

**Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
„Nicolae Testemițanu”**

Catedra de biochimie și biochimie clinică

BIOCHIMIE

**Ghid de lucrări practice
pentru studenții programului
Stomatologie**

Student _____

Grupa _____

Profesor _____

CHIȘINĂU, 2020

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)

a) 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: _____

b) 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: _____

c) 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: _____

d) 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: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura vitaminelor B1, B2, PP și B6 și a coenzimelor derivatelor lor. Necesitățile diurne. Hipovitaminozele B1, B2, PP și B6.

Subiecte de studiu

1. Noțiuni 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. Noțiuni de holoenzimă, apoenzimă, cofactor, coenzimă, cosubstrat și grupă prostetică.
4. Vitaminele ca coenzime. Structura vitaminelor B1, B2, PP și B6 și a coenzimelor derivatelor lor. Caracteristica funcțională a coenzimelor date.
5. Microelementele în calitate de cofactori.

Itemi pentru lucru individual

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

2. Completați tabelul conform exemplului:

Vitamina	Denumirea	Coenzima	Rolul biologic	Hipovitaminoza Principalele semne clinice
Exemplu : B₁	Tiamina	Tiamin- pirofosfa t (TPP)	1.Decarboxilare a oxidativă a α- cetoacizilor.	Beri-beri; depresie psihică, confuzie mentală,

4. Conectați prin săgeți perechile corecte: enzima – microelementele care sunt necesare pentru activitatea ei:

- | | |
|-------------------|---------------------|
| a) hexokinaza | 1) Ca^{2+} |
| b) lipaza | 2) Mg^{2+} |
| c) amilaza | 3) Mn^{2+} |
| d) ADN-polimeraza | 4) Cl^- |
| | 5) Zn^{2+} |

5. Conectați prin săgeți perechile corecte: enzima – coenzima care este necesară pentru activitatea ei:

- | | |
|--|----------------------|
| a) dehidrogenaze | 1) tiamin-pirofosfat |
| b) aminotransferaze | 2) FAD |
| c) decarboxilaze ale aminoacizilor | 3) NAD^+ |
| d) decarboxilaze ale alfa-cetoacizilor | 4) piridoxalfosfat |
| e) transcetolaze | |

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 unicală 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 referitor 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) piridoxaminfosfat c) tiamin-pirofosfat e) NAD⁺
b) piridoxalfosfat d) FAD

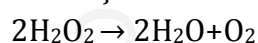
10. Selectați coenzima care participă la reacții de transfer a grupării amino:

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

Indicația metodică nr. 2**Tema: Proprietățile fizico-chimice. Mecanismul de acțiune al enzimelor.
Nomenclatura și clasificarea enzimelor****Experiența 1. Termolabilitatea enzimelor**

Principiul metodei: Enzimele, fiind proteine sunt termolabile. La temperaturi înalte (mai mari decât 45-50°C) ele denaturează și își pierd activitatea.

Notă: Catalaza scindează H₂O₂ conform reacției:

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

Nr.	Reagent	Eprubeta de experiență	Eprubeta martor
1.	Apa distilată	1 ml	1 ml
2	Sânge integral (conține catalază)	2 picături	2 picături
3.	Incubare 5 min	37	100°C
4.	Sol. H ₂ O ₂ , 3%	5-7 picături	5-7 picături
5.	Amestecul se agită		
6.	Rezultatul (da/nu) Eliminare de gaz		

Concluzii: _____

Subiecte de studiu

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. Cinetica reacțiilor enzimatice. Influența concentrațiilor enzimei și substratului, a temperaturii și pH-ului asupra vitezei reacției chimice. Ecuația Michaelis-Menten și semnificația K_m .
3. Specificitatea enzimelor (tipurile, exemple).
4. Nomenclatura (denumirea) și clasificarea enzimelor. Caracteristica generală a claselor și subclaselor principale de enzime. Numărul de cod al enzimei.
5. Principiul de determinare a activității enzimelor. Unitățile de măsură a activității enzimelor.

Itemi pentru lucru individual

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

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) glutatireductaza
- 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:

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

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

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, insuficiență renală cronică și, uneori, după administrarea de opiacee (morfina, codeina, papaverina etc.).

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

- Activarea și inhibiția enzimelor:
 - Activarea enzimelor prin proteoliza limitată. Zimogenii (proenzimele).
 - Inhibiția activității enzimelor (specifică și nespecifică, reversibilă și ireversibilă, competitivă și necompetitivă).
- Reglarea activității enzimelor (reglarea alosterică, reglarea covalentă). Importanța principiului de retroinhibiție.
- Izoenzimele – particularitățile structurale și funcționale, valoarea lor biomedicală.
- Utilizarea enzimelor în practica medicală: enzimodiagnosticul, enzimoterapia, utilizarea enzimelor în laborator.
- Enzimele salivei – reprezentanții principali, rolul biologic, valoarea diagnostică.

Itemii pentru lucru individual

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 20-40⁰C
- 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 enzimatice nu pot fi efectori alosterici
- e) modulatorii alosterici se leagă reversibil în centrele alosterice

6. Selectați mecanismele de reglare a activității enzimelor:

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

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"

Subiecte de studiu

1. Noțiuni 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. Noțiuni 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 enzimatice.
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.

Experiența 1: 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: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

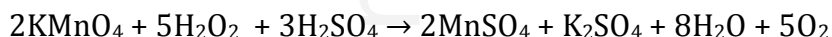
Modul de lucru: În două eprubete se iau câte 1 mL H₂O, se adaugă 2 picături de sânge și o probă se fierbe pentru inactivarea enzimei. După răcire în ambele eprubete se adaugă 5-10 picături de H₂O₂ 3% și conținutul eprubetelor se agită. În eprubeta de experiență se observă degajarea bulelor de oxigen.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

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:

Reactivi, mL	Balonul de titrare cu:	
	proba martor	proba experimentală
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 KMnO ₄ până la roz slab stabil	A=____ mL	B=____ mL

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

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

unde: A – cantitatea soluției de $KMnO_4$ 0,1N consumat la titrarea probei martor (mL),

B - cantitatea soluției de $KMnO_4$ 0,1N consumat la titrarea probei de cercetat (mL).

1,7 – coeficientul care arată câte mg de H_2O_2 se conține într-un mL soluție de H_2O_2 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: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

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. Potențialul oxido-reducător. Conexiunea dintre energia liberă și potențialul redox.
4. Compușii macroergici: rolul, principalii reprezentanți, particularitățile structurale. Compușii supermacroergici.
5. Structura chimică și rolul ATP-ului. Ciclul ATP-ului. Variantele de hidroliză a ATP. Mecanismele de sinteză a ATP.

Itemi pentru lucru individual

1. Câtă energie poate rezulta din hidroliza ATP în condiții standard? Scrieți reacțiile specifice variantelor de hidroliză a ATP-ului și indicați ΔG° pentru fiecare varietate.

2. De ce masa organismului nu se schimbă pe parcursul unei zile, în pofida faptului că cantitatea de ATP care este sintetizată în acest timp este imensă?

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-lui?

- a) repulsia electrostatică
- b) gradul mic de stabilitate a ATP-lui
- c) prezența ionilor de Mg^{2+}
- d) prezența apei
- e) scindarea legăturilor glicozidice din ATP

5. Energia liberă (ΔG) – selectați afirmațiile corecte:

- a) energia liberă standard se notează ΔG° și se calculează: $\Delta G^\circ = -2,303 \cdot R \cdot T \cdot \lg K$;
- b) condiții standard sunt $T=25^\circ C$, concentrația substanțelor - 1,0M, $pH = 7,0$, 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 – selectați afirmațiile corecte:

- 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 – selectați afirmațiile corecte:

- 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 decât ATP-ul:

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

10. Selectați compușii supermacroergici:

- a) creatinfosfatul
- b) acetilfosfatul
- c) ATP
- d) GTP
- e) fosfoenolpiruvatul

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)	Martor (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: _____ $\mu\text{M}/\text{mL}$

Cantitatea piruvatului excretată timp de 24 ore = _____ $\mu\text{M}/24\text{ore}$

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura, proprietățile și rolul mitocondriilor.

Întrebări pentru autopregătire

1. Decarboxilarea oxidativă a piruvatului: complexul polienzimatic, coenzimele, reacția sumară, etapele, reglarea procesului, legătura 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.

Itemi pentru lucru individual

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. Scrieți reacția de fosforilare la nivel de substrat din ciclul Krebs.

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 CO_2
- d) funcționează în condiții anaerobe
- e) în reacțiile ciclului Krebs participă nemijlocit O_2

4. Referitor la reacția: $\text{Succinil-CoA} + \text{GDP} + \text{H}_3\text{PO}_4 \leftrightarrow \text{succinat} + \text{GTP} + \text{HS-CoA}$ 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. 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

6. Selectați reacțiile anaplerotice:

- a) $\text{acetil-CoA} + \text{oxaloacetat} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{citrat} + \text{HSCoA}$
- b) $\text{glutamat} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{alfa-cetoglutarat} + \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{NH}_3$
- c) $\text{succinil-CoA} + \text{glicina} \rightarrow \text{delta-aminolevulinat} + \text{HS-CoA} + \text{CO}_2$
- d) $\text{fosfoenolpiruvat} + \text{CO}_2 + \text{GDP} \rightarrow \text{oxaloacetat} + \text{GTP}$
- e) $\text{piruvat} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{oxaloacetat} + \text{ADP} + \text{H}_3\text{PO}_4$

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) Potențialul de oxido-reducere al componentelor lanțului respirator.
 - c) Schema lanțului respirator. Complexele enzimatice. Inhibitorii 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. Noțiuni de decuplare a proceselor de oxidare și fosforilare. Exemple de decuplare fiziologică și patologică.
5. Noțiuni de oxidare microzomială. Rolul citocromului P450 în reacțiile de oxido-reducere.
6. Noțiuni de stres oxidativ. Speciile reactive ale oxigenului: formarea lor, efectele fiziologice și nocive. Sistemele antioxidante. Vitaminele E și A.

Itemi pentru lucru individual

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

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

3. În mitocondriile grăsimii brune la copiii nou-născuți și la animalele în stare de hibernare randamentul ATP-ului la un atom de oxigen absorbit constituie mai puțin de o moleculă:
- ce funcție fiziologică poate fi determinată prin raportul P/O mic în grăsimea brună a nou-născuților?
 - 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:

- este localizat în membrana externă mitocondrială
- este un proces reversibil
- este alcătuit din enzime și sisteme de oxido-reducere
- transferă H⁺ și e de pe coenzimele reduse pe O₂
- produsul final al LR este H₂O₂

2. Referitor la potențialul de oxido-reducere (E_o) al sistemelor-redox din lanțul respirator sunt corecte afirmațiile:

- este o forță motrice ce determină capacitatea sistemului-redox de a adăuga și a ceda e
- cu cât valoarea E_o este mai electronegativă, cu atât este mai înaltă capacitatea sistemului-redox de a adăuga e
- cu cât valoarea E_o 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_o

3. Referitor la complexul I al lanțului respirator (NADH-CoQ reductaza) sunt corecte afirmațiile:

- a) îndeplinește funcția de colector de H⁺ și e⁻ de la dehidrogenazele NAD⁺-dependente
- b) îndeplinește funcția de colector de H⁺ și e⁻ de la dehidrogenazele FAD-dependente
- c) conține FMN
- d) conține proteine cu fier și sulf (FeS)
- e) conține FAD

4. Referitor la complexul II al lanțului respirator (succinat-CoQ reductaza) sunt corecte afirmațiile:

- a) transferă H⁺ și e⁻ în lanțul respirator doar de pe succinat
- b) conține flavoproteine specializate pentru introducerea H⁺ și e⁻ în lanțul respirator și de pe alte substraturi (acil-CoA, glicerol-3-fosfat)
- c) conține NAD⁺
- d) conține citocromii a și a₃
- e) conține proteine cu fier și sulf (FeS)

5. Referitor la complexul IV al lanțului respirator (citocromoxidaza) sunt corecte afirmațiile:

- a) transferă 4e⁻ de la citocromii c la oxigenul molecular cu formarea a 2O²⁻
- b) O²⁻ interacționează cu protonii, formând apa
- c) conține citocromii b și c₁
- d) conține citocromii a și a₃
- e) conține ioni de cupru

6. Selectați afirmațiile adevărate referitor la citocromi:

- a) reprezintă hemoproteine
- b) funcționarea citocromilor implică transformarea: Fe²⁺ ↔ Fe³⁺
- c) participă la transferul doar a H⁺
- d) transferă H⁺ și e⁻ pe ubichinonă
- e) un citocrom poate transfera 2 e⁻

7. Referitor la mecanismul fosforilării oxidative sunt corecte afirmațiile:

- a) în rezultatul transferului de e⁻ în lanțul respirator (LR) se formează un compus intermediar macroergic
- b) e⁻ servesc modulatori alosterici pozitivi pentru ATP-sintază
- c) transferul de e⁻ în LR generează gradient de protoni între suprafețele membranei interne mitocondriale
- d) H⁺ trec liber prin membrana internă mitocondrială
- e) fluxul de H⁺ este forța motrice ce determină sinteza ATP-ului

8. Selectați afirmațiile corecte referitoare la ATP-sintaza:

- a) este enzimă implicată în fosforilarea la nivel de substrat
- b) 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

9. 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⁺.

10. 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)

11. Oxidarea microzomală are loc în:

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

12. 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

13. Referitor la stresul oxidativ sunt corecte afirmațiile:

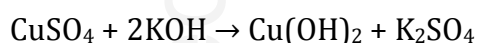
- a) produce radicali liberi ai oxigenului
- b) este cauzat de perturbările lanțului respirator, oxidarea microzomală
- c) este cauzat de perturbările fosforilării oxidative
- d) este o stare normală care rezultă din intensificarea oxidării biologice
- e) este o stare patologică generată de acumularea 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 Cu²⁺ până la Cu⁺ din complexul solubil format în mediul alcalin cu *sarea Seignette* (tartrat dublu de sodiu și potasiu). Se formează Cu₂O, 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: _____

Concluzie: _____

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: _____

Concluzie: _____

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: _____

Concluzie: _____

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).

Subiecte de studiu

1. Rolul biologic și nutritiv al glucidelor.
2. Mecanismele biochimice ale digestiei și absorbției glucidelor. Intoleranța la dizaharide. Impactul glucidelor alimentare asupra integrității sistemului stomatognat.

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).

Itemi pentru lucru individual

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 enzimei	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
- f) 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 glicogenogeneză:

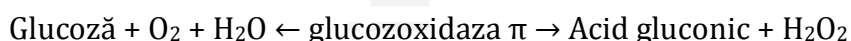
- a) glicogen sintaza
- b) glicogen fosforilaza
- c) fosfoglucumutaza
- d) glucozo-6-fosfataza
- e) UDP-glucozo-pirofosforilaza

Indicația metodică nr. 9

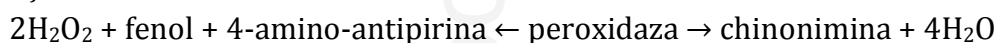
Tema: Metabolismul glucozei

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...7,0 mmol/L

Fenol5 mmol/L

Glucoz-oxidaza.....> 10 U/mL

Peroxidaza> 1 U/mL

4-amino-antipirina.....0,4 mmol/L

2. Proba: ser nehemolizat

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

	Eprubeta N1 Experimentală	Eprubeta N2 Martor
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 simpatice 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** = _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura monozaharidelor (gliceraldehida, dihidroxiacetona, riboza, dezoxiriboza, ribuloza, xiluloza, glucoza, galactoza, fructoza).

Subiecte de studiu

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.

Itemi pentru lucru individual

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 CO₂ și H₂O a unei molecule de lactat? Explicați.

6. Hexokinaza și glucokinaza sunt izoenzime ce catalizează reacția chimică:



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

1. **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

2. **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

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

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, galactoză) 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: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

1. 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.
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.

Itemi pentru lucru individual

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: Glucozo-6-fosfat + NADP⁺ → 6-fosfogluconolactonă + NADPH+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) Glucozo-6-fosfat + NAD⁺ → 6-fosfogluconolactonă + NADH+H⁺
- b) Glucozo-6-fosfat + NADP⁺ → 6-fosfogluconolactonă + NADPH+H⁺
- c) 6-fosfogluconolactona + H₂O → 6-fosfogluconat
- d) 6-fosfogluconat + NAD⁺ → ribulozo-5-fosfat + NADH+H⁺ + CO₂
- e) 6-fosfogluconat + NADP⁺ → ribulozo-5-fosfat + NADPH+H⁺ + CO₂

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

- a) fructoza + ATP → fructozo-6-fosfat + ADP
- b) fructoza + ATP → fructozo-1-fosfat + ADP
- c) fructozo-6-fosfat + ATP → fructozo-1,6-difosfat + ADP
- d) fructozo-1,6-difosfat ↔ gliceraldehid-3-fosfat + dihidroxiacetonfosfat
- e) fructozo-1-fosfat ↔ gliceraldehidă + dihidroxiacetonfosfat

5. Referitor la intoleranța la fructoză sunt corecte afirmațiile:

- a) este cauzată de deficitul ereditar al fructozo-1-fosfaldolazei
- b) este cauzată de deficitul ereditar al fructozo-1,6-difosfaldolazei
- c) se acumulează fructozo-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”

Subiecte de studiu

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.
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: Structura și proprietățile oxido-reducătoare ale principalilor acceptori de protoni și electroni (NAD⁺, FAD, FMN, CoQ). Structura citocromilor și a proteinelor Fe-S. Potențialul de oxido-reducere al

- componentelor lanțului respirator. Schema lanțului respirator. Complexele enzimatică. 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. Metabolismul triacilglicerolilor.

Experiența 1. Identificarea acizilor biliari - reacția Petencofer

Principiul reacției. La interacțiunea acizilor biliari cu oximetilfurfurolul (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: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Acizii biliari – reprezentanții, structura și rolul biologic.
2. Lipidele de rezervă. Triacilglicerolii – structura, proprietățile fizico-chimice, rolul biomedical.

Subiecte de studiu

1. Importanța lipidelor în alimentație. Valoarea nutritivă a lipidelor alimentare. 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. Biosinteza triacilglicerolilor: localizarea, reacțiile, enzimele și coenzimele, reglarea.
5. Catabolismul trigliceridelor – reacțiile, enzimele, reglarea hormonală (acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor). Soarta produselor de hidroliză a trigliceridelor.
6. Metabolismul glicerolului: căile de utilizare; oxidarea – reacțiile, enzimele, randamentul energetic.

Itemii pentru lucru individual

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 | d) sunt compuși polari |
| b) reprezintă enzime lipolitice | e) participă la emulsionarea grăsimilor |
| c) se conjugă în ficat cu bilirubina | |

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

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

3. Referitor la biosinteza triacilglicerolilor sunt corecte afirmațiile:

- are loc exclusiv în țesutul adipos
- se intensifică în inaniție
- este activată de insulină
- se amplifică în diabetul zaharat tipul I
- depozitarea trigliceridelor în țesutul adipos este nelimitată

4. Indicați reacțiile utilizate în biosinteza triacilglicerolilor :

- dioxiacetonfosfat + NADH → glicerolfosfat + NAD⁺
- glicerolfosfat + 2 acizi grași liberi → acid fosfatidic
- glicerolfosfat + 2 Acil-CoA → acid fosfatidic
- acid fosfatidic + H₂O → diacilglicerol + Pi
- acid fosfatidic + 2 Acil-CoA → diacilglicerol + Pi

5. Indicați reacțiile utilizate în biosinteza triacilglicerolilor :

- glicerol + ATP → glicerolfosfat + ADP
- glicerolfosfat + diacilglicerol → acid fosfatidic
- glicerolfosfat + 2 acizi grași liberi → triacilglicerol + Pi
- acid fosfatidic + 3 acizi grași liberi → diacilglicerol + Pi
- diacilglicerol + Acil-CoA → triacilglicerol + CoA

6. Indicați reacțiile utilizate în catabolismul glicerolului :

- glicerol + ATP → glicerolfosfat + ADP
- glicerol + ATP → glicerolfosfat + AMP + Pi
- glicerolfosfat + FAD → dioxiacetonfosfat + FADH₂
- glicerolfosfat + NADH → gliceraldehid-3-P + NAD⁺
- glicerolfosfat + NAD⁺ → dioxiacetonfosfat + NADH

Indicația metodică nr. 13

Tema: Metabolismul acizilor grași. Corpii cetonici

Experiența 1. Identificarea corpurilor 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 corpilor cetonici din urină		

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

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

Subiecte de studiu

- Biosinteza acizilor grași – localizarea, etapele, reacțiile, enzimele, coenzimele, reglarea:
 - saturați cu număr par de atomi de carbon;
 - nesaturați cu număr par de atomi de carbon (monoenici)
- Beta-oxidarea acizilor grași:
 - saturați cu număr par și impar de atomi de carbon (sediul, etapele, reacțiile, enzimele, coenzimele, randamentul energetic, reglarea);
 - nesaturați (particularități).
- Corpuri cetonici:
 - reprezentanții, structura chimică;

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 perechea corectă: activatorul (1) și inhibitorul (2) acetyl-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 deosebiriile 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 cetonici în ficat
- e) este determinată de utilizarea intensă a corpurilor cetonici în țesuturi

6. Referitor la utilizarea corpurilor cetonici în țesuturi sunt adevărate afirmațiile:

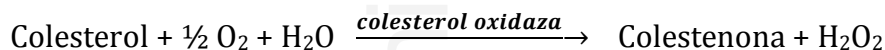
- a) corpii cetonici sunt utilizați doar de ficat
- b) acumularea corpurilor cetonici conduce la cetoacidoză
- c) utilizarea corpurilor cetonici necesită prezența oxaloacetatului
- d) corpii cetonici sunt utilizați eficient de miocard, creier, mușchii scheletici ca sursă de energie
- e) corpii cetonici pot fi convertiți în piruvat, apoi în glucoză

Indicația metodică nr. 14

Tema: Metabolismul lipidelor structurale

Experiența 1: Determinarea colesterolului în serul sanguin

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 in 3 eprubete conform schemei de mai jos:

	Eprubeta N1 – Experimentală	Eprubeta N2 - Martor	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 1cm. 			
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 = _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoaștere

1. Structura colesterolului
2. Structura glicerofosfolipidelor
3. Structura sfingolipidelor

Subiecte de studiu

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. Biosinteza sfingolipidelor – sfingomielinelor și glicolipidelor.
4. Catabolismul tisular al glicerofosfolipidelor și sfingolipidelor.
5. Relațiile reciproce dintre metabolismul energetic, glucidic și lipidic.

Itemi pentru lucru individual

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

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 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. Selectați reacțiile de sinteză a cefalinei:

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

5. Selectați reacțiile de sinteză a fosfatidilinozitolului:

- a) Acid fosfatidic + CTP \rightarrow CDP-DAG + H_3PO_4
- b) inozitol + ATP \rightarrow fosforilinozitol + ADP
- c) fosforilinozitol + CTP \rightarrow CDP-inozitol + $H_4P_2O_7$
- d) CDP-inozitol + DAG \rightarrow fosfatidilinozitol + CMP
- e) CDP-DAG + inozitol \rightarrow fosfatidilinozitol + CMP

6. Selectați reacțiile de sinteză a sfingomielinei:

- a) Ceramid + fosforil-colină → sfingomielină + H₃PO₄
- b) Ceramid + lecitină → sfingomielină + DAG
- c) sfingozină + acid gras + fosforil-colină → sfingomielină + H₄P₂O₇
- d) ceramid + acid gras + fosforil-colină → sfingomielină + H₄P₂O₇
- e) sfingozină + lecitină → sfingomielină + DAG

7. Selectați reacțiile de sinteză a galactocerebrozidei:

- a) Ceramid + Gal → galactocerebrozid
- b) Ceramid + ADP-Gal → galactocerebrozid + ADP
- c) Ceramid + UDP-Gal → galactocerebrozid + UDP
- d) ceramid + Acil-CoA + UDP-Gal → galactocerebrozid + UDP
- e) ceramid + Acil-CoA + CDP-Gal → galactocerebrozid + CDP

Indicația metodică nr. 15

Metabolismul lipoproteinelor plasmatic. Reglarea metabolismului lipidelor. Patologia ereditară și dobândită a metabolismului lipidic

Experiența 1. Determinarea conținutului β-lipoproteinelor în serul sangvin

Principiul metodei. β-lipoproteinele, interacționând cu heparina formează un complex ce se precipită sub influența clorurii de calciu. Cantitatea (intensitatea) precipitatului format este direct proporțională cu conținutul lipoproteinelor.

Modul de lucru: Determinarea β-lipoproteinelor în serul sanguin se efectuează conform schemei:

Reactive	Proba de cercetat	Soluția de comparație
Ser sangvin Clorură de calciu 0,27%	0,02 mL 2 mL	- 2 mL
Conținutul eprubetei se amestecă și se măsoară densitatea optică a soluției experimentale (E ₁) față de soluția de CaCl ₂ (cuvă 5 mm, filtrul de lumină roșie). Soluția din cuvă se toarnă din nou în eprubetă. Apoi se adaugă:		
Soluție de heparină 1%.	0,04 mL	0,04 mL
Conținutul eprubetei se amestecă și exact peste 4 minute se determină densitatea optică a soluției (E ₂).		

Calculul: X (unități) = (E₂ - E₁) · 100,

unde 100 - coeficient standard empiric.

Valorile normale: 35 - 55 unități.

Importanța clinică. Majorarea conținutului β-lipoproteinelor în serul sanguin se constată în ateroscleroză, icter mecanic, afecțiuni hepatice, diabet zaharat, obezitate etc. Scăderea conținutului se întâlnește foarte rar (de exemplu, în plasmocitomă).

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

1. Lipoproteinele plasmatice: structura, metodele de separare, fracțiile (chilomicronii, VLDL, LDL și HDL), compoziția chimică (lipidele și apoproteinele), metabolismul, funcțiile.
2. Reglarea metabolismului lipidic. Acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor.
3. Lipidozele ereditare și dobândite.
 - Lipidozele tisulare ereditare (Neimann-Pick, Tay-Sachs) – cauzele, modificările biochimice, manifestările clinice.
 - Dislipidemiile – cauze, modificări biochimice, manifestări clinice:
 - a) hiperlipoproteinemiile primare (hipercolesterolemia familială).
 - b) hiperlipidemiile secundare (în diabet zaharat).
 - Lipidozele dobândite (obezitatea, ateroscleroza) – cauzele, modificările metabolice.

Itemi pentru lucru individual

1. Care este substratul și produsele reacției catalizate de enzima lipoproteidlipaza (LPL). La nivelul căror țesuturi este localizată enzima? Care este soarta produselor de hidroliză? Ce modificări biochimice și dereglări metabolice sunt caracteristice pentru deficiența enzimei LPL?

2. Scrieți reacția catalizată de lecitincolesterolaciltransferaza (LCAT). Indicați denumirile substraturilor și ale produselor reacției.

Cu ce fracții lipoproteice este asociată această enzimă? Care este soarta produselor reacției? Care sunt consecințele metabolice ale deficienței enzimei LCAT?

7. Indicați prin săgeți funcție principală ce corespunde următoarelor lipoproteine:

- | | |
|------------------|--|
| a) LDL | 1) transportă trigliceridele endogene spre țesut adipos, mușchi, miocard |
| b) VLDL | 2) transportă colesterolul spre țesuturile extrahepatice |
| c) chilomicronii | 3) transportă colesterolul de la țesuturile extrahepatice spre ficat |
| d) HDL | 4) transportă trigliceridele exogene spre mușchi, miocard, țesut adipos |

Teste pentru autoevaluare

1. Indicați sediul de sinteză a chilomicronilor:

- | | |
|-------------------|------------------------|
| a) țesutul adipos | d) sânge |
| b) enterocite | e) enterocite și ficat |
| c) ficat | |

2. Selectați afirmațiile corecte referitoare la VLDL:

- a) este prezent în țesutul adipos, miocard, mușchi scheletici
- b) transportă triacilglicerolii sintetizați în intestin
- c) conține apolipoproteina B-100
- d) transportă triacilglicerolii sintetizați în ficat
- e) conține apolipoproteina B-48

3. Selectați afirmațiile corecte referitoare la LDL:

- a) este sintetizat în ficat
- b) transportă triacilglicerolii sintetizați în intestin
- c) conține apolipoproteina B-100
- d) transportă colesterolul spre ficat
- e) este sintetizat în sânge

4. Selectați afirmațiile corecte referitoare la HDL:

- a) este sintetizat în ficat
- b) transportă triacilglicerolii sintetizați în intestin
- c) conține apolipoproteina B-100
- d) transportă colesterolul spre ficat
- e) este sintetizat în sânge

5. 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

6. Selectați afirmațiile corecte referitoare la ateroscleroză:

- a) este cauzată de creșterea concentrației HDL-colesterolului
- b) se caracterizează prin acumulare de colesterol în macrofage
- c) este cauzată de creșterea concentrației chilomicronilor
- d) este favorizată de LDL oxidate
- e) este determinată de diminuarea concentrației LDL

7. 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. 16

Totalizare la capitolul "Metabolismul lipidelor"

Subiecte de studiu

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. Biosinteza sfingolipidelor – sfingomielinelor și glicolipidelor.
14. Catabolismul tisular al glicerofosfolipidelor și sfingolipidelor.
15. Lipidozele dobândite (obezitatea, ateroscleroza) – cauzele, modificările metabolice. Lipidozele tisulare ereditare. Dislipidemiile.
16. Reglarea neurohormonală a metabolismului lipidic. Acțiunea catecolaminelor, glucagonului, insulinei, glucocorticoizilor.
17. Relațiile reciproce dintre metabolismul energetic, glucidic și lipidic.

SEMESTRUL II

Indicația metodică nr. 1 (17)

Tema: Metabolismul proteinelor simple. Digestia și absorbția proteinelor. Putrefacția aminoacizilor în intestin. Decarboxilarea aminoacizilor

Experiența 1. Determinarea acidității sucului gastric.

Sucul gastric conține acid clorhidric liber, acid clorhidric legat de proteine (numit și HCl combinat), fosfați acizi și acizi organici, ca acidul acetic, acidul butiric, acidul lactic. În sucul gastric supus examinării determinăm **aciditatea liberă (HCl liber)**, **aciditatea combinată (HCl legat)** și **aciditatea totală**. Suma HCl liber și HCl legat constituie **HCl total**. Fosfații acizi și acizii organici formează împreună așa numitele „**substanțe acido-reagente**”. Aciditatea totală a sucului gastric este determinată de prezența HCl (formele liberă și legată), a fosfaților acizi și acizilor organici.

Principiul metodei: HCl este titrat cu o soluție de NaOH 0,1N în prezența reactivului Töpfer-Linossier, ca indicator (dimetilaminoazobenzen + fenolftaleină). Acidul clorhidric liber colorează indicatorul în roșu, iar cel legat în portocaliu. Acizii organici nu schimbă culoarea reactivului.

Notă: Experiența se efectuează cu sucul gastric normal.

Modul de lucru:

1. Într-un balon de titrare se pun 5 ml suc gastric, adăugăm 2 picături de reactiv Töpfer-Linossier. Datorită acidului clorhidric liber, lichidul se colorează în **roșu**.
2. **ATENȚIE:** Citirea volumelor consumate pentru titrarea fiecărui tip de aciditate **se face de la zero - 0;**
3. Cu biureta adăugăm picătură cu picătură NaOH 0,1N, până când culoarea roșie virează spre culoarea **oranj**. Notăm cu V_1 numărul de ml de NaOH utilizați pentru neutralizarea HCl liber.
4. Continuăm titrarea până când se neutralizează cantitatea totală de HCl și soluția își schimbă culoarea în **galben-pai**. Notăm cu V_2 numărul de ml de NaOH utilizați la titrarea HCl legat.
5. Continuăm titrarea până la apariția culorii roz (V_3 - care corespunde acidității totale).

Calcul. Rezultatele se exprimă în grame de HCl la 1000 ml (g HCl/L) suc gastric sau în ml de NaOH 0,1 N consumați la titrarea a 1000 ml suc gastric - unități de titrare (UT).

Pentru exprimarea conținutului HCl în grame trebuie de ținut cont că 1 ml de NaOH 0,1N este echivalent cu 1 ml de HCl 0,1N, iar într-un 1 ml de HCl 0,1N se conține 0,00365 g de HCl.

$$X = (V_1 \cdot 0,00365 \cdot 1000)/5 = V_1 \cdot 0,73 \text{ (g HCl/L)};$$

$$X = (V_1 \cdot 1000 \cdot 0,1)/5 = V_1 \cdot 20 \text{ (UT)};$$

unde: V_1 - cantitatea de NaOH 0,1 N consumat (ml);

0,00365 - conținutul HCl 0,1 N la 1 ml (g)

5 - cantitatea de suc gastric, luat pentru titrare (ml);

0,1 - cantitatea gram-echivalent de NaOH 0,1 N într-un ml;

1000 - recalcul la 1 litru de suc gastric.

Notă: HCl liber = $V_1 \cdot 0,73$ (sau 20);

HCl total = $(V_2 + V_3)/2 \cdot 0,73$ (sau 20);

HCl fixat = HCl total – HCl liber;

Aciditatea totală = $V_3 \cdot 0,73$ (sau 20);

Substanțe acidoreagente = Aciditatea totală – HCl total.

Valori de referință:

În normă la adult:

- **HCl liber** – 0,70-1,50 g HCl/L (20-40 UT);
- **HCl fixat** – 0,30-0,50 g HCl/L (10-12 UT);
- **Aciditatea totală** – 1,50-2,30 g HCl/L (40-60 UT);
- **Subst. acidoreagente** – 0,05-0,20 g HCl/L (2-5 UT).

Rezultate:

$V_1 =$	HCl liber = $V_1 \cdot 20 =$
$V_2 =$	HCl total = $\{ (V_2 + V_3) : 2 \} \cdot 20 =$
$V_3 =$	Aciditatea totală = $V_3 \cdot 20 =$
	HCl fixat = HCl total – HCl liber =
	Substanțe acidoreagente = Aciditatea totală – HCl total =

Valoarea diagnostică: În afecțiunile stomacului aciditatea poate fi nulă (suc anacid), scăzută (suc hipoacid) sau mărită (suc hiperacid). Suc hiperacid poate fi depistat în boala ulceroasă a stomacului și gastrita hiperacidă, ulcer duodenal, stenoze pilorice, ulcer jejuno-peptic, anastomoze porto-cave etc. Sucul gastric poate fi hipoacid în gastrita cronică, ulcer stomacal hipoacid, cancer stomacal, afecțiuni cronice ale colecistitului, stări de subnutriție, boli febrile acute. Sucul gastric se consideră anacid, dacă lipsește complet HCl, iar aciditatea totală este scăzută semnificativ. Această stare poate fi întâlnită în cancerul stomacal, gastrita cronică, anemia pernicioasă.

Concluzii: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Aminoacizii – structura, clasificarea biologică.
2. Mecanismele generale de activare a enzimelor – alosterică, prin proteoliză parțială, prin modificare covalentă și autostructurare cuaternară.
3. Tipurile de specificitate a enzimelor.

Subiecte de studiu

1. Necesarul de proteine în alimentație. Valoarea biologică a proteinelor alimentare. Starea dinamică a proteinelor. Bilanțul azotat. Carența proteică. Noțiuni generale despre alimentația parenterală.
2. Enzimele proteolitice. Mecanismul de activare. Specificitatea de acțiune a proteazelor (pepsinei, tripsinei și chimotripsinei).
3. Digestia proteinelor în stomac. Enzimele proteolitice gastrice. Rolul acidului clorhidric. Secreția HCl și reglarea ei (H^+, K^+ -ATP-aza). Compoziția sucului gastric.
4. Digestia proteinelor în intestin. Enzimele proteolitice pancreatice și intestinale. Reglarea digestiei proteinelor în intestin.
5. Absorbția aminoacizilor în intestin.

3. Pacientul a fost internat cu acuze de dureri abdominale. Investigațiile biochimice au relevat valori crescute ale indicianului. Ce indică creșterea conținutului de indician?

Teste de autoevaluare

1. Care din substanțele enumerate mai jos reprezintă cea mai bogată sursă alimentară de energie pentru om?

- a. lipidele b. glucoza c. glicogenul d. proteinele e. vitaminele

2. Ce proces digestiv este specific pentru stomac?

- a. absorbția produselor finale ale digestiei d. digestia proteinelor
b. emulsionarea lipidelor e. digestia amidonului
c. digestia lipidelor

3. Ce substanță, produsă de celulele stomacului, este necesară pentru absorbția vitaminei B₁₂ din intestinul subțire?

- a. Gastrina b. histamina c. acidul clorhidric d. factorul intrinsec e. pepsinogenul

4. Care din enzimele nominalizate NU participă la digestia proteinelor?

- a. carboxipeptidaza b. chimotripsina c. lipaza d. pepsina e. tripsina

5. Ce funcții fiziologice îndeplinește în organismul uman histamina?

- a. este mediator al sistemului nervos d. dilată vasele sangvine
b. reglează ciclul veghe-somn e. mărește tensiunea arterială
c. crește permeabilitatea vasculară

Indicația metodică nr. 2 (18)

Tema: Metabolismul intermediar al aminoacizilor în țesuturi. Produsele finale ale metabolismului azotat

Experiența 1. Dozarea ureei în urină.

Principiul metodei: Se bazează pe capacitatea ureei de a forma cu dimetilaminobenzaldehida în mediul acid o combinație complexă de culoare galbenă. Intensitatea culorii este direct proporțională cu concentrația ureei în urină.

Modul de lucru: Într-o eprubetă se pipetează 0,2 ml urină și 1,2 ml soluție de dimetilaminobenzaldehidă 2%. Amestecul se agită și se incubează 15 minute la temperatura camerei. Soluția se fotocolorimetrează în cuva de 3 mm grosime și filtrul de lumină albastră (450 nm) contra apei distilate. Cantitatea de uree din urină este **calculată** după curba etalon.

Valorile normale: Cu urina se excretă 20-35 g/24 ore sau 333-585 mmol/24 ore.

Valoarea diagnostică: Creșterea ureei urinare în regim alimentar bogat în proteine și scăderea la vegetarieni sunt variații fiziologice. Creșterea patologică se determină în anemia pernicioasă, stări febrile, hipercatabolism protidic. Conținutul ureei în urină scade în insuficiența renală acută și cronică, insuficiența hepatică decompensată.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Structura și rolul biologic al vitaminei B₆ și coenzimelor derivatelor ei.
2. Ciclul acizilor tricarboxilici Krebs.

Subiecte de studii

1. Transaminarea aminoacizilor: mecanismul, enzimele, coenzimele, semnificația procesului. Valoarea diagnostică a determinării activității transaminazelor (ALAT și AsAT) în sânge.
2. Dezaminarea aminoacizilor. Tipurile. Dezaminarea directă a aminoacizilor. Dezaminarea oxidativă a acidului glutamic (reacția, enzima, cofactorii, importanța procesului).
3. Dezaminarea oxidativă indirectă a aminoacizilor. Etapele. Enzimele, coenzimele. Rolul biologic.
4. Metabolizarea alfa-cetoacizilor obținuți prin dezaminarea aminoacizilor. Aminoacizii cetogeni și glucogeni.
5. Biosinteza aminoacizilor dispensabili (transreaminarea, biosinteza din aminoacizi indispensabili).
6. Mecanismele biochimice ale toxicității amoniacului. Dezintoxicarea amoniacului: sinteza carbamoylfosfatului, aminarea reductivă a α -cetoglutaratului și sinteza glutaminei. Formarea sărurilor de amoniu.
7. Biosinteza ureei. Reacțiile, enzimele, reacția sumară. Importanța clinică a determinării ureei în sânge și în urină.
8. Decarboxilarea aminoacizilor (reacțiile, enzimele, coenzimele). Biosinteza histaminei, serotoninei, rolul lor biologic. Noțiuni generale despre neutralizarea aminelor biogene.

Itemi pentru lucrul individual

1. Completați tabelul:

Glucogeni		Cetogeni		Micști	
Amino-acizii	Alfa-cetoacizii ce se formează la dezaminarea lor	Amino-acizii	Alfa-cetoacizii ce se formează la dezaminarea lor	Amino-acizii	Alfa-cetoacizii ce se formează la dezaminarea lor
Ala	piruvat				

2. Arătați schematic cum se transformă unul din acizii glucogeni în glucoză și unul din acizii cetogeni în corpi cetonici.

3. Care este valoarea diagnostică a determinării activității transaminazelor – AlAT și AsAT, în sânge? Valorile normale. Scrieți reacțiile catalizate de aceste enzime.

4. Care este importanța clinică a determinării ureei în sânge și în urină. Valorile normale ale ureei în sânge și urină. Ce reprezintă hiperamoniemia și uremia? Care sunt cele mai frecvente cauze ale apariției lor și principiile de tratament?

Teste de autoevaluare

1. Dezaminarea oxidativă reprezintă conversia unui aminoacid:

- a) la un cetoacid
- b) la un acid organic și amoniac
- c) la un cetoacid și amoniac
- d) la un hidroxiacid
- e) la un iminoacid și amoniac

2. Selectați reacția de dezaminare oxidativă directă:

- a) glutamat → acid cetoadipic + NH₃
- b) aspartat + alfa-cetoglutarat → glutamat + oxaloacetat
- c) glutamat → alfa-cetoglutarat + NH₃
- d) aspartat + acid cetoadipic → glutamat + oxaloacetat
- e) cisteina → piruvat + NH₃

3. Selectați reacția de transaminare:

- a) glutamat → acid cetoadipic + NH₃
- b) aspartat + acid cetoadipic → glutamat + oxaloacetat
- c) aspartat + alfa-cetoglutarat → glutamat + oxaloacetat
- d) glutamat → alfa-cetoglutarat + NH₃
- e) alanina + alfa-cetoglutarat → piruvat + glutamat

4. Care din aminoacizii enumerați este considerat atât glucogen, cât și cetogen?

- a) Valina
- b) Serina
- c) Triptofanul
- d) Lizina
- e) Nici unul

5. Care din reacțiile enumerate sunt reacții ale ciclului ureogenetic?

- a) Carbamoilfosfat + citrulina → ornitina
- b) Aspartat + citrulina + ATP → argininosuccinat + AMP + P_{Pi}
- c) Argininosuccinat → aspartat + arginina
- d) CO₂ + NH₄⁺ + 2 ADP → carbamoilfosfat + 2 ATP
- e) Argininosuccinat → arginina + ureea

Indicația metodică nr. 3 (19)

Tema: Particularitățile metabolismului unor aminoacizi

Experiența 1. Identificarea acidului homogentizinic în urină

Principiul metodei: Acidul homogentizinic interacționând cu reactivul molibdenic, formează un compus albastru.

Modul de lucru: Se iau două eprubete. În prima se introduc 2 picături de urină colectată de la un om sănătos, iar în a doua – 2 picături de urină colectată de la un om bolnav de alcaptonurie. În fiecare eprubetă se mai adaugă câte 10 picături de apă, 4 picături soluție de fosfat de potasiu de 1%, 4 picături de reactiv molibdenic. Conținutul eprubetelor se agită. În eprubeta cu urină patologică soluția se colorează în albastru.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe:

1. Aminoacizii – structura.
2. Principalele căi ale metabolismului glucidic (glicoliza și gluconeogeneza) și lipidic (sinteza și degradarea trigliceridelor, sinteza și oxidarea acizilor grași, oxidarea glicerolului).

3. Dereglarea metabolismului cărui aminoacid se manifestă prin hiperoxalurie? Care este mecanismul molecular al dezvoltării hiperoxaluriei? Care sunt consecințele clinice ale hiperoxaluriei?

Teste de autoevaluare

1. Afirmațiile adevărate referitor la lizină sunt:

- a) este aminoacid cetogen
- b) este aminoacid mixt
- c) produsul degradării este alfa-cetoglutaratul
- d) produsul degradării este acetoacetatul
- e) este aminoacid glucogen

2. O persoană este diagnosticată cu ciroză hepatică. Amoniacul nu este dezintoxicat și poate afecta sistemul nervos central. Care din aminoacizii enumerați poate fixa și transporta amoniacul?

- a) aspartatul
- b) glutamatul
- c) alfa-cetoglutaratul
- d) oxaloacetatul
- e) serina

3. Care din aminoacizii enumerați participă la sinteza glutatationului (GSH)?

- a) lizina
- b) acidul glutamic
- c) prolina
- d) serina
- e) glicina

4. Organismul uman este dependent de aportul zilnic de vitamine. De ce este necesar acidul folic?

- a) pentru transportul grupelor „tio” în procesele metabolice
- b) pentru transportul fragmentelor monocarbonice în procesele metabolice
- c) pentru transportul grupelor hidroxil în procesele metabolice
- d) pentru completarea rezervelor intermediarilor ciclului acizilor tricarboxilici Krebs
- e) pentru completarea rezervelor intermediarilor ciclului ornitinic Krebs-Henseleit.

5. Ce compuși participă la sinteza glicinei?

- a) serina
- b) treonina
- c) tirozina
- d) FH₄
- e) acidul ascorbic

Indicația metodică nr. 4 (20)

Tema: Metabolismul cromoproteinelor

Experiența 1. Determinarea bilirubinei totale și directe în serul sangvin

a) Determinarea bilirubinei totale în serul sangvin

Principiul metodei. Bilirubina directă în prezența 2,4-dicloroanilinei diazotate în mediul acid formează un azocompus de culoare roșie. Un amestec specific de detergenți permite o determinare sigură a bilirubinei totale.

Reagenți: R1. Soluție-tampon TRIS 8 mmol/L, pH 8,2; NaCl 7 g/L; detergent

R2. Sare de 2,4-diclorofenol-diazoniu 1 mmol/L; HCl 30 mmol/L; detergent

Modul de lucru:

	Eprubeta Experimentală	Eprubeta Martor
Ser sangvin	0,1 mL	-
Apă distilată	-	0,1 mL
Reagent R1	1 mL	1 mL
<ul style="list-style-type: none">se amestecă, se citește extincția inițială a probei (E1) față de blank la 540-560 nm, în cuva de 0,3 cm.		
Reagent R2	0,25 mL	0,25 mL
<ul style="list-style-type: none">se agită, se incubează 10 min la temperatura camerei.se citește extincția finală a probei (E2) față de blank la 540-560 nm, în cuva de 0,3 cm.		

Calculare. Concentrația bilirubinei totale = $(E2-E1) \times 300 \mu\text{mol/L}$.

Notă. Coeficientul 300 a fost calculat reieșind din concentrația și extincția calibratorului.

Valori normale: adulți – 2-21 $\mu\text{mol/L}$

Rezultat: _____

Concluzie: _____

b) Determinarea bilirubinei directe în serul sangvin

Principiul metodei. Bilirubina directă în prezența 2,4-dicloroanilinei diazotate în mediul acid formează un azocompus de culoare roșie.

Reagenți:

R1. Soluție EDTA-Na₂ 0,07 mmol/L; NaCl 6,6 g/L; acid sulfamic 70 mmol/L.

R2. Sare de 2,4-diclorofenol-diazoniu 0,09 mmol/L; HCl 130 mmol/L; soluție EDTA-Na₂ 0,02 mmol/L

Modul de lucru:

	Eprubeta Experimentală	Eprubeta Martor
Ser sangvin	0,1 mL	-
Apă distilată	-	0,1 mL
Reagent R1	1 mL	1 mL
se amestecă, se citește extincția inițială a probei (E1) față de blank la 540-560 nm, în cuva de 0,3 cm.		
Reagent R2	0,25 mL	0,25 mL
se agită, se incubează 10 min la temperatura camerei. se citește extincția finală a probei (E2) față de blank la 540-560 nm, în cuva de 0,3 cm.		

Calculare. Concentrația bilirubinei totale = $(E2-E1) \times 300 \mu\text{mol/L}$.

Notă. Coeficientul 300 a fost calculat reieșind din concentrația și extincția calibratorului.

Valori normale: adulți – 0-3.4 $\mu\text{mol/L}$.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Clasificarea proteinelor. Cromoproteinele – reprezentanții. Structura hemoglobinei. Rolul biologic.

Subiecte de studiu

1. Digestia și absorbția cromoproteinelor.
2. Biosinteza hemoglobinei. Sinteza hemului: sediul, substraturile, ecuațiile primelor două reacții, reglarea procesului și dereglările (porfiriile – noțiuni generale).
3. Catabolismul hemoglobinei. Bilirubina: formarea, conjugarea, excreția biliară, metabolizarea ei în intestin.
4. Hiperbilirubinemiile. Principalele tipuri de icter (prehepatic, hepatic și posthepatic) – dereglările metabolice cardinale și manifestările lor de laborator.

Itemi pentru lucrul individual

1. Care sunt necesitățile diurne de fier ale unei persoane adulte, sănătoase de constituție medie? Ce produse alimentare furnizează fierul necesar organismului? Care este mecanismul absorbției, transportului și depozitării fierului în organism? Ce consecințe negative are carența de fier?

2. Pentru a diferenția tipurile principale de icter conform modificărilor indicilor de laborator ce caracterizează metabolismul pigmentilor biliari completați tabelul:

Tipul de icter		Prehepatic	Hepatic	Posthepatic
Nivelul sangvin al:				
1	Bilirubinei totale			
2	Bilirubinei indirecte			
3	Bilirubinei directe			
Pigmenții urinari				
Pigmenții din masele fecale				

Teste de autoevaluare

1. Sindromul icteric:

- constituie îmbinarea dintre hipobilirubinemie și colorația icterică a tegumentelor, mucoaselor, lichidelor biologice etc.
- în ictere cantitatea bilirubinei este crescută
- tipurile de icter se clasifică după cauza și mecanismul producerii hiperbilirubinemiei
- tipurile de icter se clasifică după agentul patogen ce provoacă hemoliza
- tipurile de icter se clasifică după mecanismul dereglat al eliminării bilirubinei.

2. Icterul prehepatic:

- este provocat de hiperproducerea bilirubinei
- este specific pentru hemolize acute și cronice
- cantitatea bilirubinei totale și conjugate este crescută
- bilirubina neconjugată nu se modifică sau crește nesemnificativ
- cu urina se elimină bilirubină

3. Icterul hepatic:

- este determinat de hemolize masive
- însoțește afecțiunile hepatocelulare
- este caracteristic afecțiunilor biliare
- apare în dereglări ale eliminării biliare
- se întâlnește în toate cazurile enumerate mai sus

4. Icterul posthepatic - cauze:

- hemoliza
- dereglarea conjugării bilirubinei în microzomi
- dereglarea excreției bilirubinei din hepatocit
- stază biliară intrahepatică
- obstacole în eliminarea intestinală a bilei

Indicația metodică nr. 5 (21)

Totalizare la capitolul „Metabolismul proteinelor simple și conjugate”

1. Necesarul de proteine în alimentație. Valoarea biologică a proteinelor alimentare. Aminoacizii dispensabili și indispensabili. Starea dinamică a proteinelor. Bilanțul azotat (pozitiv, negativ și echilibrat), semnificația lui. Carența proteică. Noțiuni generale despre alimentația parenterală.
2. Digestia proteinelor în tractul gastro-intestinal. Rolul acidului clorhidric. Secreția HCl și reglarea ei (H^+, K^+ -ATP-aza). Compoziția sucului gastric. Enzimele proteolitice gastrice. Mecanismul de activare. Specificitatea de acțiune. Importanța clinico-diagnostică a determinării acidității sucului gastric.
3. Digestia proteinelor în intestin. Enzimele proteolitice pancreatice și intestinale. Reglarea digestiei proteinelor în intestin (rolul gastrinei, secretinei și colecistochininei).
4. Absorbția aminoacizilor în intestin. Fondul metabolic comun al aminoacizilor. Soarta aminoacizilor absorbiți. Transportul aminoacizilor în celule.
5. Putrefacția aminoacizilor în intestinul gros. Produsele de putrefacție. Noțiuni generale despre mecanismele de dezintoxicare a produselor toxice în ficat (oxidarea microzomală, conjugarea), agenții de conjugare și enzimele implicate.
6. Alfa-decarboxilarea aminoacizilor: reacțiile, enzimele, coenzimele. Biosinteza serotoninei și histaminei, rolul lor biologic. Noțiuni generale despre neutralizarea aminelor biogene.
7. Dezaminarea aminoacizilor. Tipurile. Dezaminarea oxidativă directă a aminoacizilor. Dezaminarea oxidativă a acidului glutamic – reacția, enzima, cofactorii, importanța procesului.
8. Transaminarea aminoacizilor: reacția generală, enzimele, coenzimele, semnificația procesului. Transaminarea alaninei și a acidului aspartic. Valoarea diagnostică a determinării activității transaminazelor (ALT și AST) în sânge.
9. Transdezaminarea aminoacizilor (dezaminarea oxidativă indirectă). Etapele. Enzimele, coenzimele. Rolul biologic. Valoarea clinico-diagnostică a determinării activității ALAT și AsAT.
10. Soarta alfa-cetoacizilor proveniți din aminoacizi. Noțiune de aminoacizi cetogeni și glicogeni (exemple).
11. Aminoacizii dispensabili și indispensabili. Biosinteza aminoacizilor dispensabili (transreaminarea). Etapele. Enzimele, coenzimele.
12. Mecanismele biochimice ale toxicității amoniacului. Dezintoxicarea amoniacului: sinteza carbamoilfosfatului, aminarea reductivă a α -cetoglutaratului și sinteza glutaminei. Formarea sărurilor de amoniu.
13. Dezintoxicarea amoniacului. Biosinteza ureei: reacțiile parțiale, enzimele, reacția sumară, necesarul energetic, reglarea. Relațiile cu ciclul acizilor tricarboxilici Krebs.
14. Importanța clinico-diagnostică a determinării ureei în sânge și în urină. Valorile normale ale ureei în sânge și urină. Hiperamoniemia și uremia. Cele mai frecvente cauze ale apariției lor și principiile de tratament.
15. Acidul tetrahidrofolic. Structura, rolul acidului tetrahidrofolic în metabolismul aminoacizilor și nucleotidelor.
16. Metabolismul glicinei, serinei și al treoninei. Rolul acidului tetrahidrofolic în metabolismul acestor aminoacizi. Rolul biologic al acestor aminoacizi.

17. Metabolismul prolinei și lizinei. Reacțiile de hidroxilare – enzimele, coenzimele, substanțele necesare, rolul biologic. Rolul biologic al acestor aminoacizi.
18. Hemoglobina: rolul biologic, noțiuni despre structura, formele și biosinteza ei. Biosinteza hemului: sediul, substraturile, ecuațiile primelor două reacții, reglarea procesului.
19. Catabolismul hemoglobinei. Bilirubina: formarea, conjugarea, excreția biliară. Hiperbilirubinemiile. Principalele tipuri de icter: prehepatic, hepatic și posthepatic – cauze, dereglările metabolismului pigmentilor biliari, manifestările de laborator și clinice principale.
20. Biosinteza nucleotidelor purinice: sursele atomilor în inelul purinic, reacțiile până la fosforibozilamină, structura IMP, reacțiile de sinteză a AMP-lui și GMP-lui, reglarea. Reutilizarea purinelor
21. Biosinteza nucleotidelor pirimidinice: sursele atomilor în inelul pirimidinic, biosinteza UTP-lui și CTP-lui. Noțiuni generale despre biosinteza dezoxiribonucleotidelor. Biosinteza nucleotidelor timidilice. Reglarea. Reutilizarea pirimidinelor.
22. Catabolismul nucleotidelor purinice și pirimidinice – noțiuni generale despre căile degradării, produsele finale și soarta lor.
23. Importanța clinico-diagnostică a dozării acidului uric. Valorile normale ale nivelului acidului uric în sânge și urină. Guta – cauzele, manifestările clinice, principiile de tratament.

Indicația metodică nr. 6 (22)

Tema: Metabolismul nucleotidelor

Experiența 1. Dozarea acidului uric în urină

Principiul metodei: Acidul uric (catabolitul final al nucleotidelor purinice) reduce în mediu alcalin reactivul fosfowolframic la albastru de fosfowolframat. Cantitatea de albastru de fosfowolframat se determină prin titrare cu ferocianura de potasiu, care oxidează albastru de fosfowolframat și colorația albastră dispare.

Valorile normale în urina de 24 ore se încadrează între 250-800 mg.

Modul de lucru: La 1,5 ml urină se adaugă 1 ml soluție de carbonat de sodiu de 20% și 1 ml reactiv fosfowolframic. Conținutul probei se agită și se titrează cu soluție de ferocianură de potasiu până la dispariția colorației albastre.

Calculul se efectuează după formula:

$$X \text{ (mg/24 ore)} = 0,8 \cdot a \cdot b / 1,5$$

unde: **0,8** – cantitatea în mg de acid uric, care corespunde unui ml de $K_3[Fe(CN)_6]$;

a – cantitatea de ferocianură de potasiu care s-a consumat la titrare (ml);

b – diureza nictemerală, care constituie circa 1200 – 1600 ml.

Valoarea diagnostică: Hipouricuria se întâlnește în nefrită, insuficiență renală; hiperuricuria – în leucemia granulocitară, în degradarea intensă a nucleoproteidelor, gută, consumul de alimente bogate în purine.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Clasificarea proteinelor. Nucleoproteinele – reprezentanții. Rolul biologic.
2. Structura nucleotidelor.

Subiecte de studiu

1. Digestia și absorbția nucleoproteinelor.
2. Biosinteza nucleotidelor purinice: sursele atomilor inelului purinic, reacțiile până la fosforibozilamină, structura IMP, reacțiile de sinteză a AMP-lui și GMP-lui, reglarea.
3. Biosinteza nucleotidelor pirimidinice: sursele atomilor nucleului pirimidinic, biosinteza UTP-lui și CTP-lui. Noțiuni generale despre biosinteza dezoxiribonucleotidelor. Biosinteza nucleotidelor timidilice. Reglarea.
4. Reutilizarea purinelor și pirimidinelor.
5. Noțiuni generale referitor la catabolismul nucleotidelor purinice și pirimidinice. Guta – cauzele, manifestările clinice, principiile de tratament.

Item pentru lucrul individual

1. Importanța clinico-diagnostică a determinării acidului uric în serul sangvin și în urină. Care sunt cauzele și manifestările clinice ale hiperuricemiei?

2. Explicați mecanismul de acțiune al alopurinolului utilizat pentru tratamentul gutei.

3. Care este mecanismul de acțiune al metotrexatului și al fluoruracilului utilizate în tratamentul cancerului? Ce enzime și ce căi metabolice inhibă aceste substanțe chimice?

Teste pentru autoevaluare

1. Selectați afirmațiile corecte referitoare la digestia nucleoproteinelor:

- a. acizii nucleici nu se supun digestiei în tractul gastro-intestinal
- b. componenta proteică se scindează exclusiv în stomac
- c. acizii nucleici se scindează în stomac
- d. acizii nucleici se scindează în intestinul subțire
- e. scindarea acizilor nucleici are loc preponderent hidrolitic sub acțiunea DNA-zeilor și RNA-zeilor pancreatice

2. Selectați compușii chimici care participă la sinteza nucleotidelor purinice:

- a. ribozo-5-fosfat
- b. derivații tetrahidrofolatului (THF)
- c. acidul glutamic
- d. asparagina
- e. glicina

3. Inozinmonofosfatul (IMP) reprezintă:

- a. intermediar în sinteza nucleotidelor pirimidinice
- b. intermediar în sinteza nucleotidelor purinice
- c. precursor în sinteza AMP-lui și GMP-lui
- d. precursor în sinteza UMP-lui și CMP-lui
- e. produsul catabolismului AMP-lui și GMP-lui

4. Referitor la sinteza AMP-lui din inozinmonofosfat (IMP) sunt corecte afirmațiile:

- a. procesul este inhibat de ATP
- b. sursă de grupare amino pentru AMP este glutamina
- c. sursă de grupare amino pentru AMP este oxaloacetatul
- d. procesul necesită consum de energie sub formă de ATP
- e. procesul este activat de GTP

5. Referitor la sinteza GMP-lui din inozinmonofosfat (IMP) sunt corecte afirmațiile:

- a. procesul necesită NAD⁺
- b. sursă de grupare amino pentru GMP este glutamina
- c. sursă de grupare amino pentru GMP este acidul asparagic
- d. procesul necesită consum de energie sub formă de GTP
- e. procesul este activat de ATP

6. Referitor la reglarea sintezei nucleotidelor purinice sunt corecte afirmațiile:

- a. fosforibozil-pirofosfat-sintetaza (PRPP-sintetaza) este enzimă alosterică
- b. amidofosforiboziltransferaza este enzimă reglatoare
- c. AMP și GMP activează PRPP-sintetaza
- d. ATP și GTP activează amidofosforiboziltransferaza
- e. nucleotidele adenilice și guanilice inhibă enzimele reglatoare

7. Selectați sursele atomilor inelului pirimidinic:

- a. glicina
- b. acidul asparagic
- c. derivații tetrahidrofolatului (THF)
- d. CO₂
- e. asparagina

8. Selectați afirmațiile corecte referitoare la sinteza nucleotidelor pirimidinice (formarea carbamoilfosfatului):

- a. sinteza carbamoilfosfatului nu necesită energie
- b. sursă de grupare amino pentru carbamoilfosfat este amoniacul
- c. sursă de grupare amino pentru carbamoilfosfat este glutamina
- d. pentru sinteza carbamoilfosfatului se utilizează ATP
- e. carbamoilfosfatul este un compus macroergic

9. Referitor la biosinteza dezoxiribonucleotidelor sunt adevărate afirmațiile:

- a. dezoxiribonucleotidele se formează prin reducerea ribonucleotidelor
- b. inițial are loc formarea dezoxiribozei din riboză, care ulterior interacționează cu baza azotată corespunzătoare
- c. reacția este catalizată de o reductază care conține tioredoxină
- d. tioredoxina este o proteină ce conține 2 grupări -SH
- e. la reducerea tioredoxinei participă FADH₂

10. Selectați afirmațiile corecte referitoare la biosinteza nucleotidelor timidilice:

- a. precursorul nucleotidelor timidilice este CMP
- b. precursorul nucleotidelor timidilice este dUMP
- c. donator de grupare -CH₃ pentru timină este S-adenozilmetionina (SAM)
- d. donator de grupare -CH₃ pentru timină este N⁵,N¹⁰-CH₂-THF (tetrahidrofolat)
- e. donator de grupare -CH₃ pentru timină este metionina

11. Referitor la gută sunt corecte afirmațiile:

- a. principala modificare biochimică în gută este uremia
- b. principala modificare biochimică în gută este hiperuricemia
- c. este cauzată de defecte ereditare ale enzimelor implicate în sinteza ureei
- d. este cauzată de defecte ereditare ale enzimelor implicate în sinteza nucleotidelor purinice
- e. este cauzată de defecte ereditare ale enzimelor implicate în catabolismul nucleotidelor purinice

12. Selectați manifestările clinice ale gutei:

- a. artrită gutoasă
- b. xantoame cutanate
- c. tofi gutoși
- d. nefrolitiază
- e. litiază biliară

Indicația metodică nr. 7 (23)

Tema: Biosinteza ADN (replicarea). Reparația ADN și mutațiile.

Mecanismele biochimice ce stau la baza expresiei genelor - transcripția

Experiența 1. Determinarea cantitativă a ADN

Principiul metodei: Dezoxiriboza, din componența ADN, interacționează cu reactivul difenilaminic formând un compus de culoare albastră. Intensitatea culorii este direct proporțională cu cantitatea de ADN.

Modul de lucru:

Nr.	Reagent	Eprubeta de experiență	Eprubeta martor
1.	Hidrolizat din drojdie	1 ml	-
2.	Apă distilată	-	1 ml
3.	Reactiv difenilaminic	2 ml	2 ml
4.	Probele se introduc pe 10 min într-o baie de apă la 100°C. Se răcesc sub un jet de apă.		
	Se măsoară densitatea optică a soluției experimentale (E) față de soluția martor (filtrul de lumină roșie, λ – 680 nm, cuvele de 5 mm grosime).		

Cantitatea (concentrația C) de ADN se determină după curba etalon.

Rezultat: E: _____ C: _____

Concluzie: _____

Experiența 2. Determinarea cantitativă a ARN

Principiul: Riboza din componența ARN interacționând cu reactivul orcinic se colorează în verde. Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația ribozei în soluția cercetată și se determină fotocolorimetric.

Modul de lucru:

Nr.	Reagent	Eprubeta de experiență	Eprubeta martor
1.	Reactiv orcinic	1 ml	1 ml
2.	Hidrolizat din drojdie	1 ml	-
3.	Apă distilată	-	1 ml
	Probele se introduc pe 20 min într-o baie de apă la 100°C. Se răcesc sub un jet de apă.		
	Se măsoară densitatea optică a soluției experimentale (E) față de soluția martor (filtrul de lumină roșie, λ – 680 nm, cuvele de 5 mm grosime).		

Cantitatea de ARN se determină după curba etalon.

Rezultat: E: _____ C: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Tipurile de acizi nucleici, funcțiile și repartizarea lor în celulă.
2. Constituenții acizilor nucleici: bazele azotate, pentozele, acidul fosforic.
3. Nucleozidele și nucleotidele: structura, rolul, nomenclatura.
4. Lanțurile polinucleotidice. Legătura fosfodiestică.

Subiecte de studiu

1. Replicarea ADN la procariote – matrița, substraturile, enzimele. Mecanismul biochimic și etapele biosintezei ADN.
2. Particularitățile replicării ADN la eucariote. Telomerii și telomeraza – rolul și structura.
3. Mecanismele biochimice ale reparației ADN. Enzimele implicate.
4. Mecanismele biochimice ale genezei mutațiilor punctiforme. Rolul biomedical al mutațiilor.
5. Transcripția la procariote: matricea, substraturile, enzimele, mecanismul biochimic. Inhibitorii transcripției.
6. Particularitățile transcripției la eucariote. Modificările posttranscripționale ale ARNm, ARNt, ARNr (processing-ul).
7. Mecanismele biochimice care asigură reglarea expresiei genelor la procariote și eucariote.
8. Transcripția inversă. Mecanismul biochimic și rolul biomedical.

Itemi pentru lucrul individual

1. Care sunt mecanismele ce asigură fidelitatea replicării moleculei de ADN? Care este importanța biologică și medicală a asigurării fidelității replicării ADN?

2. În procesul de replicare, o catenă a moleculei de ADN este sintetizată cu întârziere din cauză că orientarea catenei respective nu coincide cu direcția mișcării furcii replicative. ADN polimeraza sintetizează ambele catene doar în direcția 5'→ 3' , pe când, în cazul catenei întârziate care are orientare opusă mișcării furcii direcția sintezei ar trebui să fie 3'→5'. Explicați și ilustrați cum are loc soluționarea acestui impediment?

3. Numiți asemănările și deosebirile dintre transcripție și replicare. Indicați în tabelul de mai jos prezența sau lipsa anumitor componente sau mecanisme necesare desfășurării acestor două procese.

	Transcripție	Replicare
Matrița		
Substraturile		
Enzimele		
Primeri		
Direcția sintezei		
Etapele		
Mecanismele ce asigură fidelitatea		
Frecvența erorilor		
Rol biologic		

4. Pentru care organisme este caracteristică transcripția inversă? Explicați mecanismul biochimic al acestui proces.

5. Cum se explică faptul că mecanismele biochimice ce stau la baza reglării expresiei genelor la procariote și eucariote sunt diferite?

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la replicare sunt corecte afirmațiile:

- a) sediul este nucleul
- b) direcția creșterii catenei este $3' \rightarrow 5'$
- c) replicarea merge numai într-o singură direcție
- d) replicarea decurge în ambele direcții cu aceeași viteză
- e) angajează simultan întregul cromozom.

2. Complexul ADN-replicaza cuprinde:

- a) ARN-polimerazele I, II, III
- b) decarboxilaza
- c) topoisomerasele
- d) ADN-polimeraza
- e) ADN-ligazele

3. Fragmentele Okazaki:

- a) necesită praimer pentru sinteză
- b) sunt reunite de ADN-ligaze
- c) se formează de ARN-polimeraze II
- d) iau naștere la acțiunea revers-transcriptazelor
- e) reunirea fragmentelor necesită consum de ATP

4. ADN-polimeraza (III):

- a) prezintă un complex multienzimatic
- b) sinteza catenei e procesivă
- c) posedă câteva situsuri - pentru ADN, dRTP și catalitic
- d) sintetizează catena în direcția $3' \rightarrow 5'$
- e) polimerizarea e asigurată de hidroliza ATP

5. ADN-polimeraza (I):

- a) îndepărtează primerii prin activitatea sa $5' \rightarrow 3'$ exonucleazică
- b) adaugă dezoxiribonucleotide prin activitatea sa polimerazică
- c) posedă acțiune de sudare cu consum de ATP
- d) nu posedă funcție de autocontrol
- e) catalizează o copie a ADN identică cu cea matriceală

6. Transcrierea - afirmațiile corecte:

- a) angajează simultan întregul cromozom
- b) vizează numai anumite porțiuni din ADN
- c) informația se citește de pe o singură catenă
- d) necesită prezența ARN polimerazei
- e) informația se citește de pe ambele catene simultan

7. Biosinteza ARN - afirmațiile corecte:

- a) ca substrat servesc ribonucleozidtrifosfați
- b) este un proces procesiv
- c) forța motrică - hidroliza pirofosfatului
- d) mecanismul diferă de cel al replicării
- e) ARN-transcris conține cantități echimoleculare de A și T

8. ARN polimeraza la procariote:

- a) prezintă o holoenzimă
- b) posedă proprietăți nucleazice
- c) pentru sinteză necesită praimer
- d) posedă capacitate de autocontrol
- e) subunitatea sigma recunoaște promotorul

9. Afirmațiile corecte referitoare la ARNp la procariote sunt:

- a) prezintă un pentamer compus din $\sigma\alpha_2\beta\beta'$;
- b) inițierea sintezei necesită prezența holoenzimei;
- c) posedă centre catalitice (2), de fixate a ADN și a substratelor;
- d) tetramerul $\alpha_2\beta\beta'$ al cor-enzimei determină inițierea procesului;
- e) coenzima determină elongarea transcrierii.

Indicația metodică nr. 8 (24)

Tema: Bazele biochimice ale translației (biosinteza proteinelor).

Reglarea biosintezei proteinelor

Experiența 1. Determinarea proteinelor totale din serul sangvin (metoda biuretică)

Principiul metodei: Proteinele interacționează în mediul alcalin cu sulfatul de cupru cu formarea unor compuși de culoare violetă. Intensitatea colorației (extincția E) este direct proporțională cu concentrația (C) proteinelor în ser.

Mod de lucru:

Nr.	Reagent	Eprubeta de experiență	Eprubeta martor
1.	ser sangvin	0,1 ml	-
2.	apă distilată	-	0,1 ml
3.	reactiv biuret	4,9 ml	4,9 ml
Probele se incubează 30 min. la temperatura camerei.			
Se măsoară densitatea optică a soluției experimentale (E) față de soluția martor (filtrul de lumină verde, λ – 540-560 nm, cuvele de 10 mm grosime).			

Calculul se realizează după curba-etalon.

Valoarea diagnostică: În serul sangvin, cantitatea de proteine totale variază între 65-85 g/l. Proteinele din serul sangvin scad până la 40-50 g/l (hipoproteinemie) în nefroze, inanție, ciroze, la pierderea proteinei în urma hemoragiilor și formării exsudatelor. Hiperproteinemia se poate întâlni la pacienți cu mielom, diabet insipid, vomități frecvente, diaree, în cazurile de deshidratare a organismului.

Rezultat: E: _____ C: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Dogma centrală a biologiei moleculare.
2. Structura genelor. Tipuri.

Subiecte de studiu

1. Compoziția generală și structura ribozomilor la pro- și eucariote.
2. Bazele biochimice ale codului genetic. Proprietățile lui.
3. Biosinteza proteinelor la procariote. Etapele: activarea aminoacizilor; translația – inițierea, elongarea, terminarea.
4. Particularitățile biosintezei proteinelor la eucariote și modificările posttranslaționale. Noțiuni generale despre folding-ul proteinelor.
5. Inhibitorii translației (tetraciclina, toxina difterică).
6. Noțiuni generale referitor la polimorfismul proteinelor (hemoglobina și multiplele forme ale enzimelor).
7. Bazele biochimice ale patologiilor ereditare. Noțiuni generale referitor la diagnosticul biochimic al patologiilor ereditare.

Item pentru lucrul individual

1. Completați tabelul de mai jos cu componentele necesare biosintezei proteinelor la **pro-** și **eucariote**.

	Activarea aminoacizilor		Inițierea translației		Elongarea		Terminarea	
	Pro	Eu	Pro	Eu	Pro	Eu	Pro	Eu
Enzimele								
Factorii proteici								
Ionii								
Energie (Sursă și cantitate)								

2. Care tipuri de hemoglobină sunt specifice pentru adult? Care sunt diferențele în ceea ce privește compoziția și proprietățile acestora?

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la aminoacil-ARNt-sintetaze sunt corecte afirmațiile:

- a) recunosc atât aminoacidul, cât și ARNt corespunzător
- b) posedă capacitate de autocontrol
- c) activează pe suprafața ribozomilor
- d) nu necesită ATP
- e) leagă aminoacidul de gr. OH din poziția 3' al cap. 5' din ARNt

2. Activarea aminoacizilor – afirmații corecte:

- a) are loc în citozolul celulei
- b) pentru toți AA există un singur tip de ARNt
- c) la activarea unui aminoacid se consumă energia a 2 leg. macroergice
- d) complexul AA - ARNt se formează la nivelul ribozomilor
- e) reprezintă fixarea aminoacidului de porțiunile anticodon

3. Inițierea sintezei proteinelor necesită:

- a) subunitatea mică și mare a ribozomului
- b) ARNm
- c) peptidiltransferaza
- d) factorii Tu, Ts, G
- e) GTP

4. Referitor la procesul de translație sunt corecte afirmațiile:

- a) sinteza lanțului polipeptidic începe cu cap. C - terminal
- b) aminoacid inițiator la procariote este metionina
- c) donor de formil pentru metionină este N¹⁰ formil - FH₄
- d) formilmet - ARN^fmet se plasează în situsul A
- e) includerea Met și a fMet necesită o singură ARNt

5. Elongarea în biosinteza proteinelor necesită:

- a) complexul de inițiere
- b) aminoacil - ARNt - sintetaza
- c) peptidiltransferaza
- d) factorii Tu, Ts, G
- e) Ca²⁺

6. Etapa de elongare în biosinteza proteinelor se caracterizează prin:

- a) formarea legăturilor peptidice
- b) legarea fmet-tARN^fmet în locusul P
- c) consumul a 2 moli GTP
- d) formarea leg. peptidice între NH₂ a AA din situsul P și COOH din situsul A
- e) deplasarea cu un codon a ribozomului pe ARNm.

7. Modificările posttraducere includ:

- a) formarea hidroxiprolinei din prolină
- b) excizia intronilor
- c) acetilarea capatului N - terminal
- d) metilarea lizinei, argininei
- e) formarea punților disulfidice

8. Alegeti inhibitorii sintezei proteice la nivelul transcripției:

- | | | |
|---------------|-----------------|-----------------|
| a) Amanitina | c) Eritromicina | e) Tunicamicina |
| b) Rifamicina | d) Rifampicina | |

9. Alegeti inhibitorii sintezei proteice la nivelul translației:

- | | | |
|------------------|------------------|--------------|
| a) Tetracicilina | c) Streptomicina | e) Neomicina |
| b) Puromicina | d) Cordicepina | |

10. Care din afirmații referitor la reglarea expresiei genetice sunt corecte?

- a) lactoza scade afinitatea represorului pentru operator
- b) metabolizarea lactozei este reglată numai de complexul CAP - AMPc
- c) metabolizarea lactozei este reglată numai de complexul represor - inductor
- d) corepresorul mărește afinitatea represorului față de operator;
- e) metabolizarea lactozei este dublu reglată (CAP - AMPc, represor - inductor).

Indicația metodică nr. 9 (25)

Totalizare pe capitolul „Metabolismul nucleoproteinelor. Biosinteza acizilor nucleici și a proteinelor”

1. Digestia și absorbția nucleoproteinelor.
2. Biosinteza nucleotidelor purinice: sursele atomilor inelului purinic, reacțiile până la fosforibozilamină, structura IMP, reacțiile de sinteză a AMP-lui și GMP-lui, reglarea.
3. Biosinteza nucleotidelor pirimidinice: sursele atomilor nucleului pirimidinic, biosinteza UTP-lui și CTP-lui. Noțiuni generale despre biosinteza dezoxiribonucleotidelor. Biosinteza nucleotidelor timidilice. Reglarea.
4. Reutilizarea purinelor și pirimidinelor.
5. Noțiuni generale referitor la catabolismul nucleotidelor purinice și pirimidinice. Guta – cauzele, manifestările clinice, principiile de tratament.
6. Replicarea ADN la procariote – matrița, substraturile, enzimele. Mecanismul biochimic și etapele biosintezei ADN.
7. Particularitățile replicării ADN la eucariote. Telomerii și telomeraza – rolul și structura.
8. Mecanismele biochimice ale reparației ADN. Enzimele implicate.
9. Mecanismele biochimice ale genezei mutațiilor punctiforme. Rolul biomedical al mutațiilor.
10. Transcripția la procariote: matricea, substraturile, enzimele, mecanismul biochimic. Inhibitorii transcripției.
11. Particularitățile transcripției la eucariote. Modificările posttranscripționale ale ARNm, ARNt, ARNr (processing-ul).
12. Mecanismele biochimice care asigură reglarea expresiei genelor la procariote și eucariote.
13. Transcripția inversă. Mecanismul biochimic și rolul biomedical.
14. Compoziția generală și structura ribozomilor la pro- și eucariote.
15. Bazele biochimice ale codului genetic. Proprietățile lui.
16. Biosinteza proteinelor la procariote. Etapele: activarea aminoacizilor; translația – inițierea, elongarea, terminarea.
17. Particularitățile biosintezei proteinelor la eucariote și modificările posttranslaționale. Noțiuni generale despre folding-ul proteinelor.

18. Inhibitorii translației (tetraciclina, toxina difterică).
19. Noțiuni generale referitor la polimorfismul proteinelor (hemoglobina și multiplele forme ale enzimelor).
20. Bazele biochimice ale patologiilor ereditare. Noțiuni generale referitor la diagnosticul biochimic al patologiilor ereditare.

Indicația metodică nr.10 (26)

Tema: Hormonii – structura, biosinteza, mecanismele de acțiune.

Mecanismele umorale de reglare a metabolismului. Hormonii hipotalamusului, hipofizei și al glandelor paratiroide

Experiența 1. Determinarea calciului în serul sangvin (metoda murexidică)

Principiul metodei: Murexidul în mediu puternic alcalin formează cu ionii de calciu un complex colorat roz-violet, intensitatea căruia este direct proporțională cu cantitatea de calciu.

Mod de lucru:

Reagenți	Eprubeta	
	Experimentală	Control
H ₂ O (ml)	0,3	0,3
Ser sangvin (ml)	0,1	-
H ₂ O (ml)	-	0,1
Reactiv murexid-glicerinic (ml)	3,0	3,0

Conținutul eprubetelor se agită și se incubează 5 min la temperatura camerei, apoi fotocolorimetrăm la FEC la 490 nm (cuve de 0,5 cm), față de proba de control.

Calcul: $C_{pr} = E_{pr} \cdot C_{st} / E_{st} = \text{---}$ (mmol/l),

unde: C_{st} – concentrația standard a calciului (**2,5 mmol/l**);

E_{st} – extincția probei standard (**0,293**);

C_{pr} – concentrația calciului în proba cercetată;

E_{pr} – extincția probei cercetate.

Valori normale la adulți: 2,25 – 2,75 mmol/l sau 8 -11mg/100ml.

Valoarea clinico-diagnostică:

- variații fiziologice – calcemia este mai mică la femeii în timpul sarcinii, mai mare la nou-născuți, decât la mame și mai crescută la copii, decât la adulți;
- variații patologice – hipocalcemia se întâlnește în hipoparatiroidism, hipertiroidism, insuficiență renală cronică, rahitism și osteomalacie (hipovit. D), steatoree; hipercalcemia se întâlnește în hiperparatiroidism, hipervitaminoza D, tumorile maligne însoțite de catabolism intens al oaselor (cancer mamar, mielom, leucemie, sarcoidoză), hipercalcemia idiopatică la copii.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

1. Noțiuni despre hormoni și substanțe cu acțiune hormonală, utilizarea lor în calitate de preparate farmaceutice.
2. Clasificarea hormonilor, proprietățile generale.
3. Mecanismele de acțiune a hormonilor:
 - a) membrano-citozolic (indirect), rolul G-proteinelor și a mesagerilor secunzi în transmiterea informației hormonale;
 - b) citozolic-nuclear (direct).
4. Hormonii hipotalamusului – liberinele și statinele.
5. Hormonii hipofizei – natura chimică, mecanismul de acțiune, efectul biologic, reglarea secreției și dereglarea ei, folosirea în practică ca preparate medicamentoase.
 - a) familia corticotropinei (ACTH, MSH, lipotropinele și peptidele afiliate);
 - b) familia hormonilor glicoproteici (TSH, FSH, LH și gonadotropina corionică placentară);
 - c) familia hormonilor somatomotropi (STH, prolactina și lactogenul placentar);
 - d) vasopresina și oxitocina.
6. Hormonul glandei paratiroide. Reglarea metabolismului fosforului și al calciului. Tulburările funcției glandei paratiroide.

Itemi pentru lucrul individual

1. Exemple de enzime reglatoare activate prin fosforilare. Ce hormoni și prin ce mecanism realizează fosforilarea enzimelor?

2. Exemple de enzime reglatoare activate prin defosforilare. Ce hormoni și prin ce mecanism realizează defosforilarea enzimelor?

3. Exemple de enzime reglate prin inducție. Ce hormoni induc sinteza lor și care sunt efectele metabolice determinate de aceste enzime?

4. Indicați hormonii care acționează prin intermediul următorilor mesageri secunzi:

AMPC (prin proteina Gs)	AMPC (prin proteina Gi)	GMPc	Ca, IP3 și /sau DAG

5. Caracterizați hormonii ce reglează metabolismul calciului și fosfaților:

HORMONII	Locul sintezei	Reglarea secreției	Mecanismul de acțiune	Țesuturi țintă	Efectele
Parathormonul					
Calcitriolul					
Calcitonina					

Teste pentru autoevaluare

1. Receptorii hormonal sunt:

- | | |
|----------------------------|-------------------|
| a) cromoproteine | d) metaloproteine |
| b) proteine multidomeniale | e) lipoproteine |
| c) glicoproteine | |

2. Referitor la mecanismul membranaro-intracelular sunt corecte afirmațiile:

- a) receptorii sunt situați pe membrana plasmatică
- b) hormonul servește drept mesager secundar
- c) complexul hormon-receptor pătrunde în nucleu
- d) e caracteristic pentru hormonii peptidici
- e) este un mecanism lent

3. Proteina G_s activă:

- a) activează adenilatciclaza
- b) activează proteinkinazele
- c) reprezintă complexul alfa-GTP
- d) este mesager secund al semnalului hormonal
- e) este inactivată de fosfodiesterază.

4. Fosfodiesteraza:

- a) catalizează reacția de scindare a AMP_c
- b) catalizează reacția de formare a AMP_c
- c) este activată de cofeină
- d) este inhibată de viagră
- e) e localizată în nucleu

5. Cofeina inhibă:

- a) fosfodiesteraza
- b) adenilatciclaza
- c) proteina G_s
- d) proteinkinaza A
- e) fosfoprotein fosfataza

6. Referitor la mecanismul citozolic-nuclear de acțiune a hormonilor sunt corecte afirmațiile:

- a) receptorii hormionali sunt situați în nucleu sau citozol
- b) are loc prin intermediul mesagerilor secundari
- c) este un mecanism rapid
- d) complexul hormon-receptor reglează expresia genelor
- e) implică activarea proteinkinazelor

Indicația metodică nr. 11 (27)

Tema: Hormonii glandelor tiroide, suprarenale și sexuale – structura, biosinteza și reglarea secreției. Hormonii pancreatici

Experiența 1. Dozarea fosfaților anorganici din serul sangvin

Principiul metodei: Fosfații anorganici formează cu molibdatul de amoniu în mediu acid fosfomolibdatul de amoniu care fiind tratat cu acid ascorbic formează un complex de culoare albastră. Intensitatea culorii fiind direct proporțională cu cantitatea fosfaților în proba de cercetat.

Mod de lucru:

Reagenți	Eprubeta	
	Experimentală	Control
Centrifugat, ml	5,0	-
H ₂ O, ml	-	5,0
Molibdat de amoniu, ml	1,0	1,0
Acid ascorbic, ml	0,2	0,2
H ₂ O, ml	1,8	1,8

Conținutul eprubetelor se agită și se incubează 20 min la temperatura camerei, apoi citim extincția probei experimentale la fotocolorimetru (filtrul de lumină roșie, cuve de 1,0 cm) față de proba de control.

Calculul se face după curba etalon.

Valori normale la adulți: 0,58 – 0,84 mmol/l sau 1,8-2,6 mg/100ml.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

1. Hormonii pancreatici (insulina, glucagonul). Mecanismul de acțiune a insulinei și glucagonului. Preparate farmaceutice pe baza insulinei sintetizate în laborator.
2. Hormonii glandei tiroide (iodtironinele și tireocalcitonina) – biosinteza și reglarea lor. Hipo- și hiperfuncția glandei tiroide.
3. Hormonii medulosuprarenali (adrenalina, noradrenalina) și corticosuprarenali (gluco- și mineralocorticoizii).
4. Hormonii sexuali:
 - a) estrogenii, acțiunea fiziologică și mecanismul de acțiune;
 - b) androgenii și rolul lor biologic, steroizii anabolizanți ca preparate farmaceutice active.

Itemii pentru lucrul individual

1. Numiți enzimele reglatoare ale glicolizei și ale gluconeogenezei. Efectele insulinei și ale glucagonului asupra acestor enzime.

2. Ce tipuri de diabet cunoașteți? Care sunt cauzele, manifestările clinice și diagnosticul biochimic? Ce investigații biochimice sunt necesare pentru diagnosticarea tipului de diabet zaharat?

3. Numiți hormonii care reglează metabolismul hidro-salin. Care sunt mecanismele lor de acțiune?

Teste pentru autoevaluare

1. Referitor la reglarea sintezei și secreției iodtironinelor sunt corecte afirmațiile:

- a) are loc sub acțiunea tireoliberinei și a tireotropinei
- b) nivelul scăzut de T_3 plasmatic inhibă sinteza tireotropinei
- c) tireotropina inhibă secreția iodtironinelor
- d) în cazul unui conținut scăzut de iod se sintetizează preponderent T_4
- e) glanda tiroidă posedă mecanisme de autoreglare independente de tireotropină

2. Referitor la mecanismul de acțiune a insulinei sunt corecte afirmațiile:

- a) insulina acționează prin mecanismul citozolic-nuclear
- b) mecanismul de acțiune a insulinei este o formă particulară a celui membrano-intracelular
- c) receptorul insulinei este un complex heterotetrameric $\alpha_2\beta_2$
- d) subunitatea beta este extracelulară și leagă insulina
- e) subunitatea beta posedă activitate enzimatică de tip tirozinkinazică

3. Selectați efectele metabolice ale insulinei:

- a) favorizează sinteza trigliceridelor, glicogenului, proteinelor (efect anabolic)
- b) sporește degradarea lipidelor, glicogenului, proteinelor (efect catabolic)
- c) are efecte mitogene: influențează creșterea fetală, diferențierea celulară, procesele de regenerare
- d) reglează sinteza ATP-lui și producerea căldurii
- e) reglează concentrația calciului și a fosfaților

4. Referitor la receptorii adrenergici sunt corecte afirmațiile:

- a) receptorii β sunt cuplați cu proteina G_p și determină formarea DAG și a inozitolfosfaților
- b) toți receptorii adrenergici sunt cuplați cu proteina G_s și determină creșterea concentrației AMPc
- c) receptorii α_1 , α_2 sunt cuplați cu adenilatciclaza prin proteina G_s și determină \uparrow AMPc
- d) receptorii α_2 sunt cuplați cu proteina "Gi" și determină scăderea AMPc
- e) receptorii α_1 determină creșterea concentrației citoplasmice de Ca^{2+} .

5. Referitor la sinteza hormonilor steroidici sunt corecte afirmațiile:

- a) pregnenolona este intermediar comun în sinteza hormonilor steroidici
- b) sinteza hormonilor steroidici nu se reglează
- c) toți hormonii de natură steroidică se sintetizează doar în suprarenale
- d) cortizolul se sintetizează în foliculii ovarieni
- e) progesterona se sintetizează în cortexul suprarenal

6. Referitor la sinteza hormonilor steroidici sunt corecte afirmațiile:

- a) pregnenolona este intermediar comun în sinteza hormonilor steroidici
- b) sinteza hormonilor steroidici nu se reglează
- c) toți hormonii de natură steroidică se sintetizează doar în suprarenale
- d) cortizolul se sintetizează în foliculii ovarieni
- e) progesterona se sintetizează în cortexul suprarenal

7. Corticosteroizii se utilizează:

- a) în tratamentul colagenozelor (reumatism, poliartrită nespecifică)
- b) ca agenți desensibilizanți (în astmul bronhic, bolile alergice)
- c) ca imunodepresanți în transplantarea organelor și țesuturilor
- d) ca agenți fibrinolitici
- e) în calitate de hemostatice

Indicația metodică nr. 12 (28)

Tema: Biochimia sângelui. Componenta chimică a plasmei sanguine.

Experiența 1. Determinarea proteinelor totale din serul sanguin (metoda biuretică)

Principiul metodei: Proteinele interacționează în mediul alcalin cu sulfatul de cupru cu formarea unor compuși de culoare violetă. Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația proteinelor în ser.

Mod de lucru:

№	Reagenți	Eprubeta	
		Experimentală	Control
1	Ser sangvin, ml	0,1	-
2	H ₂ O distilată, ml	-	0,1
3	Reactivul biuret, ml	4,9	4,9
4	Se incubează 30 min la temperatura camerei		
5	Determinăm extincția probei experimentale la FEC față de martor, folosindu-se cuve de 1,0 cm și lungimea de undă 540-560nm (filtru verde). Calculul se realizează după curba-etalon.		

Valoarea diagnostică: În serul sangvin, cantitatea de proteine totale variază între 6,5 și 8,5 gr/100 ml sau 65-85 g/l. Proteinele din serul sangvin scad până la 4-5 g/l (hipoproteinemie) în nefroze, inaniție, ciroze, la pierderea proteinei în urma hemoragiilor și formării exsudatelor. Hiperproteinemia se poate întâlni la pacienți cu mielom, diabet insipid, vomități frecvente, diaree, în cazurile de deshidratare a organismului.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Experiența 2. Determinarea concentrației proteinei totale în serul sangvin (metoda refractometrică)

Principiul metodei. Refractometria se bazează pe capacitatea diferitor medii de a reflecta în mod diferit razele de lumină ce le străbat. Raportul între sinusul unghiului de incidență ($\sin \alpha$) al razei și sinusul unghiului de refracție ($\sin \beta$) poartă denumirea de **coeficient** sau **indice de refracție**:

Indicele de refracție a soluției este $n = \sin \alpha / \sin \beta$ cantitatea, mărimea și structura fizică a particulelor dizolvate, precum și de temperatura mediului înconjurător. În serul sangvin indicele de refracție depinde în primul rând de cantitatea și calitatea proteinelor; un rol mai mic le revine sărurilor și a altor componente. Pentru determinarea indicelui de refracție se

folosesc dispozitive speciale – **refractometre**. Schema de construcție a refractometrului și aspectul extern sunt prezentate în fig. 1.

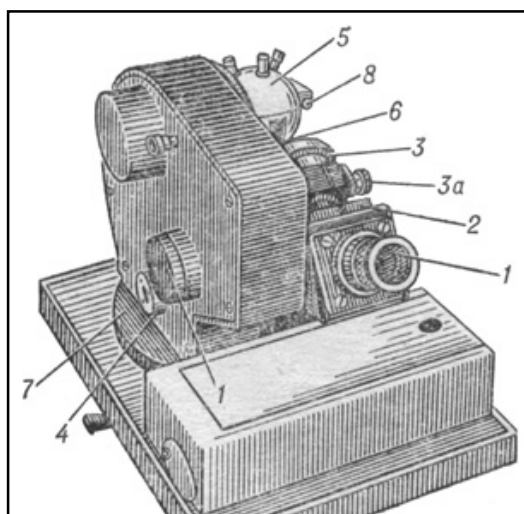


Figura 1. Refractometrul IRF-22

Mod de lucru: Deschidem camera cu prisme (5) și aplicăm pe sticlă 1-2 picături de ser sangvin, apoi închidem camera. Între aceste prisme se formează un strat de soluție proteică. Cu ajutorul oglinzii îndreptăm raza de lumină în ghișeul camerei. Privind în ocular (1) și folosind maneta (3) înlăturăm culorile spectrului la linia de separare a câmpului optic între 2 câmpuri: luminat și întunecat. Cu maneta (7) instalăm punctul de încrucișare a liniilor care se observă în câmpul optic la linia de separare a câmpului. Indicele de refracție se citește după scara din partea stângă a câmpului. După tabelul din pagina următoare determinăm concentrația proteinei în procente.

Conținutul proteinelor în ser (C, %) după valoarea indicelui de refracție (I_{ref})							
I_{ref}	C, %	I_{ref}	C, %	I_{ref}	C, %	I_{ref}	C, %
1,33705	0,63	1,34162	3,28	1,34612	5,90	1,35021	8,28
1,33743	0,86	1,34199	3,50	1,34650	6,12	1,35058	8,49
1,33781	1,08	1,34237	3,72	1,34687	6,34	1,35095	8,71
1,33820	1,30	1,34275	3,94	1,34724	6,55	1,35132	8,92
1,33858	1,52	1,34313	4,16	1,34761	6,77	1,35169	9,14
1,33896	1,74	1,34350	4,38	1,34798	6,98	1,35205	9,35
1,33934	1,96	1,34388	4,60	1,34798	6,98	1,35205	9,35
1,33972	2,18	1,34426	4,81	1,34836	7,20	1,35242	9,57
1,34000	2,40	1,34463	5,03	1,34873	7,42	1,35279	9,78
1,34048	2,62	1,34500	5,25	1,34910	7,63	1,35316	9,99
1,34086	2,84	1,34537	5,47	1,34947	7,85	1,35352	10,20
1,34124	3,06	1,34575	5,68	1,34984	8,06	1,35388	10,41

Notă: 1. Sensibilitatea metodei este de 0,5-1 %; 2. Eroarea este în limita de 10%.

Rezultat: _____

Concluzii: _____

Subiecte de studiu

1. Compoziția chimică a elementelor figurate. Particularitățile metabolismului leucocitelor (granulocitelor, limfocitelor, monocitelor).
2. Compoziția chimică a plasmei sanguine:
 - a) Proteinele plasmei sanguine (albuminele, globulinele, enzimele, imunoglobulinele, interferonul);
 - b) Compușii neproteici azotați ai plasmei sanguine. Azotul rezidual, fracțiile lui în patologie. Uremia. Tratarea acestei patologii (hemodializa, rinichiul artificial);
 - c) Compuși organici neazotați;
 - d) Componentii minerali ai plasmei sanguine. Ionograma sângelui.

3. Coagularea sângelui:

- a) Factorii și schema coagulării sângelui.
- b) Factorii anticoagulanți: anticoagulanți naturali (nativi).
- c) Sistemul fibrinolitic.

Itemi pentru lucrul individual

1. Ce investigații biochimice (enzime, substanțe organice sau neorganice) sunt necesare pentru confirmarea diagnosticului în cazul următoarelor patologii? Cum se vor modifica indicii enumerați? Completați tabelul:

Patologia	Investigări biochimice	Rezultate preconizate
Diabet zaharat		
Hepatită		
Insuficiență renală		

Teste pentru autoevaluare

1. Azotemia este cauzată de:

- a) micșorarea eliminării renale a produselor azotate
- b) aport scăzut de proteine în alimentație
- c) catabolismul intens al proteinelor tisulare
- d) catabolismul intens al lipidelor de rezervă
- e) sinteză excesivă de glicogen

2. Referitor la componența electrolică a sângelui sunt corecte afirmațiile:

- a) principalul ion al lichidului extracelular este K^+
- b) principalul ion al lichidului intracelular este Na^+
- c) hipernatriemia cauzează hipertensiune arterială și edeme
- d) hiponatriemia este prezentă în hiperaldosteronism
- e) hipernatriemia este prezentă în nefrite, insuficiența cardiacă

3. Proteinele plasmatic:

- a) mențin presiunea oncotică
- b) transportă hormoni, metale, vitamine
- c) reprezintă o rezervă de aminoacizi
- d) participă la fagocitoză
- e) participă la menținerea pH-ului fiziologic (7,35-7,4)

4. Albuminele plasmatice:

- a) sunt proteine bazice
- b) sunt hidrofobe
- c) se sintetizează în sânge
- d) constituie 50-65% din conținutul total al proteinelor
- e) mențin presiunea oncotică

5. Selectați factorii coagulării sângelui care participă doar în calea intrinsecă:

- a) factorul VIII - globulina antihemofilică A
- b) factorul X - Prower-Stuart
- c) factorul XI - Rozenthal
- d) factorul V - proaccelerina
- e) factorul IX - globulina antihemofilică B

6. Selectați factorii coagulării sângelui care participă doar în calea extrinsecă:

- a) factorul VII - proconvertina
- b) factorul I - fibrinogenul
- c) factorul III - tromboplastina tisulară
- d) ionii de Ca^{++}
- e) factorul X - Prower-Stuart.

7. Selectați factorii coagulării sângelui care participă atât în calea intrinsecă, cât și în calea extrinsecă:

- a) factorul VIII - globulina antihemofilică A
- b) factorul XI - Rozenthal
- c) factorul V - proaccelerina
- d) factorul I - fibrinogenul
- e) factorul III - tromboplastina tisulară
- f) ionii de Ca^{++} .

8. Trombina:

- a) este sintetizată în formă activă
- b) este sintetizată ca protrombină neactivă
- c) transformă fibrinogenul în fibrină
- d) transformă fibrina-monomer în fibrină-polimer
- e) stabilizează fibrina.

9. Fibrinogenul:

- a) fibrinogenul este sintetizat în ficat
- b) constă din 6 lanțuri polipeptidice identice
- c) se activează în ficat
- d) este transformat în fibrină de către trombină
- e) necesită vitamina K pentru sinteza sa.

10. Transformarea fibrinogenului în fibrină:

- a) are loc în sânge
- b) are loc sub acțiunea protrombinei
- c) constă în carboxilarea resturilor de acid glutamic
- d) constă în detașarea a 2 fibrinopeptide A și 2 fibrinopeptide B
- e) este un proces reversibil.

11. Polimerizarea și stabilizarea fibrinei (formarea trombului):

- a) are loc sub acțiunea trombinei
- b) necesită prezența factorului XIII
- c) are loc sub acțiunea heparinei
- d) necesită prezența ATP-lui
- e) necesită prezența vitaminei K.

12. Selectați substanțele anticoagulante:

- a) derivații cumarinei
- b) acidul epsilon-aminocapronic
- c) malatul
- d) citratul
- e) protrombina.

13. Selectați factorii sistemului fibrinolitic:

- a) heparina
- b) plasminogenul
- c) streptokinaza
- f) tisular al plasminogenului.
- d) urokinaza
- e) activatorul

Indicația metodică nr.13 (29)**Tema: Funcția respiratorie a sângelui. Coagularea sângelui, sistemul fibrinolitic****Experiența 1. Determinarea hemoglobinei în sânge (metoda hemiglobincianurică)**

Principiul metodei: Hemoglobina la interacțiunea cu ferocianura de potasiu se oxidează la methemoglobină. Methemoglobina formează cu acetoncianhidrina un compus colorat în roz, intensitatea colorației fiind proporțională cu cantitatea de hemoglobină.

Modul de lucru:

№	Reagenți	Eprubeta	
		Experimentală	Control
1	Sânge, ml	0,02 ml	-
2	Reagent de transformare, ml	5,0	5,0
3	Se incubează 15 min la temperatura camerei		
4	Determinăm extincția probei experimentale la FEC față de control (soluția de transformare), folosindu-se cuve de 1,0 cm și lungimea de undă 540 nm (filtru verde).		

Calculul se realizează după curba-etalon.

Valori normale la femei: 115-145 g/l; la bărbați:130-160 g/l.

Importanța clinico-diagnostică: Conținutul Hb se micșorează în anemii ferodeficitare, hemoragii etc. Se mărește în eritremii, dehidratare.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

1. Funcția respiratorie a sângelui:
 - a. Transportul oxigenului. Rolul hemoglobinei, mecanismul cooperativ de adiție a oxigenului. Reglarea afinității hemoglobinei față de oxigen (2,3-bifosfogliceratul, pH-ul, temperatura).
 - b. Transportul CO₂ de la țesuturi la plămâni.
2. Noțiuni generale despre hipoxii.
3. Sistemele tampon ale sângelui.
4. Noțiuni generale despre echilibrul acido-bazic. Acidoze și alcaloze.

Itemi pentru lucrul individual

1. Care sunt cauzele acidozei respiratorii și acidozei metabolice? Determinarea căror indici ai echilibrului acido-bazic permite diferențierea lor?

2. Care sunt cauzele alcalozei respiratorii și alcalozei metabolice? Determinarea căror indici ai echilibrului acido-bazic permite diferențierea lor?

Teste pentru autoevaluare

1. **Selectați sistemele-tampon care funcționează atât în plasmă, cât și în eritrocite:**
 - a) bicarbonat
 - b) fosfat
 - c) proteinat
 - d) hemoglobinat
 - e) toate sistemele-tampon enumerate

2. Transportul sangvin al oxigenului (O₂):

- a) O₂ se transportă preponderent în formă dizolvată
- b) O₂ se transportă preponderent în formă de oxihemoglobină
- c) methemoglobina este principala formă de transport al O₂
- d) O₂ se leagă la Fe²⁺ al hemului
- e) O₂ se leagă la subunitățile proteice ale hemoglobinei

3. Factorii ce influențează afinitatea hemoglobinei (Hb) față de oxigen (O₂):

- a) presiunea parțială a oxigenului (pO₂)
- b) pH-ul
- c) temperatura
- d) concentrația 2,3-difosfogliceratului
- e) concentrația 1,3-difosfogliceratului

4. Oxihemoglobina:

- a) conține o moleculă de oxigen (O₂)
- b) O₂ se leagă la Fe³⁺ al hemului
- c) O₂ se leagă la Fe²⁺ al hemului
- d) O₂ se leagă la partea proteică a hemoglobinei
- e) O₂ se leagă la inelul tetrapirolic al hemului

5. Formele de transport sangvin al dioxidului de carbon (CO₂):

- a) dizolvat în plasmă
- b) carbhemoglobina
- c) carboxihemoglobina
- d) methemoglobina
- e) NaHCO₃, KHCO₃

6. Formele patologice ale hemoglobinei sunt:

- a) oxihemoglobina
- b) carbhemoglobina
- c) carboxihemoglobina
- d) methemoglobina
- e) deoxihemoglobina

7. Schimbul de O₂ și CO₂ (selectați și ordonați reacțiile care au loc la nivelul plămânilor):

- a) HHb + O₂ → HHbO₂
- b) KHb + O₂ → KHbO₂
- c) HHbO₂ + KHCO₃ → KHbO₂ + H₂CO₃
- d) KHbO₂ + H₂CO₃ → HHbO₂ + KHCO₃
- e) H₂CO₃ → CO₂ + H₂O.

8. Schimbul de O₂ și CO₂ (selectați și ordonați reacțiile care au loc la nivelul țesuturilor):

- a) HHbO₂ → HHb + O₂
- b) KHbO₂ → KHb + O₂
- c) CO₂ + H₂O → H₂CO₃
- d) KHb + H₂CO₃ → HHb + KHCO₃
- e) HHb + KHCO₃ → KHb + H₂CO₃.

9. Hipoxiile:

- a) reprezintă micșorarea conținutului de oxigen în țesuturi
- b) reprezintă micșorarea conținutului de oxigen în sânge
- c) pot fi cauzate de micșorarea presiunii parțiale a oxigenului în aerul inspirat
- d) pot fi secundare anemiilor
- e) pot fi cauzate de patologii obstructive pulmonare

Indicația metodică nr. 14 (30)

Tema: Biochimia țesutului conjunctiv și osos.

Experiența 1. Determinarea cantității fosfaților în urină

Principiul metodei. Ionii fosfat interacționează cu molibdatul de amoniu în mediu acid formând fosfomolibdatul de amoniu, ce tratat cu acid ascorbic generează un compus complex de culoare albastră. Intensitatea colorației este direct proporțională cantității de fosfat.

Modul de lucru.

Nr	Reagent	Experiență	Martor
1.	Urină filtrată, diluată 1:100	2 ml	-
2.	H ₂ O dist.	-	2 ml
3.	Reactiv molibdenic	1 ml	1 ml
4.	Sol. acid ascorbic	2 ml	2 ml
5.	Se colorimetrează soluția experimentală față de martor în cuve de 5 mm la filtrul de lumină roșie - 680 nm		
6.	Cantitatea de fosfat se determină după curba etalon și se raportează la diureza nictimerală.		

Valorile normale. 1-5g/24 ore

Importanța clinico-diagnostică. Cantitatea de fosfați în urină crește în leucemii, afecțiuni infecțioase, hiperparatiroidoză etc. Se micșorează fosfații urinari în hipovitaminoza D.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Nivel inițial de cunoștințe

1. Particularitățile compoziției și structurii colagenului și elastinei.
2. Particularitățile biosintezei colagenului - etapele intra- și extracelulare.
3. Reglarea metabolismului calciului și fosfaților - rolul hormonilor paratiroid, calcitoninei, glucocorticoizilor, hormonilor sexuali și calcitriolului.

Subiecte de studiu

1. Celulele țesutului conjunctiv, osos și dentare - reprezentanții, rolul lor biologic (noțiuni generale).
2. Matricea extracelulară a țesutului conjunctiv: proteinele țesutului conjunctiv (colagenul, elastina); glucozaminoglicanii - reprezentanții, structura, proprietățile fizico-chimice (generalități), rolul biologic, particularitățile biosintezei și catabolismului lor, reglarea acestor procese; complexe proteoglicanice - compoziția, structura (generalități), funcțiile și metabolismul lor.
3. Compoziția țesutului osos.
 - a) Constituienții minerali ai țesutului osos - anionii și cationii principali, organizarea lor structurală; ionii minori și oligoelementele - rolul lor.
 - b) Compușii organici ai țesutului osos - proteinele fibrilare și nefibrilare; proteoglicanii, glucidele și lipidele - organizarea lor structurală și rolul biologic

4. Remodelarea osoasă. Formarea și resorbția osoasă – mecanismele, enzimele, reglarea (rolul vit. D, C; prostaglandinelor și hormonilor – PTH-ului și calcitoninei). Tulburările homeostaziei osoase: legate de vârstă, ereditare (*osteogenesis imperfecta*) și dobândite (osteoporoza primară și secundară). Repercusiunile dereglărilor homeostaziei osoase asupra stării sistemului stomatognat.

Probleme de situație:

1. Completați tabelul de mai jos:

	Markerii formării osoase	Markeri resorbției osoase
Plasma		
Urina		

2. Aranjați etapele mineralizării veziculare a țesuturilor mineralizate în consecutivitatea corectă:
- creșterea și fuzionarea cristalelor cu formarea unui strat continuu (suprafață de mineralizare), care se situează în urma stratul organic matrice (predețină)
 - se formează fosfatul monoacid de calciu, solubil
 - procesele odontoblastelor secreta lipide ce pot fixa calciul în vezicule
 - formarea cristalelor de apatită

Teste de autoevaluare:

1. Selectați enzimele țesutului osos implicate în metabolismul fazei minerale:

- fosfataza acidă tartrat rezistentă (FATR)
- fosfataza alcalină termolabilă (FAITL)
- proteoglicanaza
- proteinele matriceale (catepsinele, calpainele, metaloproteinele matriceale)
- glicozidazele lizozomale (β -glucuronidaza, β -hialuronidaza, β -galactozidaza etc.)

2. Selectați afirmațiile ce caracterizează remodelarea osoasă:

- resorbția osoasă este mai rapidă comparativ cu formarea
- formarea osoasă este mai rapidă comparativ cu resorbția
- cea mai lungă etapă a remodelării este etapa de repaos
- o arie anumită a osului poate fi formată în 2-3 săptămâni
- o arie anumită a osului poate fi resorbită în 3-6 luni

3. Ce hormoni NU influențează metabolismul țesutului osos?

- PTH și calcitonină
- gluco- și mineralocorticoizi
- oxitocină
- hormonii sexuali
- vasopresină

Indicația metodică nr. 15 (31)

Tema: Biochimia țesuturilor dentare dure, a parodonțiului și salivei

Experiența 1. Identificarea ionului tiocianatului în salivă.

Principiul metodei: Ionii tiocianat (SCN^-) interacționează cu clorura de fier cu formarea tiocianatului de fier de culoare roză sau roșie în dependență de concentrația ionilor.

Modul de lucru: La 5-10 picături de salivă se adaugă 1 ml soluție FeCl_3 1 N. Se agită eprubeta.

Valoarea diagnostică: Ionul tiocianat este o formă inactivată a ionilor CN⁻proveniți din fructe sau metabolismul proteic. Cantități crescute ale acestui compus se constată la fumători și la femeile gravide.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Experiența 2. Identificarea peroxidazei în salivă.

Principiul metodei: Peroxidaza catalizează în prezența H_2O_2 oxidarea benzidinei la para-chinondiimina de culoare verde.

Modul de lucru: La 5-10 picături de salivă se adaugă 5-10 picături de soluție benzidină 1% și 5-10 picături soluție H_2O_2 3%.

Valoarea diagnostică: Peroxidazele constituie un importan factor al protecției antibacteriene și antioxidante ale cavității bucale.

Rezultat: _____

Concluzie: _____

Subiecte de studiu

1. Compoziția țesuturilor dentare dure. Constituienții minerali: reprezentanții, formele, rolul. Constituienții organici ai țesuturilor dentare: reprezentanții, rolul lor.
2. Organizarea structurală a țesuturilor dure ale dinților (smalțului și dentinei).
3. Procesele metabolice normale desfășurate la nivelul dinților.
4. Mecanismul biochimic al mineralizării țesuturilor dentare dure. Procesele biochimice implicate în apariția și dezvoltarea cariei dentare.
5. Biochimia parodonțiului. Compoziția chimică a parodonțiului. Metabolismul normal al parodonțiului. Procesele metabolice patologice desfășurate la nivelul parodonțiului. Placa și tartrul dentar – compoziția chimică, proprietățile și rolul.
6. Biochimia salivei. Rolul salivei. Compoziția chimică a salivei – principalii constituienți anorganici (anioni, cationi) și organici (proteine, enzime, substanțe azotate neproteice, substanțe neazotate), originea și rolul lor. Proprietățile salivei – volumul, pH, viscozitatea, densitatea, fluxul, acțiunea tampon.

Itemii pentru lucrul individual

1. Care este mecanismul acțiunii antibacteriene a fluorului din pastele de dinți?

2. De ce persoanele cu insuficiență renală cronică avansată au un risc sporit de formare a tartrului dentar?

3. Ce microorganisme pot fi identificate în salivă cu scopul diagnosticării unor maladii transmisibile?

4. Cantitatea căror substanțe salivare corelează cu nivelul lor sangvin? Care este valoarea clinico-diagnostică a dozării lor în salivă? Dați exemple.

Teste pentru autoverificare

1. Ce proteine Nu se regăesc în smalț?

- a) Colagen tip II
- b) Amelogeninele
- c) Amelinele
- d) Enamelinele
- e) Tuftelinele

2. Selectați proteinele ce sunt specifice doar dentinei?

- a) colagen tip I - $[\alpha 1(I)]_2[\alpha 2(I)]$
- b) fosforina
- c) osteocalcina
- d) Gla-proteina matriceală
- e) osteonectina

6. Care sunt formele majore ale fosfaților de calciu în țesuturile dentare dure ?

- a) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
- b) $\text{Ca}[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3\text{OH}_2$
- c) $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- d) $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- e) CaHPO_4

7. Ce substanțe produse de bacteriile plăcii afectează parodonțiul?

- a) enzimele lizozomale
- b) histamina
- c) tromboxanele
- d) protrombina
- e) complexe imune circulante

8. Selectați cauzele hiposalivației sau hipoptialismului:

- a) vârsta fragedă
- b) trimestrul I și II al gravidității
- c) erupția dinților
- d) radioterapia regiunii capului și gâtului
- e) afecțiuni sistemice, de ex. Sindromul Sögren

9. Selectați cauzele hipersalivației sau ptialismului sau sialoreei:

- a) erupția dinților
- b) graviditatea (I-II trimestru)
- c) ritm diurn – perioada de noapte
- d) stimulată reflector (miros, gust, masticăție)
- e) ritm circadian – perioada de var

Indicația metodică nr. 16 (32)

Totalizare pe compartimentele „Hormonii”, „Sângele”, „Biochimia sistemului stomatognat”

Întrebări de recapitulare

1. Rolul biologic și clasificarea hormonilor.
2. Mecanismele de acțiune ale hormonilor (membrano-intracelular, citozolic-nuclear).
3. Relațiile reglatoare între hipotalamus, glandele endocrine și țesuturile țintă.
4. Hormonii hipotalamusului – structura (noțiuni generale), reglarea sintezei și secreției, efectele biologice.
5. Hormonii hipofizari: a) generalități despre clasele, structura, sinteza și rolul biologic al hormonilor adenohipofizari; b) hormonii neurohipofizari – vasopresina și oxitocina – structura; rolul biologic.
6. Hormonii ce reglează metabolismul calciului și fosfaților – paratirina, calcitonina, dihidroxicoalecalciferolul – structura; sinteza și secreția, reglarea lor; transportul sangvin; efectele biologice; inactivarea; rolul în metabolismul țesuturilor dentare. Dereglările generale și dentare condiționate de hiper- și hipoproducția PTH, calcitoninei și 1,25-(OH)₂D₃.
7. Hormonii tiroidieni: tiroxina, triiodtironina – structura; noțiuni despre sinteza, secreția și reglarea lor; efectele biologice.
8. Hormonii pancreasului: insulina, glucagonul – noțiuni despre structura, sinteza, secreția și reglarea lor, efectele biologice.
9. Hormonii medulosuprarenali: adrenalina și noradrenalina – structura, noțiuni generale despre sinteza și reglarea secreției, efectele biologice.
10. Hormonii corticosuprarenali. Glucocorticoizii (hidrocortizon, corticosteron), mineralocorticoizii (aldosteronul) – structura; noțiuni generale despre sinteză; efectele biologice.
11. Hormonii sexuali: estrogenii (estradiol), androgenii (testosterona) - structura, noțiuni generale despre sinteză, rolul biologic.
12. Sângele. Funcțiile și compoziția chimică.
13. Proteinele plasmei sangvine. Caracteristica generală și rolul lor. Conținutul normal de proteine în plasmă. Noțiune de hipo-, hiper-, dis- și paraproteinemii. Cauzele lor.
14. Enzimele sângelui. Clasificarea, reprezentanții. Noțiune de enzime organospecifice, exemple. Valoarea diagnostică a determinării activității enzimelor plasmatiche.
15. Substanțele azotate neproteice ale plasmei. Proveniența și rolul lor. Noțiune de azot rezidual. Frațiile lui. Modificările în patologii.
16. Substanțele organice neazotate ale plasmei sangvine (glucidele, lipidele, acizii organici) – reprezentanții, rolul lor.
17. Noțiuni generale despre lipoproteinele plasmatiche: structura și funcțiile lor.
18. Substanțele minerale ale plasmei – principalii anioni și cationi, oligoelementele. Rolul lor.
19. Noțiune de echilibru acido-bazic. Valoarea fiziologică a pH-ului sangvin. Mecanismele fizico-chimice ale menținerii echilibrului acido-bazic (sistemele tampon). Mecanismele fiziologice ale menținerii echilibrului acido-bazic: rolul rinichilor, plămânilor, tractului digestiv.
20. Noțiuni generale despre dereglările echilibrului acido-bazic: acidoze și alcaloze metabolice și respiratorii.
21. Rolul salivei în menținerea echilibrului acido-bazic.

22. Noțiuni generale despre structura și rolul hemoglobinei în organism. Liganzii fiziologici și patologici ai hemoglobinei.
23. Funcția respiratorie a sângelui. Schimbul de gaze în plămâni. Formele de transport ale oxigenului. Modul de fixare a oxigenului la hemoglobină. Factorii ce influențează afinitatea ei față de oxigen.
24. Funcția respiratorie a sângelui. Schimbul de gaze în țesuturile periferice. Formele de transport ale bioxidului de carbon. Modul lui de fixare la hemoglobină.
25. Noțiuni generale de hipoxie. Tipurile principale și cauzele lor.
26. Reglarea fluidității sangvine. Sistemul coagulant: compoziția și rolul lui biologic. Reacțiile în cascadă ale mecanismelor intrinsec și extrinsec ale coagularii. Factorii ce le declanșează.
27. Vitamina K: originea, structura, rolul în coagularea sângelui, manifestările hipovitaminozei.
28. Noțiuni generale despre sistemul anticoagulant (antitrombinele, heparina) și fibrinolitic.
29. Principalele dereglări ale homeostaziei fluido-coagulante a sângelui - hemofiliile - cauzele și manifestările lor (generalități).
30. Proteinele fibrilare ale matricei extracelulare a țesutului conjunctiv. Colagenul și elastina - particularitățile compoziției chimice, organizării structurale, proprietăților, biosintezei, modificărilor postsintetice și degradării lor.
31. Rolul și compoziția țesutului osos (celulele și componentele necelulare). Constituienții organici ai țesutului osos: proeinele fibrilare și nefibrilare, proteoglicanii, glucidele și lipidele.
32. Constituienții minerali ai țesutului osos: principalii anioni și cationi, oligoelementele. Combinațiile lor majore și minore. Organizarea lor structurală. Apatita. Componentele, organizarea structurală, proprietățile.
33. Remodelarea osoasă. Etapele. Celulele ce participă și rolul lor. Condițiile necesare. Mecanismul.
34. Reglarea metabolismului țesutului osos. Rolul hormonilor (paratirina și calcitonina) și a substanțelor ne hormonale (vitamine, substanțelor minerale etc.).
35. Modificările homeostaziei osoase: legate de vârsta și de vindecarea fracturilor; de dereglări hormonale; osteoporoză.
36. Țesuturile dentare: caracteristica generală, rolul lor.
37. Constituienții anorganici ai țesuturile dentare: reprezentanții principali, formele lor, rolul biologic, variațiile cantitative.
38. Organizarea structurală a substanței minerale a țesuturilor dentare (celula elementară și cristalele de apatită).
39. Compușii organici ai țesuturilor dentare: proteinele fibrilare și nefibrilare, enzimele, glucidele, lipidele, acizii organici. Caracteristica generală. Rolul lor.
40. Metabolismul țesuturilor dentare (procesle biochimice normale desfășurate la nivelul dinților).
41. Modificările structurii dinților cauzate de carii. Mecanismele apariției și dezvoltării cariilor dentare.
42. Parodonțiul. Constituienții chimici principali: caracteristica lor, rolul biologic. Procesele biochimice fiziologice desfășurate la nivelul parodonțiului. Procesele biochimice implicate în patologiile parodonțiului: rolul mediatorilor inflamației, sistemului imun și umoral.
43. Placa și tartrul dentar. Compoziția chimică. Procesele metabolice principale ce se desfășoară la nivelul lor. Relația cu procesul carios și bolile parodonțiului.
44. Saliva. Originea. Compoziția chimică. Proprietățile fizico-chimice principale. Rolul ei.