității enzimelor sunt corecte afirmațiile:

- a) fiecare enzimă are pH-ul său optimal de acțiune
- b) pH-ul optim pentru pepsină este 7-8
- c) pH-ul nu modifică activitatea catalitică a enzimei
- d) pH-ul optim al tripsinei este 1-2
- e) pH-ul influențează disocierea grupelor funcționale ale enzimei

2. Selectați afirmațiile corecte referitoare la termolabilitatea enzimelor:

- a) la temperatura mai înaltă de 50⁰C majoritatea enzimelor denaturează
- b) termolabilitatea e determinată de coenzimă
- c) temperatura optimală pentru majoritatea enzimelor este de 20-40⁰ C
- d) la temperatura mai înaltă de 50⁰C activitatea majorității enzimelor crește
- e) la temperatură scăzută, mai joasă de 10⁰ C, activitatea enzimelor nu se modifică

3. Referitor la inhibiția competitivă este corectă afirmația:

- a) inhibitorul se aseamănă după structură cu substratul
- b) e posibilă simultan fixarea substratului și a inhibitorului
- c) fixarea inhibitorului nu afectează legarea substratului
- d) la inhibiția competitivă valoarea K_M nu se modifică
- e) inhibitorul se leagă în centrul alosteric

4. Referitor la inhibiția necompetitivă este corectă afirmația:

- a) inhibitorul se leagă la substrat
- b) inhibitorul este analog structural al substratului
- c) inhibiția poate fi înlăturată prin exces de substrat
- d) la inhibiția necompetitivă se formează complexul triplu ESI
- e) la inhibiția necompetitivă se formează complexe ES și EI

5. Referitor la enzimele alosterice este corectă afirmația:

- a) cinetica reacțiilor alosterice e asemănătoare cu cea a enzimelor obișnuite
- b) efectorii fixându-se în centrele alosterice nu modifică conformația enzimei
- c) modulatorii se leagă covalent în centrul activ al enzimei
- d) substraturile și produsele reacției enzimatică nu pot fi efectori alosterici
- e) modulatorii alosterici se leagă reversibil în centrele alosterice

6. Selectați mecanismele de reglare a activității enzimelor:

- a) reglarea neconcurrentă
- b) modificarea covalentă (fosforilare/defosforilare)
- c) autoasamblarea structurii secundare
- d) reglarea alosterică
- e) reglarea concurrentă

7. Referitor la amilază și activitatea ei sunt corecte afirmațiile:

- a) enzima face parte din clasa hidrolazelor
- b) activitatea amilazei crește în sânge în miozită
- c) activitatea amilazei se mărește în sânge în pancreatite
- d) enzima este sintetizată de celulele stomacului
- e) amilaza scindează celuloza

Indicația metodică nr. 4

Totalizare la capitolul "Enzimele"

1. Noțiune despre enzime și rolul lor biologic. Asemănările și deosebirile dintre acțiunea enzimelor și a catalizatorilor nebiologici.
2. Natura chimică a enzimelor. Dovezile naturii proteice a enzimelor. Structura enzimelor. Centrul activ și centrul alosteric al enzimelor.
3. Enzimele simple și conjugate. Noțiune de holoenzimă, apoenzimă, cofactor, coenzimă, cosubstrat și grupă prostetică.
4. Mecanismul de acțiune al enzimelor. Centrul activ al enzimelor și rolul lui în formarea și transformarea complexelor intermediare dintre enzimă și substrat. Rolul modificărilor conformaționale reciproce ale moleculei enzimei și substratului în procesul de cataliză.
5. Nomenclatura (denumirea) și clasificarea enzimelor. Caracteristica generală a claselor și subclaselor principale de enzime. Numărul de cod al enzimei.
6. Specificitatea enzimelor (tipurile, exemple).
7. Cinetica enzimatică. Influența concentrației enzimei și a substratului, a pH-ului și a temperaturii asupra activității enzimaticice.
8. Principiul determinării activității enzimelor. Unitățile de activitate a enzimelor (unitatea internațională, katalul).
9. Activarea și inhibiția enzimelor:
 - a) Activarea enzimelor prin proteoliza limitată. Zimogenii (proenzimele).
 - b) Inhibiția activității enzimelor (specifică și nespecifică, reversibilă și ireversibilă, competitivă și necompetitivă).
10. Reglarea activității enzimelor (reglarea alosterică, reglarea covalentă). Importanța principiului de retroinhibiție.
11. Izoenzimele – particularitățile structurale și funcționale, valoarea lor biomedicală.
12. Utilizarea enzimelor în practica medicală: enzimodiagnosticul, enzimoterapia, utilizarea enzimelor în laborator.
13. Vitaminele B₁, B₂, B₆, PP, C: structura chimică; coenzimele acestor vitamine; rolul metabolic.
14. Microelementele în calitate de cofactori.

Indicația metodică nr. 5

Tema: Noțiuni generale despre metabolism. Bioenergetica.

Întrebări pentru autopregătire

1. Noțiune de metabolism. Anabolismul și catabolismul. Căile metabolice. Etapa amfibolică a metabolismului, rolul ei.
2. Bioenergetica:
 - a) Legile termodinamicii.
 - b) Noțiuni de entalpie, entropie și energie liberă. Energia liberă standard, semnificația ei.
 - c) Reacțiile endergonice și exergonice.
 - d) Potențialul de oxido-reducere. Conexiunea dintre potențialul de oxido-reducere și energia liberă.
3. Compușii macroergici: rolul, principalii reprezentanți, particularitățile structurale. Structura chimică și rolul ATP-ului. Ciclul ATP-ului. Variantele de hidroliză a ATP. Mecanismele de sinteză a ATP.
4. Compușii supermacroergici: rolul, principalii reprezentanți, particularitățile structurale.

Teste pentru autoevaluare

1. **Referitor la căile catabolice și anabolice sunt corecte afirmațiile:**
 - a) coincid ca direcție
 - b) posedă reacții și enzime comune
 - c) sunt identice
 - d) ca regulă, sunt localizate în diferite compartimente celulare
 - e) ciclul Krebs este faza amfibolică a metabolismului
2. **Selectați afirmația corectă referitoare la bioenergetică:**
 - a) organismele vii sunt sisteme termodinamice închise
 - b) energia liberă (ΔG) este energia care nu poate fi utilizată pentru efectuarea lucrului
 - c) entropia (ΔS) este gradul de dezordine a unui sistem termodinamic
 - d) energia legată ($T\Delta S$) este energia care poate fi utilizată pentru efectuarea lucrului
 - e) $\Delta G > 0$ indică că reacția chimică este exergonică
3. **Referitor la reglarea metabolismului celular este corectă afirmația:**
 - a) căile catabolice și anabolice au reacții comune
 - b) viteza proceselor metabolice este reglată de enzimele ce catalizează reacții comune ale anabolismului și catabolismului
 - c) procesele metabolice se reglează la nivelul reacțiilor reversibile
 - d) ca regulă, inhibitorii proceselor catabolice sunt activatori ai proceselor anabolice
 - e) hormonii nu participă la reglarea proceselor metabolice
4. **Ce factori determină formarea energiei în reacția de hidroliză a ATP-ului?**
 - a) repulsia electrostatică
 - b) gradul mic de stabilitate a ATP-ului
 - c) prezența ionilor de Mg^{2+}
 - d) prezența apei
 - e) scindarea legăturilor glicozidice din ATP

5. Energia liberă (ΔG):

- a) energia liberă standard se notează ΔG^0 și se calculează: $\Delta G^0 = - 2,303 \cdot R \cdot T \cdot \lg K$;
- b) condiții standard sunt $T=25^0\text{C}$, concentrația substanțelor - 1,0M, $\text{pH}=7,0$, presiunea 760 tori;
- c) dacă $\Delta G > 0$ - reacția decurge spre formarea compușilor finali;
- d) dacă $\Delta G < 0$ - reacția merge în stînga;
- e) dacă $\Delta G > 0$ - compușii finali conțin mai multă energie decît substanțele inițiale.

6. ATP-ul:

- a) este singurul nucleotid macroergic;
- b) este un nucleotid pirimidinic;
- c) conține trei resturi fosfat în moleculă;
- d) conține trei legături macroergice;
- e) energia se stochează în legătura macroergică.

7. Ciclul ATP - ului:

- a) forma activă este complexul ATP cu ionii de Mg^{2+} sau Mn^{2+} ;
- b) în condiții standard ATP hidrolizează în ADP și 7,3 kcal/mol;
- c) în condiții standard ATP hidrolizează în AMP și 7,3 kcal/mol;
- d) în celula ATP se utilizează foarte încet;
- e) energia liberă este diferența dintre energia substanțelor rezultante și energia substanțelor inițiale.

8. Energia ce se formează la hidroliza ATP este determinată de:

- a) repulsia electrostatică;
- b) gradul de stabilitate, rezonanța mică pentru ATP;
- c) prezența ionilor de Mg^{2+} ;
- d) ruperea numai legăturii macroergice finale;
- e) ruperea legăturilor glicozidice.

9. Care din compuși eliberează la hidroliză mai multă energie decît ATP-ul:

- a) creatinfosfatul;
- b) acetilfosfatul;
- c) AMP;
- d) GTP;
- e) fosfoenolpiruvatul.

10. Referitor la potențialul de oxido-reducere (E_0) sunt corecte afirmațiile:

- a) este o forță motrice ce determină capacitatea sistemului-redox de a adăuna și a ceda e^-
- b) cu cât valoarea E_0 este mai electronegativă, cu atât este mai înaltă capacitatea sistemului-redox de a adăuna e^-
- c) cu cât valoarea E_0 este mai electropozitivă, cu atât este mai înaltă capacitatea sistemului-redox de a ceda e^-
- d) torentul de e^- e orientat în direcția majorării energiei libere
- e) torentul de e^- e orientat în direcția micșorării energiei libere

Indicația metodică nr. 6

Tema: Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic. Ciclul Krebs.

Experiența 1. Determinarea piruvatului în urină

Principiul metodei: Piruvatul reacționând cu 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) în mediul alcalin formează 2,4-dinitrofenilhidrazona acidului piruvic de culoare galben-oranj. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea de piruvat și se determină fotocolorimetric.

Modul de lucru:

Reactivi	Eprubeta:	
	Experimentală (1)	Control (2)
Urină	1 mL	-
H ₂ O dist.	-	1 mL
KOH 2,5% (sol. alcoolică)	1 mL	1 mL
Se agită intens timp de 1 min		
0,1% sol. 2,4-DNPH	0,5 mL	0,5 mL
Se agită bine și se lasă 15 min la temperatura camerei		
Determinăm extincția probei de cercetat la FEC contra proba de control (cuva - 5 mm, filtrul albastru – 450-465 nm).		
Concentrația piruvatului în urină (C) se determină după curba de calibrare.		
Cantitatea piruvatului excretată timp de 24 ore se calculează după formula: $X (\mu\text{M}/24 \text{ ore}) = C \cdot 1500,$ unde: C – concentrația piruvatului în urină (determinată după curba de calibrare, $\mu\text{M}/\text{mL}$), 1500 – diureza nictemerală (mL).		

Valori normale: 10-25mg/24ore sau 114-284 $\mu\text{M}/24\text{ore}$.

Valoarea diagnostică: Conținutul acidului piruvic în sânge și în urină crește în insuficiența tiaminei, în diabetul zaharat, în hiperfuncția sistemului hipofizaro-adrenal, la administrarea unor medicamente (adrenalina, stricnina, camforul).

Rezultat: E: _____ **C:** _____ $\mu\text{M}/\text{mL}$

X (cantitatea piruvatului excretată timp de 24 ore) = _____ $\mu\text{M}/24\text{ore}$

Concluzii: _____

Experiența 2: Reacția calitativă de determinare a activității catalazei

Principiul metodei: Catalaza din sânge este o oxidoreductază foarte activă care descompune apa oxigenată în apă și oxigen molecular: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

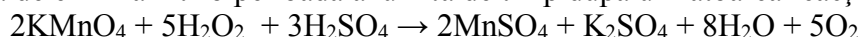
Modul de lucru: În două eprubete se iau câte 1 mL H₂O, se adaugă 2 picături de sânge și o probă se fierbe pentru inactivarea enzimei. După răcire în ambele eprubete se adaugă 5-10 picături de H₂O₂ 3% și conținutul eprubetelor se agită. În eprubeta de experiență se observă degajarea bulelor de oxigen.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Experiența 3: Determinarea cantitativă a activității catalazei

Principiul metodei: Activitatea catalazei se determină prin dozarea apei oxigenate descompusă de enzimă într-o perioadă anumită de timp după următoarea reacție:



Cantitatea apei oxigenate descompuse se apreciază după diferența cantității permanganatului de potasiu consumat la titrarea apei oxigenate până și după acțiunea catalazei.

Activitatea catalazei se exprimă prin numărul catalazic și indicele catalazic. Numărul catalazic (NC) este cantitatea de peroxid de hidrogen (în mg) descompus sub acțiunea 1 μL de sânge. Indicele catalazic este raportul dintre numărul catalazic și numărul eritrocitelor (în milioane) într-un μL de sânge.

Modul de lucru:

<i>Reactivi, mL</i>	<i>Balonul de titrare cu:</i>	
	<i>proba martor</i>	<i>proba de cercetat</i>
Sânge (1:1000)	1	1
Apă distilată	7	7
H ₂ O ₂ 1%	-	2
H ₂ SO ₄ 10%	5	-
Incubare 30 min la temperatura camerei		
H ₂ O ₂ 1%	2	-
H ₂ SO ₄ 10%	-	5
Titrare cu KMnO₄ până la roz slab stabil	A= _____ mL	B= _____ mL

Calcul: Numărul catalazic (NC) se calculează după formula:

$$\text{NC} = (\text{A} - \text{B}) \cdot 1,7$$

unde: A – cantitatea soluției de KMnO₄ 0,1N consumat la titrarea probei martor (mL),

B - cantitatea soluției de KMnO₄ 0,1N consumat la titrarea probei de cercetat (mL).

1,7 – coeficientul care arată câte mg de H₂O₂ se conține într-un mL soluție de H₂O₂ 0,1N.

Valorile normale ale numărului catalazic sunt cuprinse între 10-15 unități la adulți și 7,5-9,9 unități la copii.

Importanța clinico-diagnostică. În cazul cancerului, anemiei, tuberculozei activitatea catalazei în sânge este redusă. Acatalazemia este o deficiență înăscută a catalazei din eritrocite și alte țesuturi, având ca simptom principal gangrena cavității bucale. Activitate înaltă a catalazei se observă în anemiile pernicioasă și macrocitară, de asemenea și la ingerarea alcoolului și cofeinei.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura, proprietățile și rolul mitocondriilor.

Întrebări pentru autopregătire

1. Decarboxilarea oxidativă a piruvatului (DOP): complexul polienzimatic, coenzimele, etapele, reacția sumară, reglarea procesului. Legătura DOP cu ciclul Krebs și cu lanțul respirator. Rolul biomedical.

2. Ciclul acizilor tricarboxilici (Krebs): funcțiile, reacțiile parțiale, enzimele, reacția sumară, legătura cu lanțul respirator, randamentul energetic, reglarea procesului.
3. Reacțiile anaplerotice. Semnificația lor.

Probleme de situație

1. Enumerați componentele complexului piruvatdehidrogenaza, scrieți formulele vitaminelor care intră în componența acestui complex.

2. Numiți toate enzimele ciclului Krebs și determinați la ce clasă de enzime se referă ele (completați tabelul):

Enzimele ciclului Krebs	La ce clasă se referă enzimele date?

3. Explicați de ce ciclul Krebs este un proces aerob.

4. Care enzime ale ciclului Krebs sunt enzime reglatoare? Care sunt activatorii și inhibitorii acestor enzime? Completați tabelul.

Enzimele reglatoare ale ciclului Krebs	Activatorii	Inhibitorii

5. Scrieti reactia de fosforilare la nivel de substrat din ciclul Krebs.

6. Care vitamine și substanțe cu activitate vitaminică intră în componența lanțului respirator? Scrieți formulele și reacțiile lor de oxido-reducere.

7. În ce stare (redușă sau oxidată) se vor afla transportorii lanțului respirator la adăugarea în suspensia de mitocondrii a antimicinii A și a oxidului de carbon CO?

Teste pentru autoevaluare

1. Selectați afirmațiile corecte referitoare la rolul complexului enzimatic piruvat dehidrogenaza:

- a) decarboxilarea oxidativă a CH_3COOH
- b) decarboxilarea oxidativă a $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOH}$
- c) dehidrogenarea și decarboxilarea CH_3COCOOH
- d) formarea NADPH pentru sintezele reductive
- e) formarea NADH pentru lanțul respirator

2. Referitor la reglarea activității complexului enzimatic piruvat dehidrogenaza (PDH) sunt corecte afirmațiile:

- a) GTP, ATP sunt inhibitori ai complexului PDH
- b) sarcina energetică mică activează enzimele complexului PDH
- c) toate enzimele complexului PDH se reglează doar alosteric
- d) toate enzimele complexului PDH se supun doar reglării prin sarcină energetică
- e) toate enzimele complexului PDH se reglează prin fosforilare-defosforilare.

3. Selectați afirmațiile corecte referitoare la ciclul Krebs:

- a) este etapa finală comună a oxidării compușilor organici
- b) furnizează substanțe intermediare pentru anabolism
- c) în ciclul Krebs oxaloacetatul se oxidează până la 2 molecule de CO₂
- d) funcționează în condiții anaerobe
- e) în reacțiile ciclului Krebs participă nemijlocit O₂

4. Referitor la reacția: Succinil-CoA + GDP + H₃PO₄ ↔ succinat + GTP + HS-CoA sunt corecte afirmațiile:

- a) este o reacție reglatoare a ciclului Krebs
- b) este o reacție de fosforilare la nivel de substrat
- c) reprezintă o reacție de fosforilare oxidativă
- d) este catalizată de enzima succinil-CoA sintetaza
- e) enzima ce catalizează această reacție este din clasa liazelor

5. Referitor la reacția: Izocitrat + NAD → α - cetoglutarat + NADH + CO₂ sunt corecte afirmațiile:

- a) este o reacție reglatoare a ciclului Krebs
- b) este o reacție de fosforilare la nivel de substrat
- c) reprezintă o reacție de fosforilare oxidativă
- d) este catalizată de enzima izocitrat decarboxilaza
- e) enzima ce catalizează această reacție este din clasa oxido-reductazelor

6. Referitor la reacția: oxaloacetat + Ac-CoA + H₂O → citrat + HS-CoA sunt corecte afirmațiile:

- a) este o reacție reglatoare a ciclului Krebs
- b) este o reacție de fosforilare la nivel de substrat
- c) reprezintă o reacție de oxido-reducere
- d) este catalizată de enzima citrat sintetaza
- e) enzima ce catalizează această reacție este din clasa transferazelor

7. Selectați afirmațiile corecte referitoare la reglarea ciclului Krebs:

- a) viteza ciclului este diminuată de concentrația înaltă a ADP-lui
- b) complexul alfa-cetoglutarat dehidrogenaza este inhibat de succinil-CoA
- c) sarcina energetică mică inhibă activitatea ciclului
- d) ADP-ul inhibă izocitrat dehidrogenaza
- e) NADH inhibă izocitrat dehidrogenaza și complexul alfa-cetoglutarat dehidrogenaza

8. Selectați reacțiile anaplerotice:

- a) acetil-CoA + oxaloacetat + H₂O → citrat + HSCoA
- b) glutamat + H₂O + NAD⁺ ↔ alfa-cetoglutarat + NADH + H⁺ + NH₃
- c) succinil-CoA + glicina → delta-aminolevulinat + HS-CoA + CO₂
- d) fosfoenolpiruvat + CO₂ + GDP → oxaloacetat + GTP
- e) piruvat + CO₂ + ATP → oxaloacetat + ADP + H₃PO₄

Indicația metodică nr. 7

Tema: Oxidarea biologică. Lanțul respirator. Fosforilarea oxidativă. Oxidarea microzomală. Noțiuni de stres oxidativ

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura, proprietățile și rolul mitocondriilor.

Întrebări pentru autopregătire

1. Oxidarea biologică. Dehidrogenarea substraturilor – sursa energetică principală pentru sinteza ATP-ului. Reacțiile, enzimele și coenzimele dehidrogenării.
2. Lanțul respirator – localizarea, semnificația biologică:
 - a) Structura și proprietățile oxido-reducătoare ale principalilor acceptori de protoni și electroni (NAD^+ , FAD, FMN, CoQ). Noțiuni despre structura citocromilor și a proteinelor Fe-S.
 - b) Schema lanțului respirator. Complexele enzimatice.
 - c) Inhibitorii lanțului respirator.
 - d) Potențialul de oxido-reducere al componentelor lanțului respirator.
3. Fosforilarea oxidativă. Punctele de fosforilare.
4. Mecanismul cuplării oxidării cu fosforilarea (ipoteza Mitchell). ATP-sintaza. Inhibitorii ATP-sintazei. Rolul membranei mitocondriale interne în biosinteza ATP-ului.
5. Decuplarea proceselor de oxidare și fosforilare. Agenții decuplanți, mecanismul lor de acțiune. Exemple de decuplare fiziologică și patologică.
6. Oxidarea microzomală. Rolul citocromului P450 în reacțiile de oxido-reducere.
7. Noțiuni de stres oxidativ. Speciile reactive ale oxigenului: formarea lor, efectele fiziologice și nocive. Sistemele antioxidante. Vitaminele E și A.

Probleme de situație

1. În mitocondriile grăsimii brune la copii nou-născuți și la animalele în stare de hibernare randamentul ATP-ului la un atom de oxigen absorbit constituie mai puțin de o moleculă:
 - a) ce funcție fiziologică poate fi determinată prin raportul P/O mic în grăsimea brună a nou-născuților?
 - b) indicați mecanismele posibile care ar putea determina un astfel de raport P/O caracteristic pentru mitocondriile grăsimii brune.

Teste pentru autoevaluare

1. Selectați afirmațiile corecte referitoare la lanțul respirator:

- a) este localizat în membrana externă mitocondrială
- b) este un proces reversibil
- c) este alcătuit din enzime și sisteme de oxido-reducere
- d) transferă H^+ și \bar{e} de pe coenzimele reduse pe O_2
- e) produsul final al LR este H_2O_2

- 2. Referitor la potențialul de oxido-reducere (E_0) al sistemelor-redox din lanțul respirator sunt corecte afirmațiile:**
- este o forță motrice ce determină capacitatea sistemului-redox de a adăuna și a ceda e^-
 - cu cât valoarea E_0 este mai electronegativă, cu atât este mai înaltă capacitatea sistemului-redox de a adăuna e^-
 - cu cât valoarea E_0 este mai electropozitivă, cu atât este mai înaltă capacitatea sistemului-redox de a ceda e^-
 - torentul de e^- e orientat în direcția majorării energiei libere
 - în lanțul respirator sistemele-redox sunt aranjate în ordinea creșterii E_0 .
- 3. Referitor la complexul I al lanțului respirator (NADH-CoQ reductaza) sunt corecte afirmațiile:**
- îndeplinește funcția de colector de H^+ și e^- de la dehidrogenazele NAD^+ -dependente
 - îndeplinește funcția de colector de H^+ și e^- de la dehidrogenazele FAD-dependente
 - conține FMN
 - conține proteine cu fier și sulf (FeS)
 - conține FAD
- 4. Referitor la complexul II al lanțului respirator (succinat-CoQ reductaza) sunt corecte afirmațiile:**
- transferă H^+ și e^- în lanțul respirator doar de pe succinat
 - conține flavoproteine specializate pentru introducerea H^+ și e^- în lanțul respirator și de pe alte substraturi (acil-CoA, glicerol-3-fosfat)
 - conține NAD^+
 - conține citocromii a și a_3
 - conține proteine cu fier și sulf (FeS)
- 5. Referitor la complexul IV al lanțului respirator (citocromoxidaza) sunt corecte afirmațiile:**
- transferă $4e^-$ de la citocromii c la oxigenul molecular cu formarea a $2O^{2-}$
 - O^{2-} interacționează cu protonii, formând apa
 - conține citocromii b și c_1
 - conține citocromii a și a_3
 - conține ioni de cupru
- 6. Selectați afirmațiile adevărate referitor la citocromi:**
- reprezintă hemoproteine
 - funcționarea citocromilor implică transformarea: $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$
 - participă la transferul doar a H^+
 - transferă H^+ și e^- pe ubichinonă
 - un citocrom poate transfera 2 e^-
- 9. Referitor la mecanismul fosforilării oxidative sunt corecte afirmațiile:**
- în rezultatul transferului de e^- în lanțul respirator (LR) se formează un compus intermediar macroergic
 - e^- servesc modulatori alosterici pozitivi pentru ATP-sintază
 - transferul de e^- în LR generează gradient de protoni între suprafețele membranei interne mitocondriale
 - H^+ trec liber prin membrana internă mitocondrială
 - fluxul de H^+ este forța motrice ce determină sinteza ATP-ului
- 10. Selectați afirmațiile corecte referitoare la ATP-sintaza:**
- este enzimă implicată în fosforilarea la nivel de substrat
 - este enzimă implicată în fosforilarea oxidativă

- c) este inhibată de oligomicină
- d) inhibarea ATP-sintazei micșorează atât sinteza ATP-ului, cât și transferul de electroni prin lanțul respirator
- e) inhibarea ATP-sintazei nu influențează transferul de electroni prin lanțul respirator

11. Referitor la țesutul adipos brun sunt adevărate afirmațiile:

- a) este țesut specializat în sinteza ATP-ului
- b) este țesut specializat în termogeneză
- c) este prezent la animalele în hibernare, la nou-născuți
- d) conține puține mitocondrii
- e) mitocondriile din țesutul adipos brun conțin termogenina (proteine decuplante)

10. Referitor la fosforilarea oxidativă sunt corecte afirmațiile:

- a) Importanță esențială are integritatea membranei interne mitocondriale;
- b) Leziunile membranei interne mitocondriale activează transferul electronilor;
- c) Membrana internă mitocondrială este impermeabilă pentru OH⁻, H⁺, K⁺, Cl⁻;
- d) 2,4-dinitrofenolul inhibă fosforilarea oxidativă;
- e) Decuplanții măresc permeabilitatea membranei interne mitocondriale pentru H⁺.

11. Mecanismele fosforilării oxidative:

- a) se formează un compus intermediar macroergic;
- b) energia oxidării transformă o proteină în conformație activă;
- c) transferul de e⁻ și sinteza de ATP sunt procese cuplate;
- d) transferul de e⁻ generează gradientul de protoni;
- e) generarea gradientului de protoni are loc în orice punct de fosforilare al lanțului respirator.

12. Referitor la mecanismele fosforilării oxidative:

- a) ionii de H⁺ revin în mitocondrii prin canale ionice speciale;
- b) fluxul de H⁺ este forța motrice, ce determină sinteza ATP;
- c) ATP sintaza e compusă din factorii F₀ și F₁;
- d) factorii F₀ și F₁ sunt situați în matricea mitocondrială;
- e) ambii factori sunt componenți ai membranei interne mitocondriale.

13. Oxidarea microzomală are loc în:

- a) organite specializate - microzomi
- b) mitocondrie
- c) citozol
- d) membranele reticulului endoplasmatic
- e) peroxizomi

14. Referitor la oxidarea microzomală sunt corecte afirmațiile:

- a) este catalizată de complexul citocrom P450 oxido-reductaza
- b) este catalizată de complexul citocrom P450 oxidaza
- c) are rol în detoxificarea medicamentelor, xenobioticelor
- d) este introducerea unui atom de oxigen în substrat
- e) este o cale alternativă de oxidare a NADH cu generare de ATP

15. Referitor la stresul oxidativ sunt corecte afirmațiile:

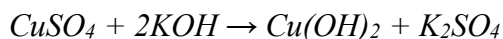
- a) produce radicali liberi ai oxigenului
- b) este cauzat de perturbările lanțului respirator, oxidarea microzomală
- c) este cauzat de perturbările fosforilării oxidative
- d) este o stare normală care rezultă din intensificarea oxidării biologice
- e) este o stare patologică generată de acumularea speciilor reactive ale oxigenului

Indicația metodică nr. 8

Tema: Digestia și absorbția glucidelor. Metabolismul glicogenului

Experiența 1: Reacția Fehling

Principiul metodei: Gruparea carbonil din glucidele reducătoare reduce Cu^{2+} până la Cu^+ din complexul solubil format în mediul alcalin cu *sarea Seignette* (tartrat dublu de sodiu și potasiu). Se formează Cu_2O , precipitat de culoare roșie, conform reacțiilor:



Această reacție se deosebește de reacția Trommer, prin faptul că reagentul conține tartrat dublu de sodiu și potasiu pentru legarea excesului de oxid de cupru (II), din care la încălzire se formează un precipitat de culoare neagră.

Modul de lucru: În 5 eprubete numerotate se introduc cu pipeta câte 1 ml din soluțiile de glucoză, fructoză, zaharoză, amidon și urină patologică, adăugându-se în toate câte 1 ml de reactiv Fehling. Conținutul eprubetelor se încălzește până la fierbere.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Experiența 2: Reacția Seliwanoff

Principiul metodei: Reacția Seliwanoff servește la diferențierea cetozelor (fructoza) de aldoze (glucoza). Monozaharidele în prezența HCl concentrat reacționează cu *rezorcina* (sau alți polifenoli) formând produși de condensare colorați. Reacția este mai rapidă și mai intensă în prezența cetozelor, când se obțin produși colorați în roșu, decât în prezența aldozelor când se obțin produși colorați în roz deschis.

Modul de lucru: În 2 eprubete se pun cu pipeta câte 1 ml soluție Seliwanoff la care se adaugă în prima eprubetă se adaugă 2-3 picături soluție de fructoză, iar în a doua – 2-3 picături soluție de glucoză. Probele se încălzesc până la fierbere. După răcire, conținutul eprubetei cu fructoză se colorează în roșu, iar a celei cu glucoză în roz slab.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Experiența 3: Identificarea amidonului

Principiul metodei: Amidonul cu iodul dă o colorație albastră, datorită absorbției moleculei de iod la suprafața macromoleculei de amidon.

Mod de lucru: În 5 eprubete, separat adăugăm cu pipeta câte 1 ml din soluțiile de glucoză, fructoză, zaharoză, amidon și urină patologică, și adăugăm în fiecare 3 picături soluție Lugol. Eprubeta cu soluția de amidon va avea colorație albastră.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura monozaharidelor (gliceraldehida, dihidroxiacetona, riboza, dezoxiriboza, ribuloza, xiluloza, glucoza, galactoza, fructoza).
2. Structura dizaharidelor ((maltoza, lactoza, zaharoza).
3. Structura homopolizaharidelor (glicogenul, amidonul, celuloza).

Întrebări pentru autopregătire

1. Rolul biologic și nutritiv al glucidelor.
2. Mecanismele biochimice ale digestiei și absorbției glucidelor. Intoleranța la dizaharide.
3. Transportul glucozei din sânge în țesuturi – transportorii de glucoză (GLUT). Utilizarea glucidelor în țesuturi.
4. Metabolismul glicogenului: glicogenogeneza și glicogenoliza. Reacțiile, enzimele, reglarea reciprocă a proceselor.
5. Glicogenozele (boala von Gierke, sindromul Pompe).

Problemele de situație

1. Rumegătoarele utilizează celuloza ca hrană, iar majoritatea mamiferelor nu o pot utiliza. Explicați.

2. Numiți enzimele tractului gastro-intestinal care participă la digestia glucidelor. Completați tabelul:

Enzima	Sediul sintezei	Substratul asupra căruia acționează	Legătura pe care o scindează	Produsele reacției

3. V_{max} a glicogenfosforilazei din mușchii scheletici este cu mult mai mare decât a glicogenfosforilazei hepatice. Explicați care este rolul fiziologic al enzimei în mușchi și în ficat? De ce este necesar ca glicogenfosforilaza musculară să fie mai activă, comparativ cu enzima hepatică?

Teste pentru autoevaluare

1. Selectați funcțiile glucidelor:

- b) energetică
- c) mențin presiunea oncotică
- d) sunt emulgatori
- e) sunt constituenți ai țesuturilor de sprijin, ai acizilor nucleici
- f) de transport

2. Selectați glucidele ce sunt prezente în organismul uman:

- a) amiloza
- b) glucoza
- c) glicogenul
- d) riboza, dezoxiriboza
- e) amilopectina

3. Referitor la homoglicani sunt adevărate afirmațiile:

- a) unitatea structurală a celulozei este maltoza
- b) celuloza este o polizaharidă predominantă în regnul vegetal
- c) amidonul este alcătuit din alfa-glucoză
- d) glicogenul este alcătuit din beta-glucoză
- a) în structura celulozei predomină legăturile α -1,6-glicozidice

4. Selectați afirmațiile corecte referitoare la digestia glucidelor:

- a) amilaza salivară și cea pancreatică scindează legăturile α -1,4-glicozidice din polizaharide
- b) amilazele scindează amidonul până la fructoza
- c) amilaza salivară scindează amidonul până la glucoză
- d) dizaharidazele nu posedă specificitate de substrat
- e) celuloza nu este scindată de amilaza pancreatică

5. Selectați afirmația corectă referitoare la glicogenoliză:

- a) nu se supune reglării hormonale
- b) toate reacțiile glicogenolizei decurg în sens invers glicogenogenezei
- c) este un proces strict hidrolitic
- d) decurge intens postprandial
- e) se activează în situații de stres, inaniție

6. Referitor la glicogen fosforilază sunt corecte afirmațiile:

- a) este enzima reglatoare a glicogenolizei
- b) este reglată doar prin fosforilare-defosforilare
- c) forma activă este cea fosforilată
- d) scindează atât legăturile alfa-1,4-glicozidice, cât și legăturile alfa-1,6-glicozidice din glicogen
- e) este activată de insulină

7. Referitor la scindarea legăturilor 1,6-glicozidice din glicogen (glicogenoliza) sunt corecte afirmațiile:

- a) este catalizată de glucozo-6-fosfataza
- b) este catalizată de glicogen fosforilaza
- c) este catalizată de enzima de deramificare
- d) enzima ce catalizează procesul are activitate amilo-1,6-1,4-glican transferazică
- e) enzima ce catalizează procesul are activitate 1,4-glicozidazică

8. Selectați enzimele ce participă în glicogenogeneza:

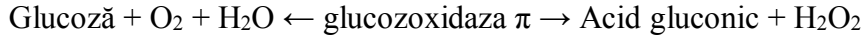
- a) glicogen sintaza
- b) glicogen fosforilaza
- c) fosfoglucomutaza
- d) glucozo-6-fosfataza
- e) UDP-glucozo-pirofosforilaza

Indicația metodică nr. 9

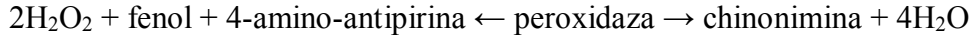
Tema: Metabolismul glucozei

Experiența 1. Dozarea glucozei - metoda cu glucozoxidază

Principiul reacției: Glucozoxidaza catalizează oxidarea glucozei în acid gluconic (în prezența oxigenului):



Peroxidul de hidrogen format reacționează cu 4- amino-antipirina și fenolul, în prezența peroxidazei și formează chinonimina.



Intensitatea culorii produsului rezultat este proporțională cu concentrația de glucoză din proba de analizat și se măsoară spectrofotometric.

Reactivi:

1. Reactiv enzimatic de lucru:

Tampon fosfat pH = 7,4...70 mmol/L
Fenol5 mmol/L
Glucoz-oxidaza.....> 10 U/mL
Peroxidaza> 1 U/mL
4-amino-antipirina.....0,4 mmol/L

1. Proba: ser nehemolizat

Tehnica de lucru: se pipetează în două eprubete, după schema următoare:

	Eprubeta N1 PROBA	Eprubeta N2 CONTROL
Reactiv enzimatic de lucru	1,5 mL	1,5 mL
Ser	0,02 mL	-
<ul style="list-style-type: none">• se agită• se incubează 10 min la temperatura camerei• se citește extincția probei (E) față de control la 500 nm, în cuva de 0,3 cm. Colorația e stabilă 2 ore.		

Calcul: Glicemia (concentrația glucozei) = E x 80 mmol/L, unde 80 este coeficientul calculat preventiv, reieșind din extincția standardului.

Valori normale: Ser: 3,3 – 5,5 mmol/L

Semnificație clinică-diagnostică. O concentrație crescută de glucoză în sânge este numită hiperglicemie. Glucozuria apare atunci, când concentrația de glucoză din sânge depășește 9 mmol/L. *Hiperglicemia și glucozuria* sunt caracteristice pentru diabetul zaharat, pancreatita acută, excitație a porțiunii simplice a sistemului nervos, hipersecreție de adrenalină, glucagon, iodtironine și glucocorticoizi. *Hipoglicemia* este starea caracterizată de o concentrație scăzută de glucoză în sânge. Poate apărea în hipersecreția sau supradozajul de insulină, în hiposecreția de iodtironine și glucocorticoizi, afecțiuni renale.

Rezultat: E = _____ Concentrația glucozei = _____

Concluzii: _____

Întrebări pentru autopregătire

1. Glicoliza: etapele, reacțiile, enzimele, reglarea.
2. Reacția sumară a glicolizei anaerobe și randamentul energetic.
3. Schema oxidării aerobe a glucozei și randamentul energetic.
4. Sistemele-navetă glicerolfosfat și malat-aspartat de transport al echivalenților reducători din citozol în mitocondrie.
5. Gluconeogeneza – substraturile, reacțiile, enzimele, reacția sumară. Ciclul Cori.
6. Reglarea reciprocă a glicolizei și a gluconeogenezei.

Problemele de situație

1. Numiți căile posibile de utilizare a piruvatului.

2. Care este soarta NADH obținut în reacția de dehidrogenare a gliceraldehid-3-fosfatului: a) în condiții aerobe? b) în condiții anaerobe?

3. Scrieți reacțiile glicolizei anaerobe în care se formează ATP prin fosforilare la nivel de substrat.

4. Câte molecule de ATP se generează prin fosforilare la nivel de substrat și câte – prin fosforilare oxidativă la degradarea completă aerobă a unei molecule de glucoză?

5. Câte molecule de ATP se generează la oxidarea completă până la CO_2 și H_2O a unei molecule de lactat? Explicați.

6. Hexokinaza și glucokinaza sunt izoenzime ce catalizează reacția chimică: Glucoza + ATP → glucozo-6-fosfat + ADP. Completați tabelul referitor la deosebirile izoenzimelor nominalizate:

Proprietăți	Glucokinaza	Hexokinaza
Substraturi		
Țesuturi în care este prezentă		
Procesele în care participă		
Afinitatea față de substrat, K_M		
Reglarea hormonală		
Reglarea alosterică		

7. Enumerați enzimele reglatoare ale glicolizei și ale gluconeogenezei. Numiți activatorii și inhibitorii lor (completați tabelul):

Enzimele reglatoare ale glicolizei	Activatori	Inhibitori	Enzimele reglatoare ale gluconeogenezei	Activatori	Inhibitori
1			4		
2			3		
3			2		
			1		

Teste pentru autoevaluare

- Selectați afirmațiile corecte referitoare la glicoliză:**
 - toate reacțiile glicolizei sunt reversibile
 - în condiții anaerobe produsul final al glicolizei este lactatul
 - în condiții anaerobe randamentul energetic al glicolizei este 12 ATP
 - în condiții aerobe produsele finale ale glicolizei sunt CO_2 și H_2O
 - în condiții aerobe randamentul energetic al glicolizei este 2 ATP
- Referitor la reacția: Fructozo-6-fosfat + ATP → fructozo-1,6-difosfat + ADP sunt corecte afirmațiile:**
 - este o reacție din glicogenoliză
 - este o reacție reversibilă
 - este catalizată de enzima fosfofructomutaza
 - este catalizată de enzima fosfofructokinaza
 - enzima ce catalizează această reacție este enzimă reglatoare
- Referitor la reglarea activității fosfofructokinazei sunt adevărate afirmațiile:**
 - modulatori pozitivi sunt AMP și fructozo-2,6-bifosfatul
 - sarcina energetică mică a celulei inhibă activitatea enzimei
 - NADH și NADPH sunt principalii activatori ai enzimei
 - citratul și ATP sunt modulatori negativi
 - 1,3-difosfogliceratul, fosfoenolpiruvatul sunt activatori ai enzimei

4. **Referitor la reacția: fosfoenlpiruvat + ADP → piruvat + ATP sunt corecte afirmațiile:**
- este o reacție de fosforilare oxidativă
 - este o reacție de fosforilare la nivel de substrat
 - piruvatul obținut în reacție este un compus macroergic
 - este o reacție din gluconeogeneză
 - enzima ce catalizează această reacție este enzimă reglatoare
5. **Referitor la reacția: Piruvat + NADH+H⁺ ↔ lactat + NAD⁺ sunt corecte afirmațiile:**
- este o reacție din glicoliză
 - are loc în condiții anaerobe
 - este catalizată de enzima piruvatdehidrogenaza
 - enzima ce catalizează această reacție este din clasa hidrolazelor
 - este o reacție a gluconeogenezei
6. **Selectați enzimele comune ale glicolizei și ale gluconeogenezei :**
- hexokinaza
 - fosfoglicerat kinaza
 - fosfoenlpiruvat carboxikinaza
 - fosfoglicerat mutaza
 - fructozo-1,6-difosfataza
7. **Selectați substanțele glucoformatoare (care pot servi substrat pentru gluconeogeneză):**
- | | |
|---------------|--------------|
| a) succinatul | d) lactatul |
| b) glicerolul | e) butiratul |
| c) acetyl-CoA | f) alanina |
8. **Selectați stările care pot condiționa hiperglicemie:**
- | | |
|-----------------------------|-------------------------------|
| a) stresul | d) diminuarea gluconeogenezei |
| b) activarea glicogenolizei | e) hiperinsulinismul |
| c) activarea glicolizei | |
9. **Selectați efectele insulinei asupra metabolismului glucidic în ficat:**
- inducția glucokinazei
 - activarea glicogen fosforilazei
 - inhibarea fructozo-1,6-difosfatazei
 - activarea fosfoenlpiruvat carboxikinazei
 - inhibarea glicogen sintazei
10. **Selectați procesele stimulate de insulină:**
- | | |
|--------------------------------------|-------------------------|
| a) transportul glucozei în țesuturi | d) sinteza glicogenului |
| b) conversia glicerolului în glucoză | e) gluconeogeneza |
| c) glicogenoliza | |

Indicația metodică nr. 10

Tema: Calea pentozofosfaților. Metabolismul fructozei și galactozei. Reglarea și patologia metabolismului glucidic

Experiența 1. Reacția de identificare a fructozei în urină

Principiul metodei. Cetozele (fructoza) în mediul acid, tratate cu rezorcină, dau o colorație roșie. În aceleași condiții, aldozele (glucoza, galactoza) dau o colorație roz-pală.

Modul de lucru. Într-o eprubetă pipetăm 0,5 mL urină de cercetat, la care se adaugă 0,5 mL reactiv Seliwanoff și 1 mL acid clorhidric concentrat. Apariția unei culori roșii-brune indică prezența fructozei în urină.

Valoarea diagnostică. Fructozuria se depistează după ingestie de fructe, în sarcină, în fructozuria ereditară și intoleranța ereditară a fructozei, intoxicații acute cu etanol etc.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Întrebări pentru autopregătire

1. Calea pentozo-fosfat de oxidare a glucozei. Rolul biologic al procesului, reacțiile etapei oxidative, enzimele, coenzimele. Ecuția stoichiometrică a etapelor I și II și a întregului proces.
2. Metabolismul fructozei – căile hepatică și musculară: reacțiile, enzimele, rolul biologic. Dereglările ereditare ale metabolismului fructozei.
3. Metabolismul galactozei: reacțiile, enzimele, rolul biologic. Patologia ereditară a metabolismului galactozei.
4. Reglarea hormonală a metabolismului glucidic: influența insulinei, glucagonului, catecolaminelor și a glucocorticoizilor.
5. Dereglările metabolismului glucidic în diabetul zaharat, diabetul steroid, în consumul cronic de alcool.

Probleme de situație

1. Scrieți ecuația stoichiometrică pentru sinteza ribozo-5-fosfatului din glucozo-6-fosfat fără generare concomitentă de NADPH.

2. Scrieți ecuația stoichiometrică pentru formarea NADPH din glucozo-6-fosfat fără generare concomitentă de pentoze.

3. Consumul de alcool, în special după un efort fizic intens sau în stare de foame, poate provoca hipoglicemie. Scrieți reacțiile de utilizare a alcoolului etilic și explicați de ce metabolizarea etanolului este însoțită de hipoglicemie. Ce reacție relevantă este inhibată în cazul consumului excesiv de alcool?

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la calea pentozo-fosfaților de oxidare a glucozei este corectă afirmația:

- a) decurge activ numai în ficat și eritrocite
- b) decurge activ numai în țesutul adipos, suprarenale, glandele mamare
- c) în etapa oxidativă are loc conversia glucozei în pentoze
- d) în etapa neoxidativă are loc conversia pentozelor în hexoze
- e) reacțiile etapei neoxidative sunt ireversibile

2. Referitor la reacția: $\text{Glucozo-6-fosfat} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{6-fosfogluconolactonă} + \text{NADPH} + \text{H}^+$ sunt adevărate afirmațiile:

- a) este o reacție din glicoliză
- b) este o reacție din calea pentozo-fosfaților de oxidare a glucozei
- c) enzima ce catalizează reacția este glucozo-6-fosfataza
- d) enzima ce catalizează această reacție este lactonaza
- e) enzima ce catalizează această reacție este inhibată de NADPH

3. Selectați reacțiile etapei oxidative a șuntului pentozo-fosfat:

- a) $\text{Glucozo-6-fosfat} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{6-fosfogluconolactonă} + \text{NADH} + \text{H}^+$
- b) $\text{Glucozo-6-fosfat} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{6-fosfogluconolactonă} + \text{NADPH} + \text{H}^+$
- c) $\text{6-fosfogluconolactonă} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{6-fosfogluconat}$
- d) $\text{6-fosfogluconat} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{ribulozo-5-fosfat} + \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$
- e) $\text{6-fosfogluconat} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{ribulozo-5-fosfat} + \text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$

4. Selectați reacțiile ce se referă la metabolismul fructozei în ficat:

- a) $\text{fructoza} + \text{ATP} \rightarrow \text{fructo-6-fosfat} + \text{ADP}$
- b) $\text{fructoza} + \text{ATP} \rightarrow \text{fructo-1-fosfat} + \text{ADP}$
- c) $\text{fructo-6-fosfat} + \text{ATP} \rightarrow \text{fructo-1,6-difosfat} + \text{ADP}$
- d) $\text{fructo-1,6-difosfat} \leftrightarrow \text{gliceraldehid-3-fosfat} + \text{dihidroxiacetonfosfat}$
- e) $\text{fructo-1-fosfat} \leftrightarrow \text{gliceraldehidă} + \text{dihidroxiacetonfosfat}$

5. Referitor la intoleranța la fructoză sunt corecte afirmațiile:

- a) este cauzată de deficitul ereditar al fructo-1-fosfaldolazei
- b) este cauzată de deficitul ereditar al fructo-1,6-difosfaldolazei
- c) se acumulează fructo-1-fosfat ce inhibă glucozo-6-fosfataza
- d) conduce la insuficiență hepatică, ciroză
- e) se manifestă clinic prin crize hipoglicemice

6. Selectați enzimele necesare pentru metabolizarea galactozei:

- a) galactokinaza
- b) hexokinaza
- c) UDP-galactozo-pirofosforilaza
- d) UDP-glucozo-hexozo-1-fosfat uridiltransferaza
- e) UDP-glucozo-4-epimeraza

7. Referitor la intoleranța la galactoză sunt corecte afirmațiile:

- a) este cauzată de deficitul ereditar al galactokinazei
- b) este cauzată de deficitul ereditar al UDP-glucozo-hexozo-1-fosfat uridiltransferazei
- c) se acumulează doar galactoză
- d) se manifestă clinic prin retard mintal
- e) se manifestă clinic prin cataractă

Indicația metodică nr. 11

Totalizare la capitolele: „Bioenergetica” și „Metabolismul glucidelor”

1. Noțiuni de metabolism. Anabolismul și catabolismul. Căile metabolice. Etapa amfibolică a metabolismului, rolul ei.
2. Legile termodinamicii. Noțiuni de entalpie, entropie și energie liberă. Energia liberă standard, semnificația ei. Reacțiile endergonice și exergonice.
3. Compușii macroergici: rolul, principalii reprezentanți, particularitățile structurale. Compușii supermacroergici. Structura chimică și rolul ATP-ului. Ciclul ATP-ului. Variantele de hidroliză a ATP. Mecanismele de sinteză a ATP.
4. Decarboxilarea oxidativă a piruvatului: complexul polienzimatic, coenzimele, reacția sumară, etapele, reglarea procesului, legătura cu ciclul Krebs și cu lanțul respirator. Rolul biomedical.
5. Ciclul acizilor tricarboxilici (Krebs): funcțiile, reacțiile parțiale, enzimele, reacția sumară, legătura cu lanțul respirator, randamentul energetic, reglarea procesului.
6. Reacțiile anaplerotice. Semnificația lor.
7. Oxidarea biologică. Dehidrogenarea substraturilor – sursa energetică principală pentru sinteza ATP-ului. Reacțiile, enzimele și coenzimele dehidrogenării.
8. Lanțul respirator – localizarea, semnificația biologică:
 - a) Structura și proprietățile oxido-reducătoare ale principalilor acceptori de protoni și electroni (NAD^+ , FAD, FMN, CoQ). Noțiuni despre structura citocromilor și a proteinelor Fe-S.
 - b) Potențialul de oxido-reducere al componentelor lanțului respirator.
 - c) Schema lanțului respirator. Complexele enzimatice. Inhibitorii lanțului respirator.
9. Fosforilarea oxidativă. Punctele de fosforilare.
10. Mecanismul cuplării oxidării cu fosforilarea (ipoteza Mitchell). ATP-sintaza. Inhibitorii ATP-sintazei. Rolul membranei mitocondriale interne în biosinteza ATP-ului.
11. Decuplarea proceselor de oxidare și fosforilare. Agenții decuplanți, mecanismul lor de acțiune. Exemple de decuplare fiziologică și patologică.
12. Oxidarea microzomală. Rolul citocromului P450 în reacțiile de oxido-reducere.
13. Noțiuni de stres oxidativ. Speciile reactive ale oxigenului: formarea lor, efectele fiziologice și nocive. Sistemele antioxidante. Vitaminele E și A.
14. Rolul biologic a glucidelor.
15. Mecanismele biochimice ale digestiei și absorbției glucidelor. Intoleranța la dizaharide.
16. Transportul glucozei din sânge în țesuturi – transportorii de glucoză (GLUT). Utilizarea glucidelor în țesuturi.
17. Metabolismul glicogenului: glicogenogeneza și glicogenoliza. Reacțiile, enzimele, reglarea reciprocă a proceselor.
18. Glicogenozele (boala von Gierke, sindromul Pompe).
19. Glicoliza: reacțiile, enzimele.
20. Reacția sumară a glicolizei anaerobe și randamentul energetic.
21. Schema oxidării aerobe a glucozei și randamentul energetic.
22. Sistemele-navetă glicerolfosfat și malat-aspartat de transport al echivalenților reducători din citozol în mitocondrie (noțiuni generale).
23. Gluconeogeneza – substraturile, reacțiile, enzimele, reacția sumară. Ciclul Cori.
24. Reglarea reciprocă a glicolizei și a gluconeogenezei.
25. Calea pentozo-fosfat de oxidare a glucozei. Rolul biologic al procesului, reacțiile etapei oxidative, enzimele, coenzimele. Ecuația stoichiometrică a etapelor I și II și a întregului proces.
26. Metabolismul fructozei – căile hepatică și musculară: reacțiile, enzimele, rolul biologic. Dereglările ereditare ale metabolismului fructozei.
27. Metabolismul galactozei: reacțiile, enzimele, rolul biologic. Patologia ereditară a metabolismului galactozei.
28. Reglarea hormonală a metabolismului glucidic: influența insulinei, glucagonului, catecolaminelor și a glucocorticoizilor.
29. Dereglările metabolismului glucidic în diabetul zaharat, diabetul steroid, în consumul cronic de alcool.

Indicația metodică nr. 12

Tema: Digestia și absorbția lipidelor. Resinteza lipidelor. Lipoproteinele plasmatice. Metabolismul trigliceridelor

Experiența 1. Identificarea acizilor biliari - reacția Petencofer

Principiul reacției. La interacțiunea acizilor biliari cu oximetilfurfuroolul (derivat din zaharoză sub acțiunea acidului sulfuric concentrat) se formează un complex de culoare roșie-violetă.

Modul de lucru. Într-o eprubetă uscată se introduc:

Reactive	
Bilă	2 picături
Zaharoză 20%	2 picături
Conținutul eprubetei se agită.	
Acid sulfuric concentrat	5-6 picături

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Lipidele de rezervă. Triacilglicerolii – structura, proprietățile fizico-chimice, rolul biomedical.

Întrebări pentru autopregătire

1. Importanța lipidelor în alimentație. Acizii grași indispensabili.
2. Digestia și absorbția lipidelor alimentare:
 - a) Rolul acizilor biliari.
 - b) Scindarea triacilglicerolilor, fosfolipidelor, colesteridelor: enzimele, produsele de hidroliză.
 - c) Absorbția produselor de hidroliză a lipidelor.
 - d) Reglarea digestiei lipidelor (acțiunea colecistokininei, secretinei).
 - e) Dereglările digestiei și absorbției lipidelor. Steatoreea pancreatică, hepatică și intestinală.
3. Resinteza lipidelor în enterocite. Formarea chilomicronilor.
4. Transportul sangvin al lipidelor. Lipoproteinele plasmatice: structura, metodele de separare, fracțiile (chilomicronii, VLDL, LDL și HDL), compoziția chimică (lipidele și apoproteinele), metabolismul, funcțiile.
5. Biosinteza triacilglicerolilor: localizarea, reacțiile, enzimele și coenzimele, reglarea.
6. Catabolismul trigliceridelor – reacțiile, enzimele, reglarea hormonală (acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor). Soarta produselor de hidroliză a trigliceridelor.
7. Metabolismul glicerolului: căile de utilizare; oxidarea – reacțiile, enzimele, randamentul energetic.

Probleme de situație

1. Scrieți reacția catalizată de fosfolipaza A₂ pancreatică, indicați denumirile substratului și ale produselor reacției.

Veninul cobrei și al albinelor conține fosfolipaza A₂. Cum afectează enzima nominalizată persoanele mușcate?

2. Care sunt cauzele steatoreei? Ce dereglări metabolice se pot dezvolta în steatoreea persistentă? Ce manifestări clinice și modificări biochimice pot fi prezente în funcție de cauza steatoreei?

3. În stările de stres și de inaniție are loc o mobilizare intensă a triacilglicerolilor din țesutul adipos. Care hormoni stimulează lipoliza?

Indicați schematic căile de utilizare a produselor de hidroliză a trigliceridelor?

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la acizii biliari sunt corecte afirmațiile:

- a) se sintetizează din colesterol
- b) reprezintă enzime lipolitice
- c) se conjugă în ficat cu bilirubina
- d) sunt compuși polari
- e) participă la emulsionarea grăsimilor

2. Selectați compușii care se obțin la digestia lipidelor alimentare:

- a) 2-monogliceridele
- b) lizofosfolipidele
- c) steranul
- d) acizii grași
- e) acidul fosfatidic

3. Care este sediul de sinteză a următoarelor lipoproteine?

- a) LDL enterocitele
- b) VLDL circulația sangvină
- c) chilomicroni ficatul
- d) HDL ficatul, enterocitele

4. Ce apolipoproteine sunt prezente în următoarele lipoproteine?

- a) LDL B100, C, E
- b) VLDL A, C, D, E
- c) chilomicroni B100
- d) HDL B48, C, E

5. Care este principala funcție a următoarelor lipoproteine?

- a) LDL transportă trigliceridele endogene spre țesut adipos, mușchi, miocard
- b) VLDL transportă colesterolul spre țesuturile extrahepatice
- c) chilomicronii transportă colesterolul de la țesuturile extrahepatice spre ficat
- d) HDL transportă trigliceridele exogene spre mușchi, miocard, țesut adipos

6. Selectați afirmațiile corecte referitoare la lipoproteinlipază (LPL):

- a) este prezentă în țesutul adipos, miocard, mușchi scheletici
- b) scindează trigliceridele din chilomicroni și VLDL
- c) este inhibată de apolipoproteina C-II
- d) este inhibată de insulină
- e) este activată de rațiile bogate în lipide și glucide

7. Referitor la biosinteza triacilglicerolilor sunt corecte afirmațiile:

- a) are loc exclusiv în țesutul adipos
- b) se intensifică în inanție
- c) este activată de insulină
- d) se amplifică în diabetul zaharat tipul I
- e) depozitarea trigliceridelor în țesutul adipos este nelimitată

Indicația metodică nr. 13

Tema: Metabolismul acizilor grași. Corpii cetonici

Experiența 1. Identificarea corpiilor cetonici în urină

Principiul metodei: Corpii cetonici (acetona, acidul acetoacetic și acidul β -hidroxibutiric) interacționează în mediul bazic cu nitroprusiatul de sodiu și acidul acetic concentrat formând un compus roșu-vișiniu.

Modul de lucru: În două eprubete uscate se introduc:

Reactive	I eprubetă	II eprubetă
Urină normală	2 picături	-
Urină patologică	-	2 picături
NaOH 10%	2 picături	2 picături
Nitroprusiat de sodiu 10%	2 picături	2 picături
Conținutul eprubetelor se colorează în roșu-oranj		
Acid acetic glacial	6 picături	6 picături
Urina care conține corpi cetonici devine roșie-vișinie. Intensitatea culorii variază în raport direct cu concentrația corpiilor cetonici din urină		

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Acizii grași saturați și nesaturați. Structura, proprietățile fizico-chimice, reprezentanții principali, rolul biomedical.

Întrebări pentru autopregătire

1. Biosinteza acizilor grași – localizarea, etapele, reacțiile, enzimele, coenzimele, reglarea:
 - a) saturați cu număr par de atomi de carbon;
 - b) nesaturați cu număr par de atomi de carbon (monoenici)
2. Beta-oxidarea acizilor grași:
 - a) saturați cu număr par de atomi de carbon (sediul, etapele, reacțiile, enzimele, coenzimele, randamentul energetic, reglarea);
 - b) nesaturați (particularități).
3. Corpii cetonici:
 - a) reprezentanții, structura chimică;
 - b) biosinteza (sediul, substratul, reacțiile);
 - c) utilizarea (țesuturile, reacțiile, produsele finale, randamentul energetic);
 - d) cetonemia și cetonuria (cauzele, mecanismul apariției).

Probleme de situație

1. La ingerarea unei rații bogate în lipide are loc depozitarea lor în țesutul adipos. Indicați cum are loc digestia trigliceridelor alimentare, absorbția produselor de hidroliză a lor, resinteza în enterocite, transportul trigliceridelor spre țesutul adipos și sinteza lor în adipocite.

2. După o ingestie de zaharoză, surplusul de glucoză și fructoză este transformat în ficat în trigliceride. Sinteza trigliceridelor necesită glicerol-3-fosfat, acetyl-CoA, ATP și NADPH. Indicați căile de obținere a acestor compuși din glucide. Care este soarta ulterioară a trigliceridelor sintetizate în ficat?
3. Scrieți structura unui triacilglicerol alcătuit din acizi grași saturați și nesaturați. Calculați care este randamentul energetic al oxidării complete a trigliceridei.

Teste pentru autoevaluare

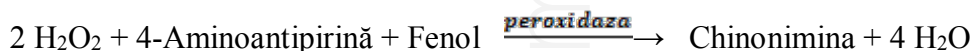
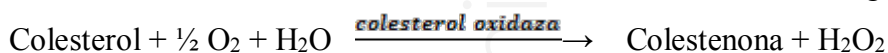
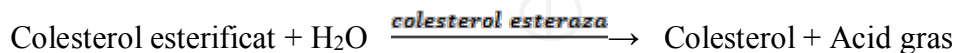
- 1. Selectați procesele în care are loc formarea NADPH:**
 - a) beta-oxidarea
 - b) glicoliza
 - c) oxidarea corpurilor cetonice
 - d) reacția catalizată de enzima malică
 - e) calea pentozo-fosfat de oxidare a glucozei
- 2. Selectați activatorul (1) și inhibitorul (2) acetil-CoA carboxilazei (enzima reglatoare a sintezei acizilor grași):**
 - a) ATP ADP
 - b) AMP ATP
 - c) malonat AMP
 - d) acetoacetat citrat
 - e) citrat palmitoil-CoA
- 3. Selectați ce este necesar pentru oxidarea acizilor grași monoenici (comparativ cu oxidarea acizilor grași saturați):**
 - a) enzima cis- Δ^3 -trans- Δ^2 -enoil-CoA-izomeraza
 - b) o moleculă de FAD suplimentară
 - c) o moleculă de HSCoA suplimentară
 - d) o moleculă de NAD⁺ suplimentară
 - e) o moleculă de apă suplimentară
- 4. Selectați deosebirile dintre oxidarea și biosinteza acizilor grași:**
 - a) sinteza acizilor grași are loc în mitocondrii, iar oxidarea – în citozol
 - b) la sinteza acizilor grași intermediarii sunt legați cu ACP, iar la oxidare – cu HSCoA
 - c) la oxidare se utilizează NAD⁺ și FAD, la sinteză – NADPH
 - d) enzimele beta-oxidării sunt asociate în complex polienzimatic, iar enzimele sintezei – nu
 - e) la sinteză participă malonil-CoA, iar la beta-oxidare – nu
- 5. Selectați afirmațiile corecte referitoare la cetonemie:**
 - a) poate apărea în inaniție îndelungată
 - b) poate fi generată de o dietă săracă în lipide
 - c) este determinată de o rație bogată în glucide
 - d) este cauzată de sinteza sporită a corpurilor cetonice în ficat
 - e) este determinată de utilizarea intensă a corpurilor cetonice în țesuturi
- 6. Referitor la utilizarea corpurilor cetonice în țesuturi sunt adevărate afirmațiile:**
 - a) corpii cetonici sunt utilizați doar de ficat
 - b) acumularea corpurilor cetonice conduce la cetoacidoză
 - c) utilizarea corpurilor cetonice necesită prezența oxaloacetatului
 - d) corpii cetonici sunt utilizați eficient de miocard, creier, mușchii scheletici ca sursă de energie
 - e) corpii cetonici pot fi convertiți în piruvat, apoi în glucoză

Indicația metodică nr. 14

Tema: Metabolismul lipidelor structurale. Reglarea și patologia metabolismului lipidelor

Experiența 1: Determinarea colesterolului în serul sangvin

Principiul metodei: Colesterolul liber și esterificat prezent în ser formează conform reacțiilor de cuplare descrise mai jos, un complex colorat, măsurabil la spectofotometru.



Reagenți:

1. Reagent de lucru:
2. Standard colesterol - 5,2 mM/L

Proba cercetata: ser

Mod de lucru: pipetați în 3 eprubete conform schemei de mai jos:

	Eprubeta N1 – PROBA	Eprubeta N2 - CONTROL	Eprubeta N3 - STANDARD
Reagent de lucru:	1,5 mL	1,5 mL	1,5 mL
Ser	0,015 mL	-	
Standard colesterol	-	-	0,015 mL
<ul style="list-style-type: none">• amestecați și incubați 10 min la temperatura camerei• măsurați absorbanta probei (E_s) și absorbanta standardului (E_{st}) față de control la 500 nm în cuvete de 1 cm.			
Calcularea: Concentrația colesterolului (mM/L) = $E_s \frac{5,2}{E_{st}}$			
Valori normale: pînă la 5,2 mM/L			

Valoarea clinico-diagnostică. Creșterea valorilor colesterolului total se asociază cu creșterea progresivă a riscului aterosclerozei și a bolilor coronariene.

Resultate: $E_s =$ _____
 $E_{st} =$ _____

Concentrația colesterolului = _____

Concluzii: _____

Întrebări pentru autopregătire

1. Biosinteza colesterolului – etapele, reacțiile primei etape (până la acidul mevalonic), enzimele, coenzimele, reglarea. Catabolismul și excreția colesterolului (noțiuni generale).

2. Biosinteza glicerofosfolipidelor: localizarea, reacțiile, enzimele și coenzimele. Substanțele lipotrope, rolul lor.
3. Lipidozele dobândite (obezitatea, ateroscleroza, alcoolismul) – cauzele, modificările metabolice.
4. Reglarea neurohormonală a metabolismului lipidic. Acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor.
5. Relațiile reciproce dintre metabolismul energetic, glucidic și lipidic.

Probleme de situație

1. Ce reprezintă ”ficatul gras”? Descrieți mecanismele biochimice de dezvoltare a ”ficatului gras”.

2. Numiți factorii lipotropi, reacțiile și procesele în care ei participă.

3. Explicați dacă este posibilă sinteza glucozei din trigliceride. Dacă este posibil, indicați schematic calea de sinteză și scrieți reacțiile.

4. Explicați dacă este posibilă sinteza trigliceridelor din glucoză. Dacă este posibil, indicați schematic calea de sinteză și scrieți reacțiile.

Teste pentru autoevaluare

1. Selectați reacția reglatoare a sintezei endogene de colesterol:

- a) formarea beta-hidroxi-beta-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA)
- b) ciclizarea scualenului
- c) formarea 5-pirofosfomevalonatului
- d) sinteza acidului mevalonic din HMG-CoA
- e) condensarea a 2 molecule de acetyl-CoA

2. Selectați procesele în care este utilizat NADPH:

- a) beta-oxidarea acizilor grași
- b) sinteza colesterolului
- c) biosinteza acizilor grași
- d) biosinteza trigliceridelor
- e) biosinteza fosfogliceridelor

3. Selectați și ordonați reacțiile de sinteză a lecitinei:

- a) colină + CTP \rightarrow CDP-colină + H_3PO_4
- b) colină + ATP \rightarrow fosforilcolină + ADP
- c) fosforilcolină + CTP \rightarrow CDP-colină + $H_4P_2O_7$
- d) colină + acid fosfatidic \rightarrow lecitină
- e) CDP-colină + diacilglicerol \rightarrow lecitină + CMP

4. Referitor la obezitate sunt corecte afirmațiile:

- a) se caracterizează prin acumulare excesivă de fosfolipide în țesutul adipos
- b) poate fi cauzată de hiperinsulinism
- c) predispune la boli cardiovasculare, diabet zaharat tipul II
- d) este consecința sedentarismului și a alimentației hipercalorice
- e) nu depinde de regimul alimentar și activitatea fizică

Indicația metodică nr. 15

Totalizare la capitolul "Metabolismul lipidelor"

1. Importanța lipidelor în alimentație. Acizii grași indispensabili.
2. Digestia și absorbția lipidelor alimentare:
 - a) Rolul acizilor biliari.
 - b) Scindarea triacilglicerolilor, fosfolipidelor, colesteridelor: enzimele, produsele de hidroliză.
 - c) Absorbția produselor de hidroliză a lipidelor.
 - d) Reglarea digestiei lipidelor (acțiunea colecistokininei, secretinei).
 - e) Dereglările digestiei și absorbției lipidelor. Steatoreea pancreatică, hepatică și intestinală.
3. Resinteza lipidelor în enterocite. Formarea chilomicronilor.
4. Transportul sangvin al lipidelor. Lipoproteinele plasmatice: structura, metodele de separare, fracțiile (chilomicronii, VLDL, LDL și HDL), compoziția chimică (lipidele și apoproteinele), metabolismul, funcțiile.
5. Biosinteza triacilglicerolilor: localizarea, reacțiile, enzimele și coenzimele, reglarea.
6. Catabolismul trigliceridelor – reacțiile, enzimele, reglarea hormonală (acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor). Soarta produselor de hidroliză a trigliceridelor.
7. Metabolismul glicerolului: căile de utilizare; oxidarea – reacțiile, enzimele, randamentul energetic.
8. Biosinteza acizilor grași – localizarea, etapele, reacțiile, enzimele, coenzimele, reglarea:

- a) saturați cu număr par de atomi de carbon;
 - b) nesaturați (monoenici);
9. Beta-oxidarea acizilor grași:
- a) saturați cu număr par de atomi de carbon (sediul, etapele, reacțiile, enzimele, coenzimele, randamentul energetic, reglarea);
 - b) nesaturați (particularități).
10. Corpii cetonici:
- a) reprezentanții, structura chimică;
 - b) biosinteza (sediul, substratul, reacțiile);
 - c) utilizarea (țesuturile, reacțiile, produsele finale, randamentul energetic);
 - d) cetonemia și cetonuria (cauzele, mecanismul apariției).
11. Biosinteza colesterolului – etapele, reacțiile primei etape (până la acidul mevalonic), enzimele, coenzimele, reglarea. Catabolismul și excreția colesterolului (noțiuni generale).
12. Biosinteza glicerofosfolipidelor: localizarea, reacțiile, enzimele și coenzimele. Substanțele lipotrope, rolul lor.
13. Lipidozele dobândite (obezitatea, ateroscleroza, alcoolismul) – cauzele, modificările metabolice.
14. Reglarea neurohormonală a metabolismului lipidic. Acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor.
15. Relațiile reciproce dintre metabolismul energetic, glucidic și lipidic.