

Homeostazia metabolică

- Funcționarea normală a celulelor și țesuturilor în toate organismele necesită energie, care este obținută din hrana consumată ce conține proteine, lipide și carbohidrați.
- Excesul de substanțe chimice, capabil de a furniza energie este depozitat, dar eliberarea de energie este strict necesară pentru menținerea homeostazei – tendința sistemelor biologice de a menține condițiile chimice la un nivel relativ constant în mediul lor intern.

1

- Unele organe, țesuturi și celule sunt furnizori metabolici, altele – consumatori.
- Fiecare membrana celulară acționează ca o barieră pentru menținerea componentei celulare și grație energiei este capabilă de a regla gradientul de ioni și metaboliți în celulă.
- Organele servesc ca rezervoare de sinteză a metaboliților necesari homeostazei, la fiecare nivel.
- Homeostazia este reglată și de sistemul endocrin.

2

- Fluxul de metaboliți prin căi biochimice este reglat de către necesitatea energetică, controlul alosteric al activității enzimelor, modificarea reglării enzimelor și schimbul gradului de sinteză sau degradare a lor.
- Hormonii adesea influențează aceste procese și respectiv metaboliții modulează secreția lor.
- Astfel, multe inele de interconectare feed-back asigură reglarea pozitivă și negativă care determină homeostazia.

3

- Pentru menținerea necesităților energetice procesele metabolice ale ființelor umane sunt foarte multilaterale, utilizând combustibili cum sunt carbohidrații, lipidele și proteinele.
- Dacă carbohidrații sau proteinele sunt întrebuințate în excesul cantității necesare, pentru menținerea optimă a aprovizionării cu glicogen sau proteine în țesuturi, apoi excesul este transformat în grăsime.
- Transformarea în grăsime este un proces biochimic ireversibil.

4

- În rezultat corpul conservă componente pe care le poate interconverta, le folosește pentru aprovizionare cu energie cînd este necesar, sau le transformă în acizi grași ce este mult mai eficient de a depozita carbon în formă de grăsime.
- Corpul tinde de a păstra rezervele sale de proteine și a ceda din rezervele sale preferențial în timpul necesității de energie.
- Ciclul acizilor tricarboxilici (TCA) și β -oxidarea sunt strîns legate cu transportul de electroni prin intermediul nicotinamidei și flavin nucleotidei către ADP și ATP.

5

- Ciclul TCA, în celule, funcționează numai în prezența ADP-ului (spre exemplu cînd ATP este utilizat).
- Astfel, oxidarea hranei preliminare este determinată de necesitatea energiei și nu poate transforma excesul de hrană în produse care deja pot fi eliminate.
- În consecință, reglarea greutății corpului este determinată de:
 - hrana consumată;
 - pierderea de căldură;
 - pierderea de energie (exercițiul fizic).

6

- Activitatea metabolică a fiecărui organ depinde de funcțiile sale specifice și energia necesară pentru a putea asigura aceste funcții.
- Cantitatea energiei care este necesară poate fi determinată de cantitatea generată de ATP din momentul cînd majoritatea oxigenului este folosit de către mitocondrie pentru a produce ATP.
- De obicei, creierul unui adult (~ 2% din greutatea corpului) folosește 20% din oxigenul consumat, pentru comparație – mușchii scheletici (~ 40% din greutatea corpului) consumă numai 30% din oxigen.

7

- În timpul efortului muscular consumul de oxigen de către creier nu se schimbă.
- Această diferență dintre țesuturi ilustrează flexibilitatea metabolică.
- O mare diferență în consumul oxigenului de către țesutul mușchilor este acompaniată de o mare variație de utilizarea combustibilului și producerea metaboliților în timp ce homeostazia ca proces global este menținută.

8

- Mușchii scheletici au cea mai mare capacitate glicolitică reflectând nevoia de a genera rapid ATP pentru contracția musculară.
- Activitatea mușchilor scheletici se bazează pe glicoliză, pentru explozie de travaliu de înaltă intensitate, în condiții de insuficiență de oxigen.
- Alte țesuturi, care de asemenea, sunt posesorii capacității glicolitice sporite sunt creierul și inima.
- În orice caz, inima, care are o capacitate mai mare decât mușchii scheletici de a obține energia oxidativă din alte surse decât glucoza, rar se bazează pe glicoliză în scopul obținerii energiei.

9

- Creierul ca preferință, utilizează glucoza.
- Ficatul și rinichii care nu metabolizează glucoza la un nivel distinctiv se axează pe oxidarea acizilor grași în scop energetic.
- Ritmul limitat al enzimelor de gluconeogeneză pune în evidență activități sporite în ficat și rinichi.
- Activitatea glicolitică redusă reflectă faptul că ficatul și rinichii sunt producători de glucoză în timp ce alte țesuturi sunt consumatori ai acesteia.

10

Rolul metabolic al organelor

- *Ficatul:*
 - Ficatul unui adult de 70 kg cântărește aproximativ 1,5 kg sau în jur de 2% din masa corpului.
 - Tipul celulelor cel mai des întâlnit în hepatocite, este de origine epitelială.
 - Amplasat între tractul intestinal și circulația mare, ficatul are o legătură unică cu pancreasul endocrin; insulina și glicagonul, rezultate din pancreas, au rol proeminent în homeostazia metabolică.

11

- Ficatul primește o cantitate mare de sânge din tractul intestinal - prin intermediul venei portă și o cantitate mică de sânge prin artera hepatică, și o pompează prin intermediul venelor hepatice spre vena cavă inferioară.
- Este primul organ care întâlnește hrană rezultată din intestin, cu excepția lipidelor.
- Prin furnizare de bilă (ce conține acizi biliari și colesterol) în intestin, ficatul predomină în homeostazia colesterolului.
- Ficatul are cea mai mare flexibilitate metabolică din toate organe și posedă o adaptare uriașă la fluxurile metabolice și hrană.

12

- El rapid își schimbă mărimea și conținutul de glicogen și proteine.
- În stare de saț 5-10% din greutate aparține glicogenului, dar după 24 de ore el dispare aproape în totalitate.
- După o zi sau două, urmând o dietă cu conținut sporit de proteine, ficatul arată o creștere în activitatea enzimelor care sunt implicate în metabolismul aminoacidic și în gluconeogeneză.
- Un efect opus o are dieta cu conținut sporit de carbohidrați.

13

- Ficatul este locul primar de depozitare a glicogenului și furnizare a glucozei în sânge.
- El de asemenea joacă rolul principal în homeostaza lipidelor, proteinelor și azotului.
- La un adult de rînd ficatul exportă zilnic 180g de glucoză, 100g de triacilgliceroli și 14g de albumină.
- Energia metabolică a ficatului derivă primar din oxidarea acizilor grași.

14

Rolul ficatului în metabolism

- Ficatul are un rol metabolic multiplu.
- În condiții normale și în situații patologice, el constituie "laboratorul central al organismului".
- În ficat, spre deosebire de orice alt organ, interdependența metabolismelor hidraților de carbon, ale grăsimilor, proteinelor constituie o condiție indispensabilă a diversității sale funcționale.

15

- Fondul metabolic intracelular este extrem de larg implicat în activitatea specifică a celulei hepatice, care are o mare capacitate anabolică și o caracteristică energetică deosebită.
- Hepatocitele sunt detaliat studiate datorită disponibilității lor mari (chiar și la om), precum și simplității de obținere a elementelor ultrastructurale (nuclee, mitocondrii etc.).
- Prin cele 2 tipuri de celule parenchimatose și ale sistemului reticulo-histocitar (macrofagal), ficatul exercită funcții complexe ce pot fi grupate în trei categorii mari: participarea la procesele metabolice, secreția bilei și dezintoxicarea.

16

- Materia obținută prin vena portă, intrând în contact cu celulele hepatice (în funcție de natura celulelor hepatice), este supusă unor prelucrări adecvate.
- Substanțele inerte și particulele cu dimensiuni mai mari se fixează în celulele Kupffer.
- Componentele chimice sunt metabolizate la nivelul celulelor parenchimatose.

17

- Moleculele de dimensiuni diferite ale glicogenului nu participă la metabolism în mod identic.
- S-a stabilit că încorporarea glucozei se realizează îndeosebi în moleculele de glicogen cu greutate moleculară mică.
- Ficatul este:
 - ✓ singurul organ ce utilizează pentru sinteza glicogenului, în afară de glucoză, și alte hexoze, fructoza, manoza, galactoza;

19

Metabolismul glucidic

- Echilibrul dinamic la asigurarea glucozei sanguine e realizat atât prin depozitarea acesteia în formă de glicogen (fosforilare determinată de glucokinază, enzimă adaptivă), cât și de metabolizarea ei din aceste rezerve.
- Există glicogen liber ușor extractibil și desmoglucogen greu extractibil.
- Depunerea lui ca rezervă și deplețiunea rezervelor din ficat par a fi în raport cu creșterea sau micșorarea greutatei moleculare a polizaharidului, decât cu modificările numărului de molecule.

18

- ✓ unicul organ ce asigură sinteza glicogenului pornită de la acidul lactic, glicerol sau de la alți metaboliți intermediari proveniți din lipide sau proteine (gluconeogeneza);
- ✓ în el degradarea glucozei, preponderent de la 50% la 75%, are loc pe calea șuntării hexozo-monofosfaților, cu sinteza simultană a NADPH și pentozelor;
- ✓ în ficat se sintetizează heparină. La metabolismul glicoproteinelor sunt implicate enzimele N-acetil-glucozoamin și N-acetil-galactoamin kinaza.

20

Metabolismul lipidic

- ✓ preluarea lipidelor alimentare, în special a TAG (chilomicronii), a acizilor grași, cu un număr mediu de atomi de carbon în catenă;
- ✓ captarea acizilor grași proveniți din lipidele țesutului adipos și transportați prin intermediul albuminei serice spre ficat;
- ✓ sinteza acizilor grași, cu formarea de TAG, pe care hepatocitul îi încorporează în pre- β lipoproteine;

21

- ✓ remanierea metabolică a acizilor grași, elongarea lanțului de carbon (C_{24}), desaturarea acidului linolenic în acid arahidonic; acidului oleic – în eicosatrienoic; peroxidarea acizilor polinesaturați formați;
- ✓ catabolismul acizilor grași prin β -oxidare, proces ce solicită prezența carnitinei, a CoA sintetizat din acidul pantotenic și aminoacizi cu sulf;
- ✓ formarea corpurilor cetonice la β -oxidare, reprezentând substraturi cu valori energetice mari utilizați extrahepatic (rinichi, miocard);

22

- ✓ implicarea în ciclul glucozei a acizilor grași; importanța biologică constă în faptul că excesul de glucoză favorizează sinteza TAG și inhibă eliberarea acizilor grași, iar în lipsa glucozei fenomenul se declanșează invers;
- ✓ toate organele sunt apte de a sintetiza fosfatidele proprii, însă numai ficatul le poate remite plasmei. Astfel, fosfatidele plasmatiche sunt de origine hepatică. Biosinteza lor presupune etape anterioare la care se produc componentele structurale ale acestor molecule complexe, în final – cu participarea derivaților citidinfosfatului;

23

- ✓ la utilizarea metabolică a glicerolului rolul principal constă în posedarea unei glicerol kinaze active;
- ✓ în biosinteza, esterificarea și transformarea colesterolului în acizi biliari 2/3 din colesterol este de natură endogenă și 1/3 este esterificată sub acțiunea lecitin-colesterol-acil transferazei;

24

Metabolismul proteic

- Contribuția ficatului la acest metabolism este de cea mai mare importanță și se exercită în două direcții decisive pentru organism.
- ❖ Metabolismul aminoacizilor
- Se produce degradarea acestora, concomitent cu reutilizarea și integrarea amoniacului în uree și glutamină (prin glutamin sintetază, care constituie și mecanismul principal de neutralizare a NH_3 la nivelul creierului).

25

- Etapa hepatică specifică constă în transformarea ornitinei în citrulină, pe când modificarea în ornitină potențial se realizează și la nivelul rinichilor.
- Unii aminoacizi au o utilizare metabolică specifică: încorporarea glicocolului, transmetilarea metioninei, desulfurarea cisteinei, transaminarea tirozinei, oxidarea acidului homogentizinic, formarea acidului urocanic, degradarea kinureninei.
- Acidul cistic este transformat în taurină (sub influența aminoacid decarboxilazei).
- Aminoacizii glucoformatori sunt utilizați, după dezaminare, în gluconeogeneză.

26

❖ Metabolismul proteinelor

- Ficatul sintetizează, pe lângă proteinele structurale proprii, o bună parte din proteinele plasmaticе, o parte din factorii proteici ai coagulării, imunoglobulinele.
- Aici e și sediul principal al catabolismului pirimidinelor, degradarea nucleoproteinelor până la acidul uric, sub acțiunea xantin oxidazei (de altfel, are loc și metabolismul porfirinelor, cu sinteza și degradarea lor până la producerea bilirubinei).
- Nivelul bilirubinei totale e de $17 \mu\text{mol/L}$, 85% din care fiind de origine eritrocitară (hemoglobina).

27

Funcția de dezintoxicare

- Se exercită în două moduri ce se pot asocia și completa reciproc: reducerea toxicității și mărirea capacității de eliminare a produsului prin urină sau bilă.
- În esența sa, mecanismele măresc polaritatea substanțelor, transformându-le din compuși liposolubili în componente cu un grad mai înalt de hidrosolubilitate.
- Aceste procese au câteva proprietăți: nu sunt selective sau dirijate de o finalitate prestabilită și exclusivă (nu sunt în mod obligatoriu "detoxifiante").

28

- O serie de enzime implicate activ la neutralizarea substanțelor străine au o specificitate neînsemnată față de substrat (enzimele normale).
- Majoritatea medicamentelor și substanțelor străine (xenobioticele) sunt metabolizate de enzime microzomale, mai puțin numeroase și nespecifice.
- Sistemul este unic și universal cu implicarea oxidazelor ce posedă funcții mixte.
- Normal, ele sunt în stare inactivă și pot fi induse sub acțiunea substanțelor străine.
- O substanță devine inactivă prin implicarea mai multor mecanisme concurente, cu preponderența unuia sau altuia.

29

- Dezintoxicarea se realizează prin 4 tipuri de reacții chimice: oxidare, reducere, hidroliză, condensare (sinteză).
- Ele se desfășoară în 2 faze:
 - I. Faza proceselor de oxido-reducere și hidroliză, finalizată prin hidroxilarea substratului;
 - II. Faza de conjugare (sinteză).

30

Faza I

- E determinată de activitatea sistemului monooxidazic microzomal.
- Enzimele la această fază utilizează lanțul de transport electronic microzomal, alcătuiesc un sistem monooxidazic cunoscut sub denumirea de oxigenaze cu funcții mixte microzomale; se mai numesc și hidroxilaze microzomale, datorită hidroxilării finale a substratului.

31

- Sistemul are următoarele componente:
 - a) Citocromul P₄₅₀ acționează în formă oxidată și se cuplează la substratul pe care îl va oxida, parcurgând etape de evoluții conformaționale ale hemoproteinei oxidate;
 - NADPH citocrom C reductaza, flavin-enzimă, participantă la oxidarea NADPH;
 - NADPH citocrom P₄₅₀ reductază, donator de electroni, care asigură reducerea citocromului P₄₅₀ oxidat;
 - citocromul B₅ și NADPH (donator al doilea de electroni).

32

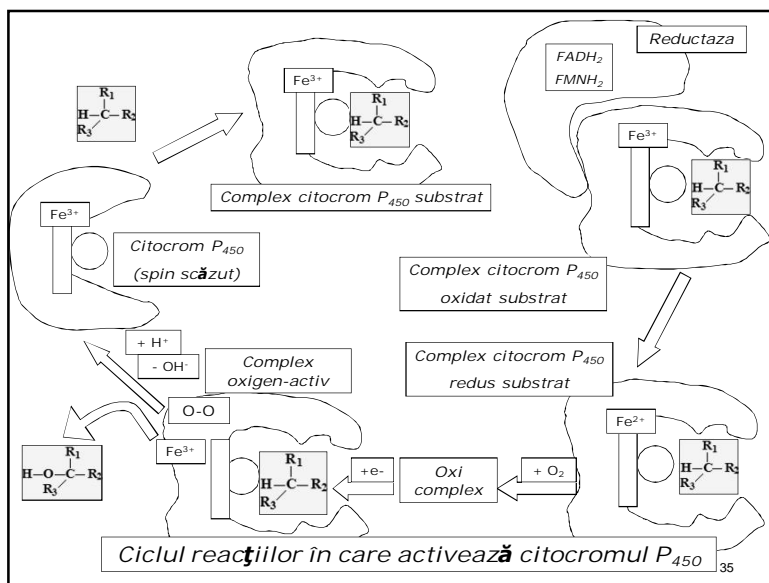
b) Fosfatidil-cholina din componența membranei microzomale este esențială pentru transferul de electroni de la NADPH citocrom C reductaza la citocromul P₄₅₀ (necesară pentru fixarea substratului și a inducției citocromului P₄₅₀), elementul principal constituindu-l citocromul P₄₅₀.

33

Ciclul de reacții la care participă citocromul P₄₅₀ este următorul:

1. legarea substratului la citocromul P₄₅₀, cu substituirea conformației hemoproteinei și transformarea ei din starea de "spin" scăzut în cea de "spin" înalt;
2. reducerea Fe citocromic prin transferul de e⁻ de la NADPH-reductază;
3. activarea O₂, cu formarea unui complex oxigen activ până la anion superoxid;
4. transferul atomului de oxigen, cu hidroxilarea substratului și eliberarea citocromului P450 la "spin " scăzut.

34



35

Principalele reacții enzimatice ale fazei I sunt:

- a) oxidarea:
 - 1) hidroxilarea alifatică, aromatică, hidroxilarea mixtă;
 - 2) O- și N-dezalchilarea;
 - 3) N-oxidarea;
 - 4) dezaminarea oxidativă;
 - 5) alte forme de oxidare;
- b) reducerea;
- c) hidroliza.

36

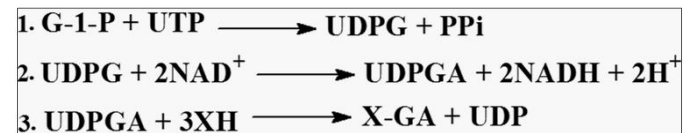
Faza II

- Mecanismul general al conjugării constă din reacții endergonice (cu utilizarea ATP drept sursă de energie).
- Spre deosebire de reacțiile fazei I legate de specie, cele din faza II sunt filogenetic diferite: la om are loc conjugarea cu acid glucuronic, glicocol, glutamină.
- Ambele sunt proprii membranei microzomale, iar în partea interioară este localizată glucuronil transferaza.

37

1) Calea principală este glucurono-conjugarea.

- Sistemul care catalizează conjugarea implică formarea acidului uridindifosfoglucuronic. Enzima E_1 e UDPGA transferaza.

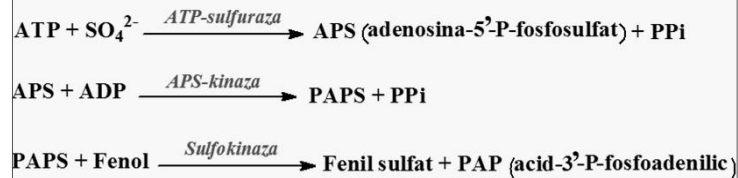


- (X poate fi: O, CO, NH, S).
- În cursul acestor reacții se efectuează inversiunea legăturii glucuronozidice (tipul α trece în β) a conjugatului care este hidrolizabilă pentru β -glucuronidază.

38

- În ficat glucurono-conjugarea se diminuează prin efectul pirofosfatazei microzomale care hidrolizează UDPGA la acid 1-P-glucuronic și prin efectul β -glucuronidaza lizozomală care hidrolizează O-glucuronații.

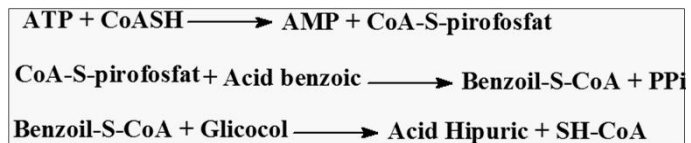
2) Conjugarea cu sulf (3'-P-adenosina-5'-P-sulfat – PAPS:



39

3) Conjugarea cu aminoacizi: glicină și glutamină

- a) glicina este utilizată pentru acizii aromatici, heterociclici etc:



(Glicocolul este de origine, preponderent, hepatică, iar reacția decurge în rinichi și parțial în ficat).

- b) Grupa NH_2 a glutaminei formează o grupare amidică cu grupa COOH a drogului.

40

4. Acilarea prin transacilare normal se produce în ficat. În așa mod se detoxifică sulfamidele.

- Nivelul de metabolizare a medicamentelor poate fi scăzut sau inhibat.
- Activitatea poate fi și prelungită.
- Foarte importantă este inducția enzimatică microzomală.
- Cel mai profund este studiat *fenobarbitalul*, inductor al glucoronil transferazei, al nivelului citocromului P₄₅₀ (enzime implicate în metabolizarea medicamentelor).

41

Patologia biochimică a ficatului

- Poate fi congenitală și dobândită.
- Prima se caracterizează prin variate deficiențe enzimatică, pe când a doua – prin sindromul icter, care apare la mărirea concentrației bilirubinei serice peste 1,2 – 2 mg%, la care pigmentul pătrunde în țesuturi.
- Icterul este expresia unui exces de substanțe ce depășește capacitatea de excreție sau a unei leziuni hepato-celulare, precum și a unui obstacol în calea scurgerii bilei.

42

- Colestaza reprezintă schimbări biochimice care se aseamănă cu cele ale icterului posthepatic, fosfataza alcalină serică fiind puțin ridicată.
- Icterul prehepatic este determinat de stări hemolitice (bilirubina indirectă, neconjugată).
- Icterul neonatal este, parțial, de origine hepatică și e provocat de capacitatea redusă a ficatului de a excreta bilirubina în bilă – incapacitatea de a sintetiza UDP-GA, dar și o activitate redusă a glucuronil-transferazei.
- Icterul hepatocelular este cauzat de infecția virală sau toxine.

43

- Icterul juvenil (hiperbilirubinemia familială, sindromul Gilbert) e cauzat de un deficit al proteinei transportatoare de bilirubină, care implicit cauzează deficitul de prelucrare a bilirubinei de către hepatocit. E un icter hepatic premicrozomal, la fel ca și sindromul Crigler-Najjar, provocat de absența congenitală a UDP-glucuronil transferazei.
- În unele boli genetice (Sindromul Dubin-Johnson) se constată defect al secreției bilirubinei conjugate din celule hepatice în canaliculele biliare cu sau fără formarea unui pigment brun (Sindromul Rotor).

44

- Sindromul Arias (icter de lungă durată neonatal) este corelat cu prezența în laptele matern a unui steroid, inhibitor al conjugării bilirubinei.
- Bilirubina neconjugată poate conduce la icterul nuclear.
- Dintre tulburările metabolice înnașcute se evidențiază boala Wilson (degenerarea hepato-lenticulară), provocată de deficitul sintezei ceruloplasminei (cupru oxidaza), producând în consecință afecțiuni cerebrale (lenticulare), corneene, renale, aminoacidurie, fosfaturie, depozitări de cupru în țesuturi.

45

- Explorările hepatice se bazează pe cele 4 sindroame proprii patologiei hepatice: excreto-biliar, hepato-priv (insuficiența celulară), citoliză și inflamator.
- Cele mai utilizate probe în diagnosticul și pronosticul lor sunt:
 - 1) Excreto-biliar: bilirubina și raportul ei; fosfataza alcalină cu izoenzimele sale; LAP – leucin aminopeptidaza; 5'-nucleotidaza și γ -glutamil transpeptidaza.

46

- 2) Hepato-priv: proteinemia totală, albumina serică, factorii de coagulare, colesterolul liber, total și esterificat, proba QuicK.
- 3) Citoliza: sideremia, cupremia, enzimele plasmatică – SDH, OCT, arginaza, F-1-P aldolaza, guanaza, LDH₅ – indicator de severitate al afecțiunilor și GLDH (leziuni mitocondriale), GPT, GOT și raportul lui Schmidt: GOT + GPT/GDH (glutamat dehidrogenaza) egal cu 5-15 (icter obstructiv), 30-50 (hepatita cronică), 50 (hepatita acută).

47

- 4) Inflamator: disproteinemia, cu scăderea fracției albuminice și creșterea β și γ -globulinelor: imunoelectroforetic (crește IgM – în procese acute și IgA – în cronice). Se determină și coeficientul de Rittis (GOT/GPT), normal egal cu 1,33.

48

Enzimele indicatorii specifice ficatului

- Enzimele organospecifice sunt: histidaza, urocaza, ceto-1- α -fosfat-aldolaza, sorbitol dehidrogenaza, ornitin carbamil-transferaza, arginaza.
- *Glutamat dehidrogenaza* – enzimă mai puțin specifică – este caracteristică mitocondriilor hepatice, manifestată printr-un grad de activitate mai redus în miocard și rinichi. E un indicator al afecțiunii mitocondriilor celulelor.

49

- *GOT-ASAT (aspartat aminotransferaza)* reprezintă o enzimă biloculară (citozol și mitocondrii), prezentă în toate celulele organelor și, în special, în miocard, ficat, mușchi, rinichi.
- *GPT-ALAT (alanin aminotransferaza)* se conține în cantități mari în citoplasma hepatocitelor, se utilizează în diagnosticul precoce al formelor anicterice și în depistarea perioadelor de evoluție a hepatitelor cronice.
- *Lactat DH* este prezentă în toate celulele organismului, constituind un tetramer alcătuit din două subunități peptidice – H și M – asociate în cele 5 izoenzime proprii tuturor țesuturilor.

50

- Sporirea esențială de LDH₁ și LDH₂, cu prevalarea lui LDH₁, este caracteristică infarctului miocardic, iar respectiv a LDH₂ – anemiei megaloblastice. LDH₅ se depistează preponderent în necroza hepatică.
- Testiculul postpubertin conține o enzimă organospecifică LDH_z, cu o mobilitate electroforetică între LDH₃ și LDH₄.
- Valorile *raportului Schmidt* (ASAT + ALAT/GDH) oferă date importante referitoare la pronosticul unei hepatopatii evolutive.

51

- *Leucin aminopeptidaza* provine, preponderent, din celulele parenchimului hepatic, fiind caracteristică și altor organe – pancreasului, rinichilor, intestinului, mucoasei.
- Devierile patologice semnificative pentru diagnosticul diferențiat sunt extensiunile semnalate în icterele obstructive cauzate de obstacolul biliar.

52

- *Izocitrat dehidrogenaza* totală sporește în cazul sindromului de citoliză hepatică.
- Icterul obstructiv se caracterizează prin creșterea *5'-nucleotidazei*, la fel prin intensificarea *fosfatazei alcaline*, care, la rândul ei, sporește selectiv în afecțiunile osoase, cu orientare osteoblastică.

53

■ *Țesutul adipos:*

- ✓ Țesutul adipos din punct de vedere cosmetic este privit ca un inamic, în orice caz, importanța lui în homeostazia energiei este secundară, după ficat.
- ✓ Adultul tipic are 13 kg de țesut adipos localizat extensiv sub piele, în cavitatea abdominală, în jurul vaselor sanguine interne, în mușchii scheletului și în glandele mamare.
- ✓ Când aceasta cantitate crește rezultă obezitatea.
- ✓ Adipocitele albe și brune prezintă două tipuri de celule de grăsime.

54

- ✓ Adipocite albe au o formă sferică și un droplet central de acilglicerol de mărime mare, înconjurat de un inel îngust de citoplasmă și nucleu, mitocondrie, și reticulul endoplasmatic situat periferic.
- ✓ Ele depozitează triacilglicerol pentru export ca acid gras pentru a servi combustibil pentru alte țesuturi.
- ✓ Numeroase adipocite brune conțin multe droplete de lipide și mitocondrii de culoare roșietică-cafenie.

55

- ✓ În adipocitele brune lipidele sunt oxidate în interior, la CO₂ ceea ce duce la producerea de căldură; ele având un rol central în termogeneză.
- ✓ Țesutul adipos uman e constituit în mare parte din adipocite albe.
- ✓ Ele reacționează rapid la stocarea și necesitatea combustibilului în organism.
- ✓ Depozitarea combustibilului ca triacilgliceroli este avantajoasă în comparație cu cea a depozitării glicogenului, deoarece triacilglicerolul este mai redus și emite mai multă energie la fiecare gram oxidat.

56

- ✓ Lipidele sunt depozitate foarte compact anhidrid, în timp ce glicogenul se află într-un mediu apos.
- ✓ Triacilglicerolii produc de 4-5 ori mai multă energie la aceeași cantitate de glicogen.
- ✓ Dacă țesutul adipos al unui adult de înlocuit cu o cantitate energetic-echivalentă de glicogen, greutatea corpului ar crește cu 60% (de la 70kg la 115kg).
- ✓ Adipocitele sunt active metabolic.

57

- ✓ Ele sintetizează triacilglicerolul din glucoză, din acizi grași, utilizând NADPH produs de șuntul pentozofosfat și glicerofosfat pentru esterificarea acizilor grași.
- ✓ Glicerolfosfatul este obținut prin glicoliză.
- ✓ Adipocitele hidrolizează triacilglicerolul și generează acizi grași.
- ✓ Energia pentru funcția adipocitelor derivă preliminar din oxidarea acizilor grași și activitatea ciclului TCA.

58

■ *Mușchii scheletici*

- ✓ Adultul normal are în jur de 35 kg de mușchi scheletici care conțin 5-6 kg de proteine contractile, astfel conținând cea mai mare parte din combustibilul nonlipid al corpului.
- ✓ În timpul maladiilor sau a foamei greutatea sa poate să se micșoreze cu 40%.
- ✓ În stare normală 1% din greutatea lor umedă le revine glicogenului; din cauza greutateii mușchii conțin de 4 ori mai mult glicogen decât ficatul.

59

- ✓ Glicogenul muscular nu este direct disponibil ca sursă a glucozei sîngelui deoarece mușchii stopează glucozo-6-fosfatul.
- ✓ În activitatea musculară, glicogenul devine disponibil, prin intermediul acidului lactic pentru conversia în glucoză sanguină în ficat (c.Cori).
- ✓ În timpul foamei proteinele musculare furnizează aminoacizi, care devin sursă primară de carbon pentru menținerea homeostaziei glucozice.
- ✓ Amintim că nu există un „depozit” proteic, proteinele degradate din mușchi sunt proteine contractile.

60

- ✓ Mușchii în repaus se mențin pe energia rezultată din oxidarea acizilor grași.
- ✓ Con tracția musculară poate fi susținută de glicoliza anaerobă sau aerobă, oxidarea acizilor grași, aminoacizilor, ce depinde de intensitatea efortului și disponibilitatea glucozei, glicogenului și a oxigenului.
- ✓ Densitatea mitocondriilor este mai scăzută în mușchii scheletici decât în inimă sau ficat.
- ✓ În timpul glicolizei anaerobe 2 moli de ATP sunt formați pe baza unui mol de glucoză pe când oxidarea aerobă produce 36-38 moli.

61

- ✓ Totuși, glicoliza anaerobă, permite mușchilor de a funcționa rapid la intensitate mare în lipsa oxigenului.
- ✓ Acidul lactic produs intră în circulație și este oxidat în inimă sau folosit de către ficat pentru homeostazia glicolitică.
- ✓ Acidul lactic poate fi oxidat în mușchi în timpul pauzei musculare urmat de un efort fizic intens.

62

- ✓ Ciclul Cori, din punct de vedere energetic, este costisitor, deoarece gluconeogeneza acidului lactic are nevoie de utilizarea a 6 moli de ATP către un mol de glucoză formată.
- ✓ În timpul pauzei, mușchii pot fi un mare contribuabil de glucoaminoacizi pentru gluconeogeneza. În timpul efortului ei devin utilizatori predominanți de combustibil metabolic.
- Patologia lor este caracteristică prin sporirea *CPK totală* a izoenzimei MM; de asemenea, prin activizarea F-1,6-difosfat-aldolazei și devierea modelului izo-LDH₅ către LDH₁.

63

- *Creier:*
- ✓ Este un utilizator constant al combustibilului metabolic, generat de alte țesuturi.
- ✓ Circa 20% din totalul de oxigen consumat de către un adult în timpul pauzei musculare revine creierului.
- ✓ Posibil $\frac{2}{3}$ din această cantitate este utilizată pentru menținerea potențialului transmembranar prin intermediul activității enzimelor membranare, cum sunt Na⁺, K⁺ – ATP-aza.

64

- ✓ La un adult normal, utilizează glucoza doar pentru energie și depinde de suplimentarea continuă, din momentul micii depozitari de glicogen.
- ✓ Scăderea cantității de glucoză în sânge sub 50 mg/l poate cauza amețială și scăderea vederii.
- ✓ O cantitate și mai mică de glucoză duce la comă și moarte.
- În afecțiuni se înregistrează valori semnificative ale activității *CPK totale* și *izoenzimei BB*, *acetilcholin esterazei*, *monoaminoxidazei*, valori majore ale *ASAT*, cu mult superioare celor din cadrul afecțiunilor altor organe.

65

- ✓ În mușchiul cardiac depozitul glicogenului endogen poate crește dublu.
- ✓ Inima poate funcționa bine pe baza glucozei, oxidând-o aerob sau anaerob, dar din preferințele proprii poate utiliza acizi grași pentru nevoile energetice.
- ✓ Mușchiul cardiac nu contribuie semnificativ la homeostazia combustibilului, dar abilitatea sa de a utiliza orice combustibil metabolic îl face "gunoier".

67

- *Inima:*
- ✓ Cu toate că structura moleculară a aparatului contractil al inimii e foarte asemănător cu cel al mușchilor scheletici, cele două țesuturi diferă metabolic esențial.
- ✓ Ținând cont de toate circumstanțele, metabolismul în mușchiul inimii este aerob și utilizează preponderent acizi grași, corpi cetonici, lactat și piruvat.
- ✓ Inima depozitează o cantitate de glicogen dar îl utilizează numai în timpul ocluziunii arterei coronariene.

66

- Caracteristicile specifice în cazul afecțiunilor inimii sunt: β -hidroxibutirat dehidrogenaza, LDH totală și, mai esențial, LDH₁ și LDH₂, cu predominarea primei izoenzime; ASAT – ca izoenzimă mitocondrială.
- ✓ *Creatinkinaza – CPK.*
- Se află în trei forme izoenzimatic, localizată în citoplasmă și mitocondriile din miocard, mușchi și creier.
- Enzimele catalizează formarea de ATP din creatinfosfat și ADP în țesuturile menționate în următoarele forme:

68

- *MM* – în musculatura scheletică și miocard;
- *BB* – în creier, musculatura scheletică;
- *MB* – în miocard.
- Enzima serică se inactivează rapid prin oxidarea grupărilor SH ale situsului său catalitic.
- La infarctul miocardic, odată cu extinderea necrozei, proporțional crește valoarea CPK/MB.
- În miopatii se semnalează creșterea CPK, fără modificări ale activității izoenzimei MB.
- Pentru infarctul miocardic acut sunt caracteristice valorile majore ale *3-glicer aldehid fosfat dehidrogenazei, fosforilazei b.*

69

■ *Rinichii:*

- ✓ Țesutul renal este important în homeostazia aminoacizilor și are capacitate gluconeogenetică la gram asemenea ficatului, cu toate că ficatul generează o cantitate mai mare din cauza mărimii mai mari.
- ✓ Aproape 80% din energia produsă de rinichi este utilizată în procesul activ de transport implicat în formarea urinei.
- ✓ Rinichii ușor oxidează acizi grași, corpii cetonici, glucoza și aminoacizi.

70

- Patologia rinichilor este precedată de valori semnificative în activitatea *glicinamidino transferazei*, pe când în patologia pancreasului – în cantități mai mici.
- ✓ Pentru diagnostic se utilizează frecvent și izoenzimele *alanin aminopeptidazei* cu următoarea caracteristică:
 - *AAP₁* (în ficat);
 - *AAP₂* (în pancreas);
 - *AAP₃* (în rinichi).
- ✓ O semnificație aparte pentru diagnosticul afecțiunilor renale o are *glutaminaza*.

71

■ *Sistemul gastro-intestinal:*

- ✓ Principala formă de nutriție a corpului este de acelaș tip cu cea care este depozitată (carbohidrați, triacil-glicerioli și proteine).
- ✓ Acestea sunt hidrolizate în interiorul tractului intestinal pentru a produce mono- și dizaharide primare, aminoacizi și peptide mici, glicerol și acizi grași liberi.
- În patologia sistemului gastro-intestinal importanță are *α-amilaza*, care are două izoenzime: forma salivară și pancreatică; ele se majorează respectiv la paratiroidite și la pancreatite acute. La cea din urmă patologie crește și lipaza pancreatică.

72

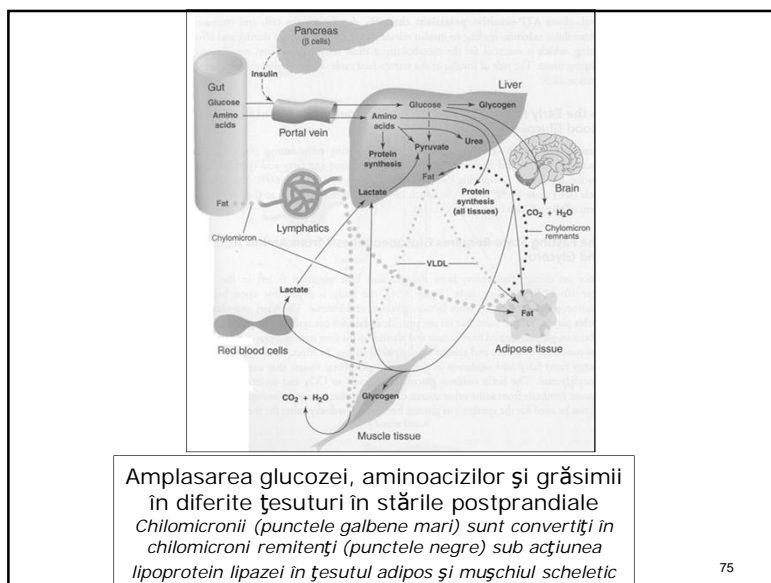
■ *Sângele:*

- ✓ Sângele distribuie combustibilul metabolic prin țesuturi; aproximativ 40-50% din fluidelor corpului unui adult e repartizat intracelular, separat de alte compartimente cu fluide prin membrana celulară a carei proprietăți și sisteme de transport determină ce metaboliți vor trece prin ele.
- ✓ Dacă homeostazia este bine menținută, concentrația plasmatică a metaboliților nu se schimbă.
- ✓ Monozaharidele simple (glucoza) asigură transportul carbohidraților; glicogenul și zaharide fosforilate nu se depistează la concentrații mari în plasmă.

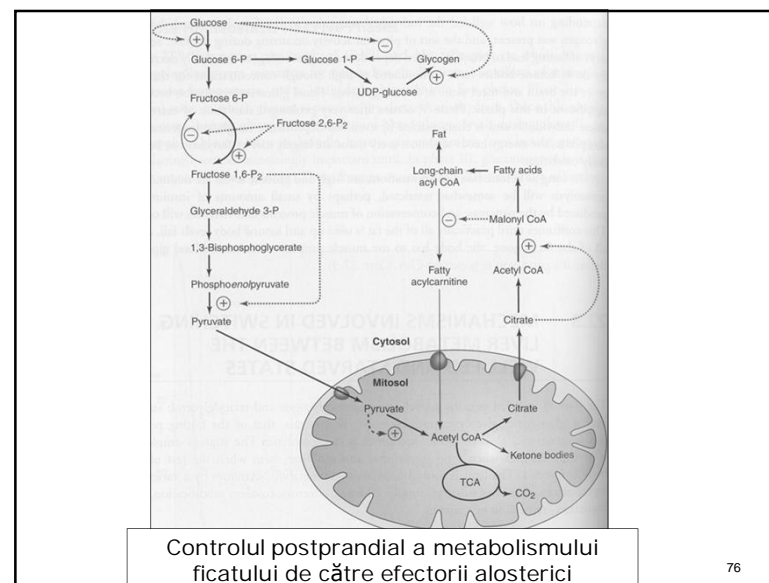
73

- ✓ Toți cei 20 de aminoacizi utilizați la sinteza proteinelor se întâlnesc în plasmă, dar în proporții neînsemnate în raport cu cele din proteine.
- ✓ În particular, sunt nivele înalte de alanină și glutamină care sunt mesageri importanți de carbon și azot între mușchi, ficat și alte țesuturi.
- ✓ Acizi organici prezentați ca anioni includ acidul lactic și piruvic (din glicoliza anaerobă a mușchilor și celule roșii ale sângelui), acetoacetat, β-hidroxiubutirat (produs la oxidarea acizilor grași) și câțiva intermediari ai ciclului TCA.

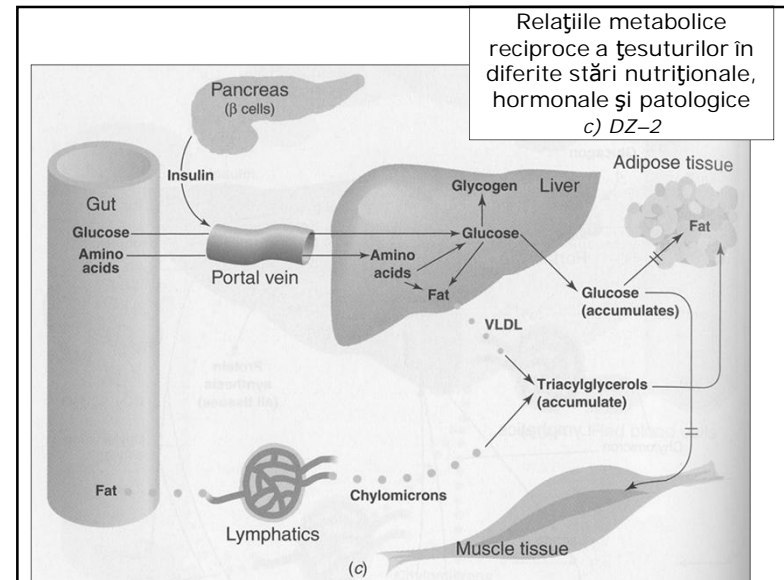
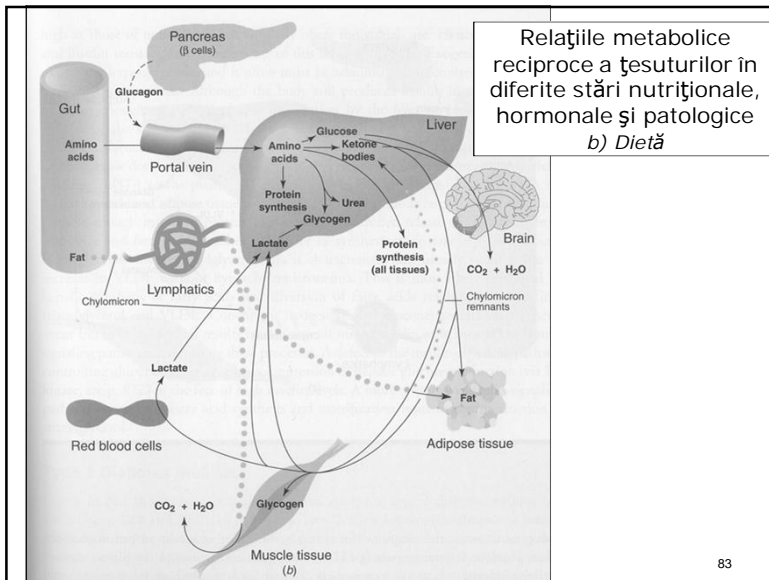
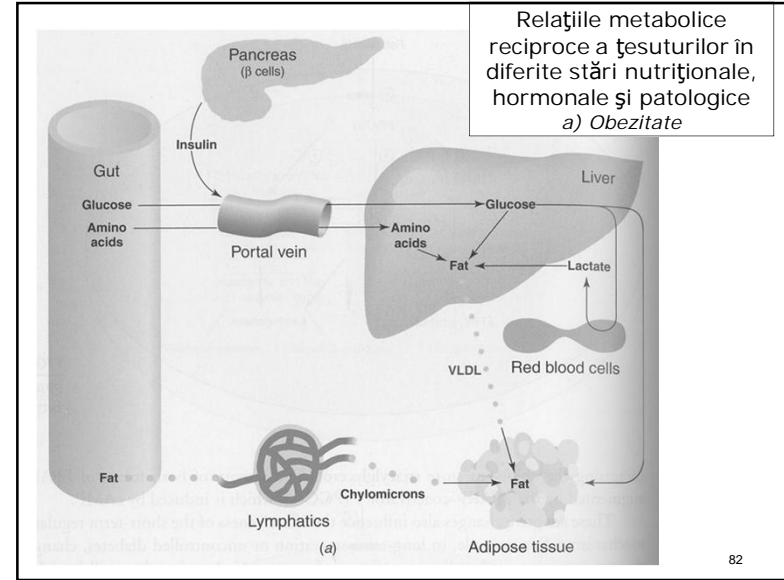
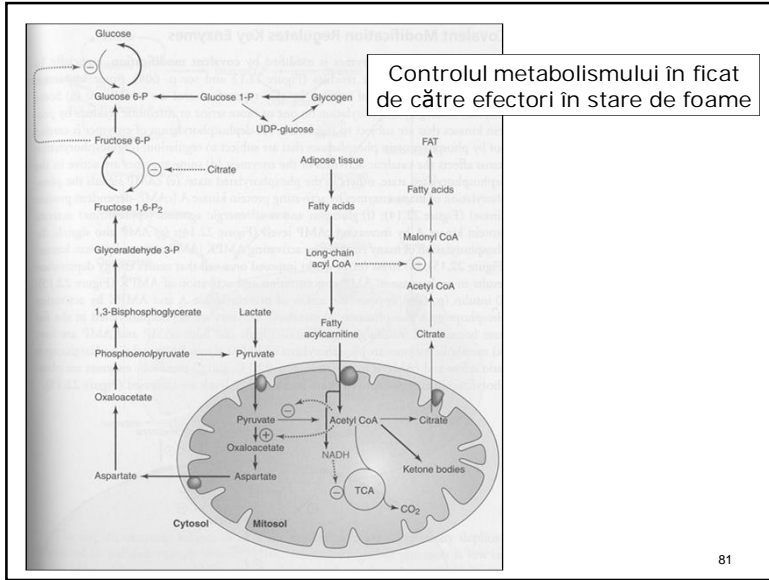
74

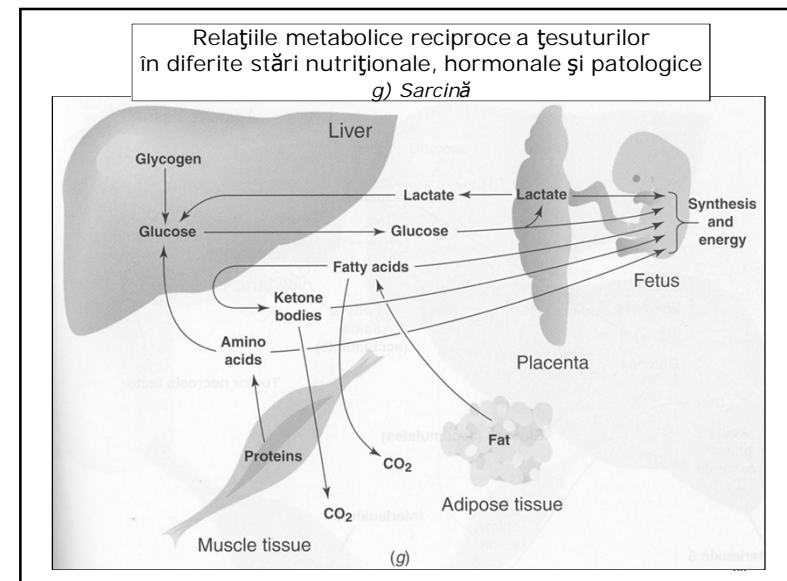
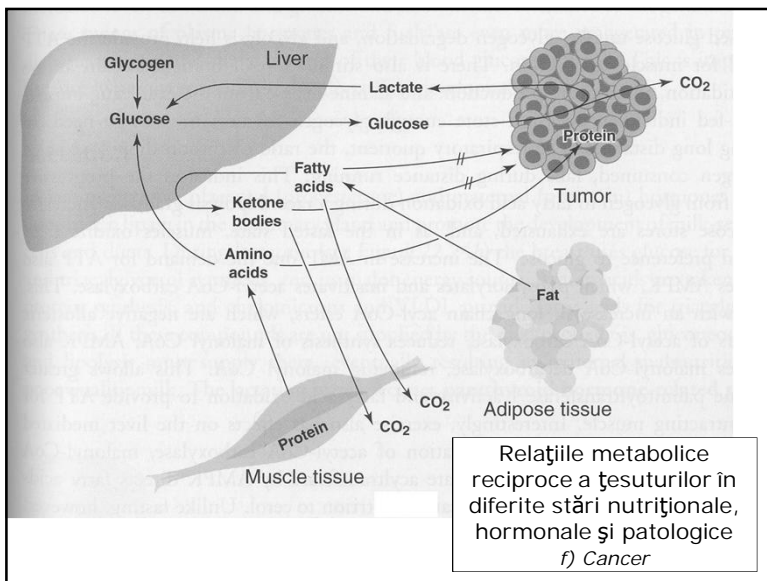
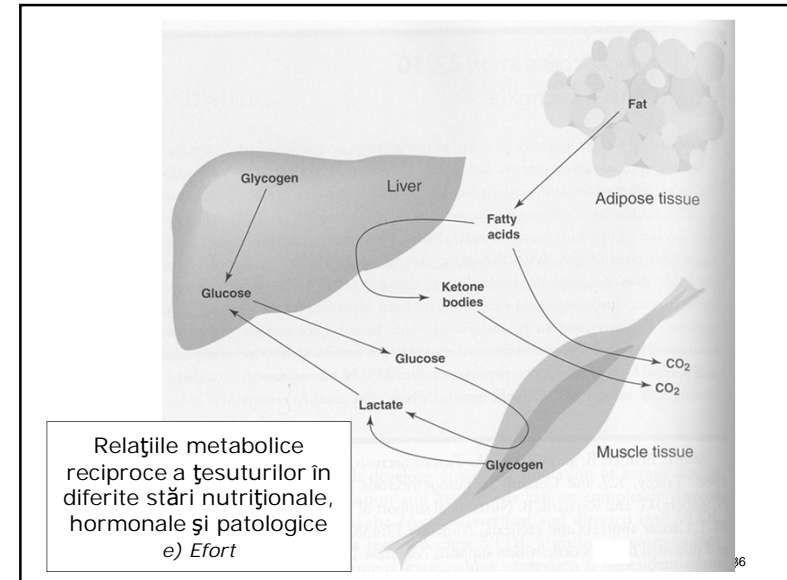
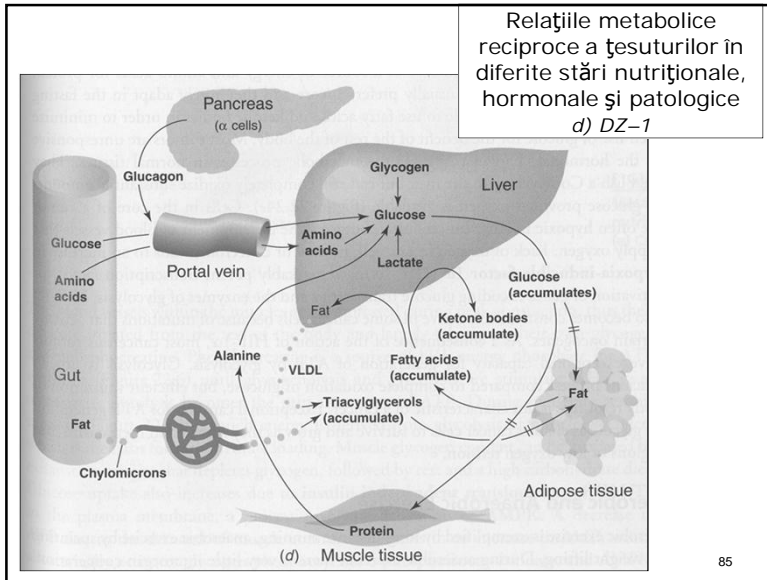


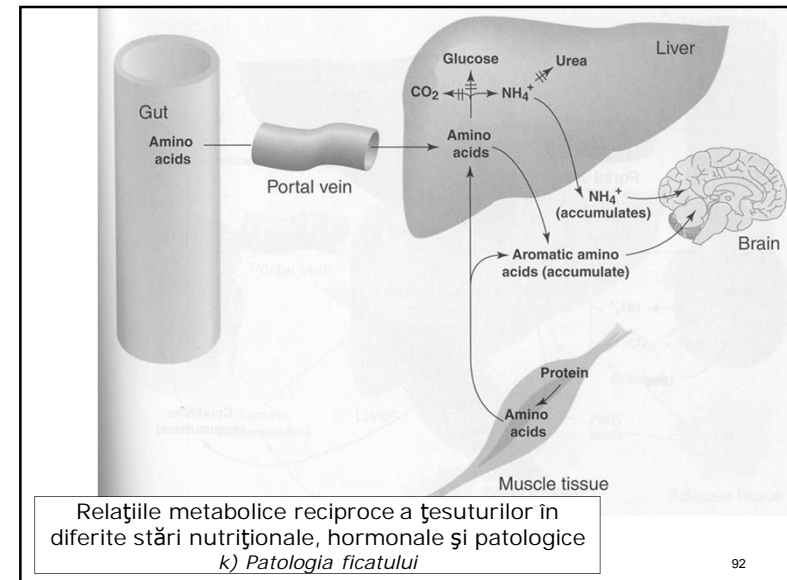
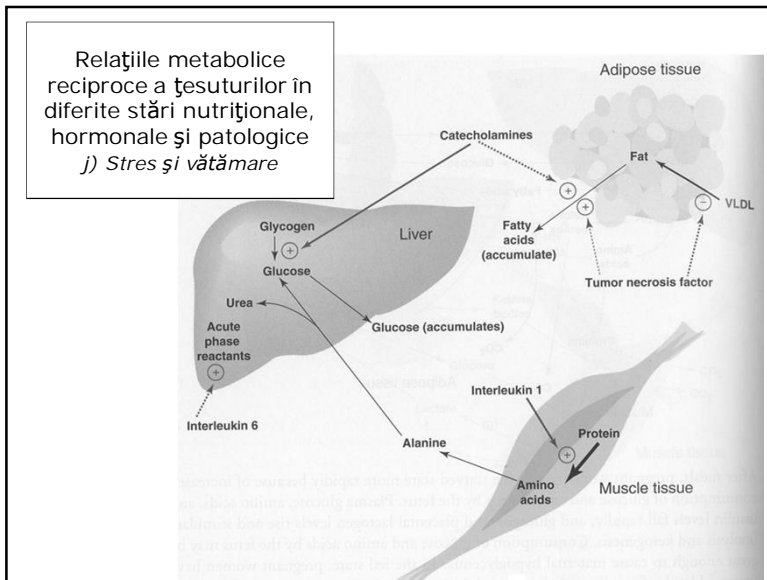
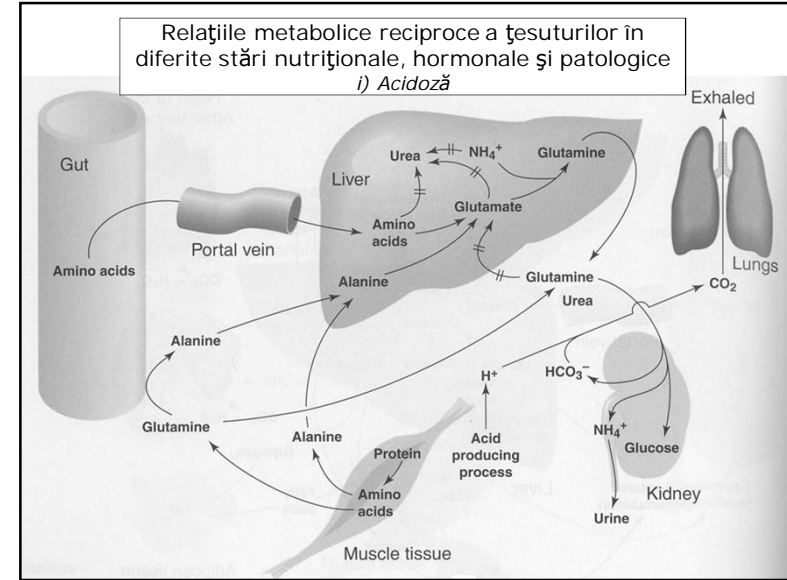
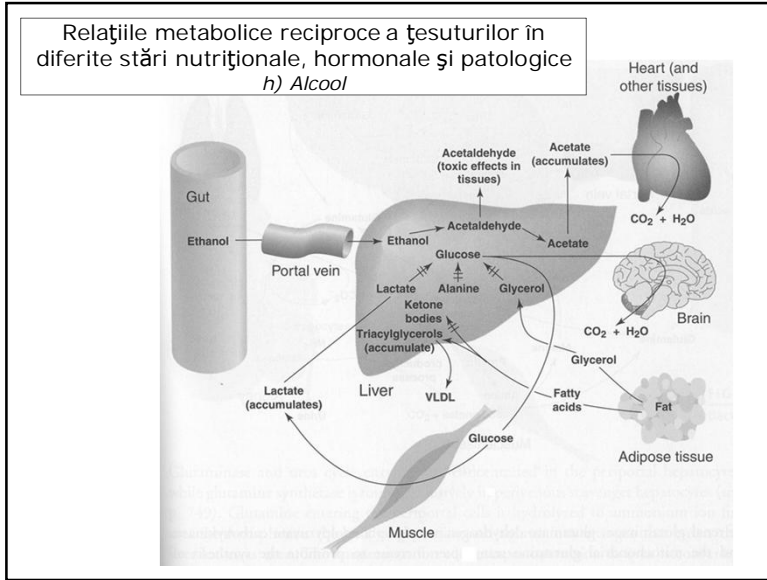
75

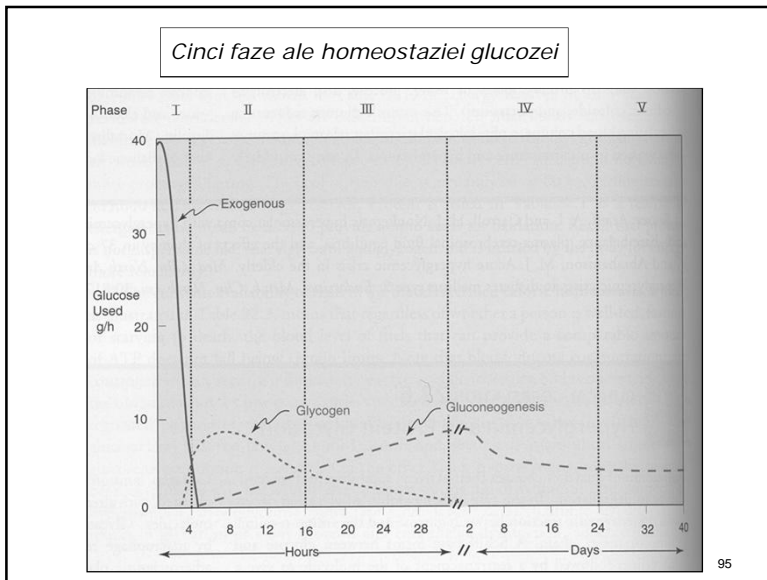
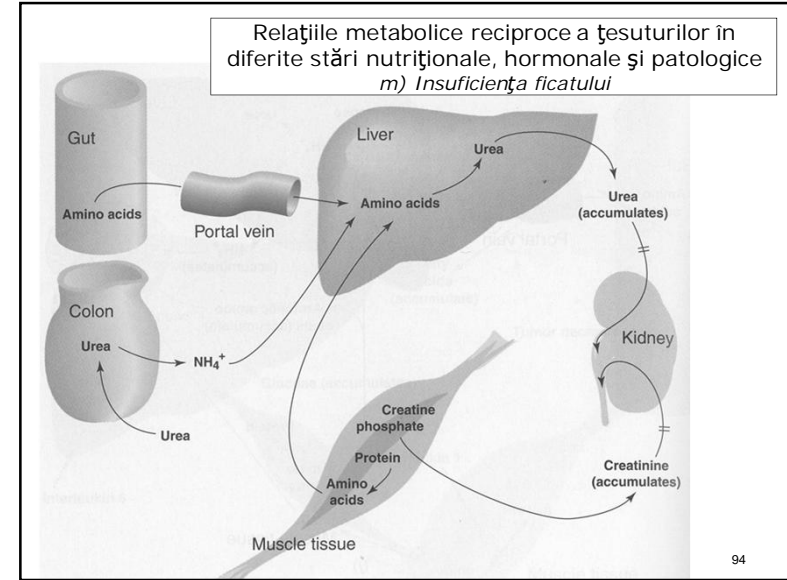
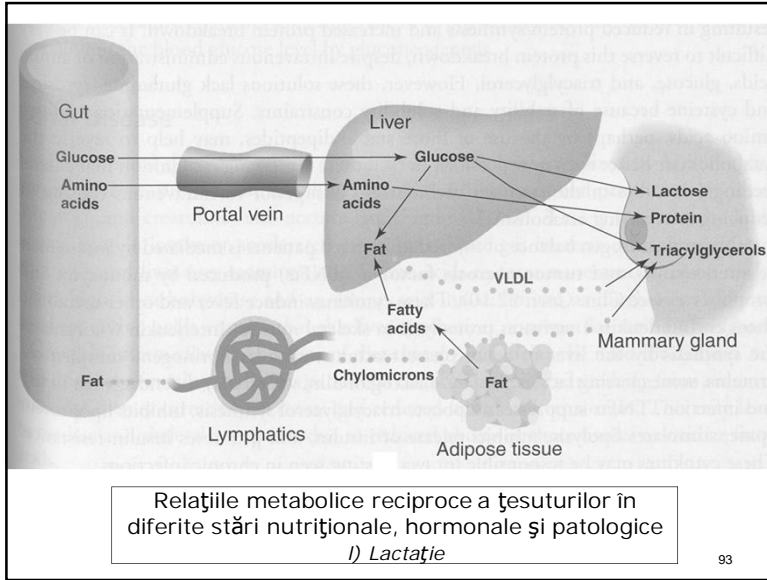


76





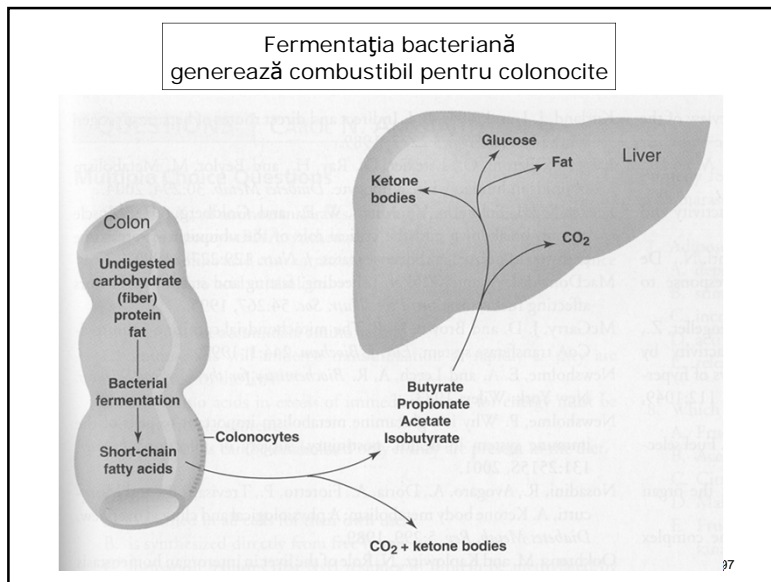




Cinci faze ale homeostaziei glucozei

Phase	ORIGIN OF BLOOD GLUCOSE	TISSUES USING GLUCOSE	MAJOR FUEL OF BRAIN
I	Exogenous	All	Glucose
II	Glycogen Hepatic gluconeogenesis	All except liver. Muscle and adipose tissue at diminished rates	Glucose
III	Hepatic gluconeogenesis Glycogen	All except liver. Muscle and adipose tissue at rates intermediate between II and IV	Glucose
IV	Gluconeogenesis, hepatic and renal	Brain, RBCs, renal medulla. Small amount by muscle	Glucose, ketone bodies
V	Gluconeogenesis, hepatic and renal	Brain at a diminished rate, RBCs, renal medulla	Ketone bodies, glucose

96



- Această diureză osmotică micșorează volumul sângelui circulant, un stres fiziologic care eliberează hormoni ce înrăutățesc rezistența insulinei și hiperglicemia.
- În plus, pacienții în vârstă sunt într-o măsură mai mică de a simți setea sau sunt limitați în a obține lichide.
- În decurs de câteva zile, ei pot să aibă o hiperglicemie extremă (glucoza > 1000 mg dL⁻¹), deshidratare și comă.

99

Coma hiperosmolară, hiperglicemică

- Pacienții cu tipul 2 de diabet zaharat uneori dezvoltă o situație denumită coma hiperosmolară (hiperglicemică).
- În particular este comună la oamenii în vârstă, și poate apărea la un serios stres metabolic, care inițial nu au fost depistat ca diabet.
- Hiperglicemia, posibil înrăutățită de lipsa insulinei sau a medicamentelor hipoglicemice, o infecție sau o problemă medicală concomitentă (atacul de cord care duce la pierderea urinară a apei, glucozei și electroliților – sodiu, clorul și potasiu).

98

- Cetoacidoza nu se dezvoltă la acești pacienți, posibil din cauză că acizii grași liberi nu sunt la un nivel mărit sau de aceia că există concentrații adecvate de insulină în sângele portal ce inhibă cetogeneza (cu toate că nu la un nivel înalt pentru a inhiba gluconeogeneza).
- Terapia este îndreptată spre restabilirea apei și a echilibrului electrolitic și corectarea hiperglicemiei cu insulină.
- Mortalitatea de la acest sindrom este considerabil mai mare decât de la cetoacidozele diabetice.

100

Hiperglicemia și glicozilarea proteinelor

- Glicozilarea enzimelor schimbă activitatea, solubilitatea și sensibilitatea lor la degradare.
- În cazul hemoglobinei A, glicozilarea are loc printr-o reacție nonenzimatică între glucoză și valina aminoterminală din lanțul α .
- Formarea bazei Schiff între glucoză și acest aminoacid, este însoțită de rearanjamentul moleculei ce dă o 1-dezoxifrucoză atașată la valină.

101

- Reacția este favorizată de nivelele înalte a glucozei și proteina obținută este denumită hemoglobina A_{1C} , care este un bun indiciu despre concentrația medie a glucozei sângelui uman care a fost în ultimele câteva săptămâni.
- Concentrația hemoglobinei A_{1C} crește în diabetul necontrolat și este micșorat la pacienții care își controlează nivelul glucozei în sânge.
- Glicozilarea proteinelor poate contribui la complicații medicale ale diabetului (de ex. patologia coronară a inimii, retinopatie, nefropatie, cataractă și neuropatie).

102

- Creșterea glicozilării proteinelor din cristalinul ochiului poate contribui la dezvoltarea cataractei diabetice.
- Colagenul, laminina, vitronectina și alte proteine matriciale pot de asemenea fi glicozilate, cu alterarea autoasamblării și legarea altor molecule matriciale.
- Proteinele glicozilate și lipoproteinele pot fi recunoscute de către receptorii macrofagelor care au un rol principal în formarea plăcilor aterosclerotice.

103

- Posibil că aceste fenomene favorizează accelerarea aterosclerozei care are loc la pacienții cu diabet.
- Compusul aminoguanidina inhibă formarea produselor de glicozilare și se testează la abilitatea sa de a preveni complicațiile determinate de diabet.
- Trei alte anomalități metabolice sunt responsabile de complicațiile determinate de diabet: activarea căii sorbitolului, activarea protein kinazei C (prin creșterea nivelurilor de diacilglicerol) și activarea căii hexozaminei.

104

- Fiecare din aceste anomalități sunt legate de formarea speciilor reactive ale oxigenului induse de glucoză de către mitocondrie, deschizând noi posibilități pentru terapii ce ar preveni complicațiile.

105

- ✓ Macromoleculele găsite în plasmă includ proteine, metaloproteine, glicoproteine și lipoproteine.
- ✓ Albumina și lipoproteinele joacă un rol important în homeostaza metabolică.
- ✓ Constituții proteinei plasmatică nu sînt surse importante de carbon și azot pentru celule.

107

- ✓ Alți constituenți ai plasmăi reflectă funcțiile metabolismului și procesele metabolice a unor organe în particular.
- Astfel ureea – sintetizată în ficat este un vehicul important pentru eliminarea excesului de azot; bilirubina este un produs reticuloendotelial celular al degradării porfirinelor;
- Creatina și creatinina sunt produsul primar de eliminare derivate în mare parte din mușchi, unde fosfocreatina servește ca sursă imediată a energiei pentru contracție.
- ✓ Acești constituenți specifici ai plasmăi pot fi utilizați pentru a evalua evoluția bolilor.

106

Proteinele plasmatică

- Prezintă un amestec heterogen de componente proteice cu funcții și proprietăți diferite.
- Greutățile moleculare variază între 60-130 kDa.
- Unele dintre ele sunt holoproteine, altele sunt complexe cu glucide, lipide, metale.
- Într-un volum de sânge de 5,0 L și un hematocrit de 40%, cei 3,0 L de plasmă conțin 180-240g de proteine, corespunzând la 60-80g per litru.

108

- Proteinele plasmatică permanent se reînnoiesc și prezintă o serie de particularități referitor la metabolismul lor.
- Ele se află în schimb metabolic continuu cu proteinele tisulare.
- Sunt sintetizate preponderent în ficat și în țesutul macrofagal, și procesul este supus unei reglări riguroase.

109

■ *Funcțiile*

Sunt multiple și constau în următoarele:

- mențin volumul și presiunea coloid-osmotică a sângelui, de altfel și schimburile dintre capilare și țesuturi. Preponderent, sunt răspunzătoare de această funcție albuminele;
- transportă vitamine, metale, hormoni, pigmenți, lipide, medicamente;
- participă la menținerea echilibrului acido-bazic al sângelui;

110

- participă la sistemul de apărare nespecifică și specifică a organismului prin: properdină, lizozim, complement, proteina C reactivă, transferină, imunoglobuline;
- mențin echilibrul fluido-coagulant;
- determină microcirculația și vâscozitatea;
- reprezintă o rezervă proteică importantă în situații deficitare de aport proteic alimentar.

111

Principalele proteine

- Imunoglobulinele și proteinele coagulării vor fi redate în capitolele respective.
- O importanță biologică deosebită au proteinele reglatoare – citokinele, mediatori endogeni care asigură comunicarea între celule (interleukinele, interferonii, factorul de necroză tumorală – $TNF\alpha$).
- În continuare, vom prezenta proteinele plasmatică de importanță clinică.

112

Albumina

- Este o proteină majoră, reprezentând 55-60% din totalul proteic plasmatic cu un nivel de 33-45 g/L.
- Are o greutate moleculară de 69 kDa și un T1/2 egală cu 17-27 zile.
- Serumalbumina este sintetizată în ficat, are un lanț polipeptidic compus din 580 aminoacizi.
- Are o construcție spațială deosebită ce-i permite o flexibilitate remarcabilă.

113

- Proteina menține presiunea coloid-osmotică a plasmei, intervenind în reglarea schimburilor între plasmă și lichidul interstițial.
- Albumina transportă o varietate de componente (acizi grași, pigmenți biliari, vitamine, hormoni, medicamente, ioni metalici).
- Simultan, albumina constituie o importantă sursă de aminoacizi esențiali utilizați în procesele de sinteză.
- Scăderea presiunii coloid-osmotice prezintă un puternic stimul în sinteza hepatică de albumină.

114

- Hormonii glucocorticoizi și tiroidieni stimulează atât sinteza, cât și catabolismul proteinei.
- Hipoalbuminemia survine în stările patologice virale, în afecțiuni ale parenchimului hepatic în condițiile unei reduceri semnificative a numărului de hepatocite, în afecțiunile renale și intestinale, în malnutriție și malabsorbție.
- Analbuminemia este o maladie genetică transmisă autosomal recesiv, manifestată la homozigoți, cu simptome destul de pronunțate: edeme maleolare, hipotensiune arterială.

115

Glicoproteinele

- Ele conțin proporții variate de glucide (3-30%) – hexoze, hexozamine, acid sialic, legate covalent cu lanțul polipeptidic.
- Aproximativ 10% din totalul proteinelor plasmatică revin inhibitorilor proteazelor cu rol de protecție.
- După fixarea inhibitorului de protează, complexul este recunoscut de receptorii celulari specifici, apoi captat și înlăturat din circulație.

116

- Cei mai importanți inhibitori de proteaze fac parte din grupa serpinelor (serine protease inhibitors).
- Specificitatea lor este relativă: o anumită protează poate fi blocată de mai mulți inhibitori, afinitate determinată de anumite secvențe aminoacidice.

117

Alfa-1 antitripsina (α_1 -AT)

- Sinteza ei în ficat este stimulată de citokinele macrofagelor.
- Este o glicoproteină cu greutatea moleculară de 53 kDa și o concentrație în ser de 2-6 g/L.
- Posedă mai multe forme moleculare.
- Proteina este inhibitor natural al proteazelor, inhibând și chimotripsina, kaliceina, plasminele.
- α_1 -AT destul de ușor trece în interstițiu și poate proteja țesuturile de activitatea distructivă a proteazelor.

118

- Se consideră că fumatul și radicalul superoxid generat de neutrofile pot inactiva proteina prin oxidarea situsului reactiv.
- În procesele inflamatorii ale căilor respiratorii se eliberează elastaza din neutrofilele focarului inflamator.
- În mod normal proteaza este inhibată de α_1 -AT exudată în țesutul inflamator.
- În cazurile cu deficit de α_1 -AT elastaza va degrada proteolitic septele interalveolare și va duce implicit la apariția unui enfizem panlobular.

119

- Administrarea de α_1 -AT purificată din plasmă sau obținută prin inginerie genetică poate preveni sau stopa apariția bolii la subiecții cu deficit genetic.
- Deficitul ereditar (Laurell-Eriksson) de α_1 -antitripsină se transmite recesiv autosomal.
- În această grupă de serpine se includ și: α_1 -antichimotripsina, α_2 -antiplasmina, antitrombina III, inhibitorii activării plasminogenului (PAI-1, PAI-2, PAI-3) ș.a.

120

Macroglobulina α_2 (α_2 -MG)

- Sintetizată de ficat, macrofage și endotelii are o greutate moleculară de 735 kDa și o concentrație plasmatică de 200-300 mg/L.
- Este un inhibitor cu un spectru larg de activitate, inhibând enzimele coagulării, elastaza, colagenaza, catepsina 6.
- Proteina nu face parte din clasa serpinelor.
- α_2 -MG posedă și funcția de a lega majoritatea citokinelor, modulând activitatea lor proinflamatorie.

121

- Posedă α_2 -MG și efecte imunoreglatoare, intervenind în sinteza imunoglobulinelor.
- Efectuează și funcția de transport al insulinei, zincului și altor microelemente.
- Deficitul este însoțit de sângerări pasagere determinate de accelerarea fibrinolizei.
- Creșteri importante se constată în sindromul nefrotic, diabetul zaharat, unde nivelurile α_2 -MG corelează cu prezența nefro- și retinopatiei.

122

 α_1 -glicoproteina acidă (α_1 -GA)

- Are o componentă glucidică de 42%.
- Este sintetizată în ficat și se află în plasmă în concentrație de 44-140 mg/L.
- Proteina (orosomucoid) nu are specificitate, dar este un indicator important al procesului inflamator, revenind la normal după 2 săptămâni de la vindecare.
- Componenta glucidică se fixează nespecific la suprafața unor bacterii, virusuri.

123

- De asemenea leagă o serie de medicamente – miorelaxantele, psihotropicele.
- I se atribuie și un rol de modulare a răspunsului imun, temperând activarea neutrofilelor.
- Scăderi ale α_1 -GA s-au semnalat în malnutriție, ciroza hepatică și sindromul nefrotic.
- α_1 -fetoproteina se sintetizează în ficat și tractul intestinal.
- În hepatom concentrația plasmatică crește până la 2 mg/L (normal este de 10 ng/mL).

124

Proteina Creativă (CPR)

- CPR este alcătuită din cinci subunități identice, asociate prin legături necovalente.
- Se sintetizează preponderent în ficat, unde este indusă de IL-6.
- În condiții normale are o concentrație serică sub 0,5 mg/dL, dar pe parcursul unui proces inflamator poate crește de sute de ori.
- Poartă denumirea de la afinitatea mare față de polizaharidul C al pneumococului.

125

- Poate lega și alte glicoproteide aflate în peretele numeroaselor bacterii, fungilor.
- CPR reprezintă un indicator important întru detectarea infecțiilor, inflamațiilor acute și cronice.
- Proteina crește și în inflamații nespecifice.

126

Haptoglobinele

- Sunt o familie de glicoproteine sintetizate în ficat și capabile să lege hemoglobina (1 mol leagă 2 moli de Hb).
- Complexul este captat din circulație de către macrofage, prevenind o eventuală pierdere de fier pe calea urinară.
- Compuse din 4 lanțuri polipeptidice (2 α și 2 β), ultimele comune tuturor tipurilor de haptoglobine, au o concentrație serică de 300mg/dL.

127

- Fenotipurile (10) de haptoglobine sunt folosite în studii de genetică a populației.
- Haptoglobinele sunt reactanți de fază acută, crescând în infecții microbiene, arsuri, reacții alergice, leucemii, cancer.
- Scăderile se evidențiază în insuficiență hepatică, anemii hemolitice.
- T 1/2 al haptoglobinelor este de 5 zile, dar sub forma de complex cu hemoglobina acest timp se reduce la 9-30 minute.
- Se depistează prin imunodifuzie radială.

128

Ceruloplasmina

- Ceruloplasmina reprezintă o metalglicoproteină cu o mobilitate α_2 -globulinică.
- Conține molecula 0,30-0,32% Cu și are o greutate moleculară de 130-160 kDa.
- Cei opt atomi de Cu sunt transferați către citocromoxidază în decursul sintezei acesteia.
- Ceruloplasma e implicată în metabolismul aminelor biogene, intervine în oxidarea Fe^{2+} la Fe^{3+} .

129

- Sunt descrise mai multe fenotipuri de această proteină.
- Creșteri reactive nespecifice s-au depistat în procesele inflamatorii și maligne (limfogranulomatoza malignă).
- În boala Wilson (degenerescența hepatolenticulară) ficatul și nucleul lenticular din creier conțin cantități anormal de mari de Cu.
- Se excretă excesiv cu urina, în timp ce plasma conține o cantitate mică de Cu și de ceruloplasmină.

130

- Se observă și o absorbție intensivă de Cu în intestin.
- Depozitarea excesivă de cupru în ficat duce la ciroză, cu deteriorarea sintezei de ceruloplasmină sau a unui defect de încorporare a Cu în globulină și, în consecință, o cantitate mare de Cu liber se combină anormal cu proteinele din creier și ficat.
- Cuprul acumulat provoacă distrugerea celulelor (inelele Kaiser-Fleischer pe cornee).

131

- Depunerea poate fi redusă, și sporită eliminarea, prin urină cu ajutorul administrării unor substanțe chelatoare ca D-penicilamina.
- Poate fi dereglată și reabsorbția cuprului în duoden (boala Menkes-tricopolidistrofia), patologie legată de cromozomul X.
- Valoarea normală a ceruloplasminei în plasmă e de 2,0-3,4 $\mu\text{mol/L}$ (0,25-0,45 g/L).

132

Transferina

- Transferina prezintă o β -glicoproteină formată dintr-un lanț polipeptidic cu o masă moleculară de 86 kDa.
- Se cunosc mai multe forme moleculare ale transferinei genetic determinate.
- Cele mai cunoscute sunt tipurile B, D, C.
- Transferina poate fixa 2 atomi de Fe/moleculă (în mediul neutru).

133

- Sunt sintetizate preponderent în ficat, dar în cantități reduse și în splină, ganglioni limfatici și celulele epiteliale ale mucoasei intestinale (ileon).
- Transferina fixează Fe ionizat de proveniență intestinală sau în organele de depozitare a metalului.
- În condiții fiziologice numai 1/3 din transferină este saturată cu Fe.
- Nivelul sideremiei variază între 70-170 μ g % pentru bărbați.

134

- Capacitatea de fixare a fierului de către transferină (IBC - Iron Binding Capacity) corespunde cantității de fier necesară pentru saturația ei (180-280 μ g% pentru bărbați și 150-250 μ g% pentru femei sau, respectiv, 32-50 μ mol/L și 27-45 μ mol/L).
- Capacitatea totală de fixare a fierului (TIBC) se obține din suma valorii sideremiei și a IBC (300-400 și 250-350 μ g% sau 54-72 și 45-63 μ mol/L la bărbați și femei).

135

- Se mai calculează și coeficientul de saturație din raportul sideremiei și a TIBC, egal cu 40% și 35% la bărbați și femei, respectiv (16-45).
- Transferina este fixată de receptorii celulari specifici, care preiau fierul.
- În inflamații, macrofagele activate înglobează cantități majore de fier cu transferină ce duce la o scădere a lor în ser.
- În anemiile feriprivate, concomitent cu scăderea sideremiei se semnalează creșterea marcantă a transferinei.
- Valori normale: 50-70 μ mol/L (0,3-0,4 g/L).

136

Imunoglobulinele

- Imunoglobulinele plasmatică, fiind glicoproteine, sunt sintetizate în plasmocite, reprezentând aproximativ 20% din totalul proteinelor plasmatică.

137

Reglarea apoptozei

- Apoptoza (moartea programată a celulei) este caracterizată de o serie de schimbări biochimice care se finalizează cu moartea celulei fără apariția inflamației ca semn al necrozei.
- Dezvoltarea embrionară, fetală și postnatală implică moartea celulelor prin apoptoză, care servește drept modalitate de a elimina excesul de celule formate prin proliferare sau migrare.

138

- Apoptoza este inițiată de o varietate de stimuli externi și reacții chimice așa ca oxidări intense, mărirea permeabilității membranei mitocondriale, activarea proteinazelor, a endonucleazelor, transglutaminazei și clivarea polimerazei poli ADP-riboză.
- Necroza este o formă pasivă de moarte a celulelor care diferă de apoptoză și afectează un grup regional de celule după un oarecare eveniment așa ca congestia cerebrală, infarctul miocardic, hemoragie sau infecție.

139

- Spre deosebire de necroză, apoptoza este un proces activ, care necesită sinteză de RNA, proteine și activitatea unor noi enzime.
- Apoptoza implică, de obicei, celule izolate moartea cărora este programată într-un anumit organ la o anumită perioadă de timp.
- Anumite caractere ale morții programate a celulelor prin apoptoză le diferențiază pe cele care sunt distruse prin necroză.

140

- În primul rând, celulele se ratatinizează, membrana plasmatică și veziculară își schimbă forma și fosfatidilserina este redistribuită pe suprafața celulei.
- Se detectează și schimbări nucleare în celulele apoptotice.
- Are loc fragmentarea nucleului, cromatinei și DNA-ului intranucleozomal.
- Analiza DNA-ului arată prezența unui fragment care apare în urma acțiunii unei endonucleaze activate anormal.

141

- De altfel, apoptoza este necesară pentru dezvoltarea normală a organismului, ea poate fi cauza schimbărilor patologice în diferite boli neurologice cronice, incluzând scleroza amiotrofică laterală, boala Parkinson, boala Huntington și ataxia spinocerebrală.
- Apoptoza poate juca un rol-cheie în apariția bolii Alzheimer.
- După semnalul de apoptoză, celulele apoptotice sunt supuse unor serii de acțiuni.

142

- Proteinazele joacă un rol important în apoptoză; ele sunt cistein-proteinaze activate de semnalele apoptotice și degradează proteinele celulare prin clivarea fragmentelor la resturile de Asp.
- Prima proteină-caspaza descoperită (caspaza-1) în celulele glandei mamare a fost numită enzima „celula morții”, fiind asemănătoare cu gena *ced-3* la nematodele *Caenorhabditis elegans*.
- Studiile au identificat o serie de caspaze mamare care funcționează ca inițiatori ai apoptozei (caspazele 2,8,9,10), executorii apoptozei (caspazele 3,6,7) și procesorii citokinelor (caspazele 1,4,5).

143

- Activarea caspazelor 1 și 3 joacă un rol cheie în patogeneza bolilor neurologice cronice care rezultă din moartea progresivă a celulelor.
- Pe de altă parte inactivarea caspazelor poate promova oncogeneza prin aceea că determină acumularea de celule.
- Deci, caspazele sunt factorii care intervin în diferite boli care duc la moarte.

144

- Scleroza amiotrofică laterală (ALS) a fost descrisă pentru prima dată de către neurologistul francez Charcot în 1869.
- Boala implică pierderea rapidă a motoneuronilor din cortex, trunchiul cerebral și măduva spinării; pacienții mor după 3-5 ani după diagnosticare.
- ALS deseori este numită boala lui Lou Gehring.
- De obicei, ALS prezintă o formă sporadică și rareori există un factor familial; acestea prezintă primele chei ale bazei moleculare pentru ALS.

145

- O formă de ALS este determinată de mutația genei SOD care codifică enzima superoxid dismutaza (Cu, Zn-SOD).
- În cantități mici această enzimă nu determină apariția ALS, dar la supraexprimarea ei gena mutantă determină apariția ALS și moartea motoneuronilor.
- Se știe că gena mutantă SOD1 cauzează apoptoza motoneuronilor prin activarea caspazelor inițiatoare.

146

- Utilizându-se medicamente care inhibă activitatea caspazelor în ALS la șoricea, viața acestora a crescut cu 70%.
- Deoarece multe detalii moleculare cu privire la funcția caspazelor și apoptozei au fost relevate, ar fi posibil de produs medicamente care ar ameliora sau suprima simptomele cancerului și bolilor neurologice.

147

Există câteva căi de realizare a MPC (moartea programată celulară):

1. Călea determinată de inductorii fiziologici, acțiunea cărora se realizează prin receptorii celulari, cu funcția de includere a mecanismelor programei apoptozei.
- ✓ Schematic s-ar putea de produs în felul următor:
inductor → receptor → adaptorii → caspazele inițiale → reglatori → caspazele finale.

148

- ✓ În faza activării caspazelor inițiale, viața celulei poate fi păstrată.
 - ✓ Există reglatori care blochează sau accelerează efectul distructiv al caspazelor inițiale.
 - ✓ Caspaza 8 activează caspaza finală (caspaza efector): prin proteoliză se generează caspaza 3, după care MPC devine ireversibil.
2. Recent s-a confirmat că un rol-cheie în apoptoză îl joacă mitocondriile.
- ✓ Unul din simptomele precoce ale apoptozei este depolarizarea membranei interne mitocondriale.

149

- ✓ Atât apoptoza, cât și depolarizarea membranei mitocondriale sunt protejate, datorită utilizării inhibitorilor ce blochează formarea de pori în membrana internă.
- ✓ Se consideră că formarea de pori e catalizată de *ciclofelină*.
- ✓ Inhibitorul acestei enzime este ciclosporina A.
- ✓ La deschiderea porilor, mitocondriile funcționează intensiv, "arzând" materialul celular fără stocare de energie.

150

- ✓ Într-o serie de experiențe adaosul mitocondriilor la fracția nucleară a provocat modificări apoptozice în structurile nucleare.
- ✓ S-a demonstrat că orice agent care contribuie la formarea porilor în mitocondrii e capabil să provoace apoptoza, pe când inhibitorii formării porilor au efect de protecție.
- ✓ S-a presupus și apoi s-a stabilit că la afectarea membranei mitocondriale *se elimină un factor ce atacă nucleul și provoacă apoptoza*.

151

- ✓ Acest factor e o proteină cu masa moleculară egală cu 50 kDa situată în spațiul intermembranal mitocondrial și îl părăsește la lezarea integrității membranei externe.
- ✓ Fiind separat, adaosul la fracția nucleară provoacă modificări tipice.
- ✓ S-a depistat și un inhibitor specific al acestei proteine caspaze (-Z-VAD-fink) – N-benzoiloxycarbonil-Val-Ala-Asp-ftormetilcheton – un inhibitor al proteazei ce transformă prointerleucina în interleucina-1 α .

152

- ✓ Acest inhibitor blochează apoptoza celulelor mamiferelor și ale insectelor.
- ✓ Conform opiniei lui G.Kroemer (1995, 1996), *proteina ce provoacă apoptoza, deși se află în mitocondrii, este codificată în nucleu*, fapt ce atestă că apoptoza este inițiată de eucariotele pluricelulare, la care moartea unei celule e favorabilă pentru altele, precum și pentru organismul integru.
- ✓ Proteina respectivă a fost depistată în mitocondriile unei linii celulare, ce nu conținea DNA mitocondrial.

153

- ✓ O analiză minuțioasă confirmă prezența unei legi fundamentale, ce are o arie de răspândire majoră în lumea animală.
- ✓ În încheiere, se presupune că diferite cauze provoacă apoptoza, însă doar un singur mecanism îi permite celulei să-și semneze verdictul mortal.
- ✓ Care e cauza că celula își alege anume acest mecanism complicat de realizarea a apoptozei ?

154

2. În 1994 s-a expus ipoteza că celula aerobă posedă un mecanism eșalonat de protecție la formarea superoxidului – $O_2^{\cdot-}$.
- ✓ Acest sistem funcționează în ansamblu cu mecanismele antioxidante, ce neutralizează superoxidul format sau produsele transformărilor ulterioare.

155

În celulă, sistemul se completează cu următoarele etape:

- 1) decuplarea "fină" a fosforilării și oxidării, prin traversarea intensivă a protonilor prin membrana internă mitocondrială.
 - Fenomenul apare și în starea de repaos, când utilizarea O_2 în FO e inhibată de reducerea rezervelor de ADP și acumularea lui ATP.
 - În acest caz crește concentrația intramoleculară a O_2 , durata vieții anionului ubisemichinona ($CoQ^{\cdot-}$) – reducător excelent al O_2 la $O_2^{\cdot-}$.
 - Decuplarea stimulează utilizarea O_2 , T $\frac{1}{2} CoQ^{\cdot-}$ și inhibă generarea de $O_2^{\cdot-}$.

156

2) În caz dacă decuplarea "fină" e insuficientă, se deschid porii, se declanșează decuplarea completă, iar utilizarea de O_2 în lanțul respirator devine maximă – substanțele respirației capătă acces liber spre dehidrogenazele mitocondriale.

- Utilizarea accelerată a O_2 reduce concentrația lui în celulă și durata vieții a CoQ devine maximă.
- E stabilit că deschiderea porilor este provocată de creșterea concentrației $O_2^{\cdot-}$ și a produselor sale – la micșorarea nivelului acestor produse, porii se închid.

157

— Dacă produsele peroxidării se acumulează și în prezența porilor, mitocondriile dispar, proces provocat de imposibilitatea lor de asimilare a proteinelor, ceea ce devine posibil în caz de existență a potențialului membranar.

- 3) Deschiderea prolongată a porilor conduce la tumefierea mitocondriilor și eliberarea "proteinei distrugătoare".
- La creșterea numărului unor asemenea celule, concentrația proteinei respective în citozol depășește limita critică, după care apare apoptoza.
 - În final se elimină celulele ce generează $O_2^{\cdot-}$.

158

- ✓ Dintre proteinele mitocondriale, ca factori apoptogeni fac parte și: citocromul c, procaspazele 2, 3, 9; proteina AIF (apoptosis inducing factor), ce reprezintă o flavoproteină cu masa moleculară de 57 kDa.

159

3. În unele cazuri, MPC se realizează în rezultatul efectului combinat a 2 căi – cu participarea receptorilor membranei plasmatică și a citocromului c mitocondrial

- ✓ Lezarea DNA provoacă acumularea în celule a proteinelor genei p53, care stopează înmulțirea celulelor și (sau) induce apoptoza.
- ✓ Gena p53 din celulele cancerigene în mai mult de 50% cazuri este inactivă, dereglând homeostaza celulară de p53.

160

- ✓ Această proteină, p53, este un factor de transcripție, ce reglează activitatea genelor.
- ✓ Se presupune că reacționarea la formarea p53 e dependentă de gradul de alterare a genomului celular.
- ✓ Diferite căi ale apoptozei pot interacționa între ele.
- ✓ În unele cazuri, calea receptorică conduce la activarea procaspazelor 8, puțin efective.

161

- ✓ În cazul dat se implică și calea mitocondrială a apoptozei – caspaza 8 interacționează cu proteina citozolică Bid din familia Bax, scindând-o în două componente.
- 4. Există și calea de transmitere a semnalului MPC, cu participarea reticulului endoplasmatic, unde e localizată procaspaza 12.
- ✓ Dereglările homeostaziei Ca^{2+} intracelular la adaosul tapcigarginei sau a preparatului Ca^{2+} ionoforic A23187 provoacă apoptoza determinată de activarea procaspazei 12.

162

- ✓ Apoptoza dependentă de RE se înregistrează la maladia Alzheimer (neuronii corticali la șoricei în deficit de caspază 12 sunt rezistenți la apoptoza indusă de proteina β -amiloidică, și nu la apoptoza indusă de citocromul c sau cu participarea receptorilor membranari).
- 5. Limfocitele citotoxice, T-killeri, provoacă apoptoza în celulele infectate prin intermediul proteinei – perforina.

163

- 6. Interacțiunea celulelor cu matricea extracelulară se produce prin intermediul integrinelor.
- ✓ Integrinele constituie o familie de proteine membranare heterodimere, care participă la adghezia celulelor în timpul fixării citoscheletului intracelular cu liganzii matricei extracelulare.
- ✓ Dereglările adgheziei induc apoptoza.

164

7. O formă aparte de apoptoză posedă eritrocitele vertebratelor.

- ✓ Biogeneza eritrocitelor din celula polipotentă include câteva faze: la prima fază eritroblastul pierde nucleul sau este supus distrucției, ulterior reticulocitul pierde mitocondriile, ribozomii și se transformă în eritrocite.
- ✓ Pierderea nucleului este o formă de apoptoză.
- ✓ Eritrocitul funcționează aproximativ 4 luni, apoi se distruge în sistemul reticuloendotelial – un program specific al MPC.

165

- ✓ Inhibitorul proteinkinazei staurosporina și inhibitorul sintezei proteinei cicloheximidina (inductor al MPC în majoritatea celulelor) nu provoacă MPC la eritrocitele omului, dar induc moartea eritrocitelor puișorilor de găină, cu semne ale apoptozei (cale care se realizează fără caspaze).
- ✓ Se comportă la fel ca și spermatozoizii șoriceilor, la care nucleul nu posedă activitate în transcripția DNA.

166

- ✓ Așadar, moartea programată a celulelor este un mecanism foarte răspândit în viață, inclusiv la procariote.
- ✓ Evolutiv apărut la procariote, ca mecanism de protecție contra virușilor, s-a înrădăcinat și la eucariotele unicelulare.
- ✓ Apoi, la eucariotele multicelulare, mecanismul s-a complicat și adaptat la combaterea factorilor patogeni, pentru realizarea diferitelor funcții strict necesare.
- ✓ Apoptoza la animale și la om e un instrument indispensabil pentru realizarea răspunsului celular și umoral al sistemului imun.

167