

## CAPITOLUL IV

### Chimia și metabolismul glucidelor

Glucidele sunt compuși polihidroxicarbonilici (aldoze și cetoze) și se împart în monozaharide, oligozaharide și polizaharide. Glucide cu importanță biologică deosebită sunt riboza, dezoxiriboza, glucoza, galactoza, manoză, lactoză, zaharoza, glicogenul ș.a.. În organism ele îndeplinesc funcții variate: energetică, structurală etc.

Glucidele alimentare (glicogenul, amidonul, zaharoza, maltoza, lactoză) sunt hidrolizate sub acțiunea enzimelor respective ( $\alpha$ -amilaza, zaharaza, lactaza și maltaza) până la monozaharide, care străbătind pereții intestinului subțire, nimeresc în sânge. Acesta le transportă spre ficat, unde sunt depozitate temporar sub formă de glicogen. Ulterior, în funcție de solicitare, sunt transportate pe cale sanguină în celulele diferitelor organe și țesuturi.

În celule, glucidele pot suferi diferite transformări: a) catabolice și b) anabolice. Principalele căi de catabolizare a glucidelor în organismul viețuitoarelor superioare și inferioare sunt glicoliza, fermentațiile, degradarea aerobă și degradarea pe calea pentozofosfată.

Glicoliza anaerobă este procesul prin care o moleculă de glucoză se transformă anaerob în două molecule de acid lactic. Procesul include 11 etape catalizate de enzimele glicolitice corespunzătoare în urma cărora se eliberează 196,46 kJ, cantitate suficientă pentru sinteza a doi moli de ATP.

Unele microorganisme au capacitatea de a transforma glucoza în etanol cu eliberare de bioxid de carbon. Procesul se numește *fermentație alcoolică* și până la stadiul de formare de acid piruvic se aseamănă cu glicoliza. La început acidul piruvic este decarboxilat, iar acetaldehida rezultată este redusă până la alcool etilic.

Degradarea aerobă a glucozei decurge ca faza anaerobă și fermentația alcoolică până la stadiul de acid piruvic care se decarboxilează oxidativ. Din reacție rezultă acetil - CoA, care intră în ciclul citratului. Din degradarea aerobă a unei molecule de glucoză rezultă 38 molecule de ATP ceea ce corespunde la 1111,8 kJ.

Importanța căii pentozofostat constă în faptul că diverși produși de reacție sau intermediarii ciclului pentozofosfat sunt implicați în procese de biosinteză a unor compuși de importanță biologică majoră. Astfel,  $\text{NADPH}_2$  este

furnizorul de hidrogen în procesele de biosinteză a acizilor grași, a compușilor steroizi etc. Pentozele sunt implicate în biosinteza mononucleotidelor și respectiv a acizilor nucleici, coenzimelor.

Anabolismul glucidic include biosinteza glucozei și biosinteza oligo- și polizaharidelor. Gluconeogeneza este procesul de biosinteză a glucozei din compuși neglucidici, cum sunt aminoacizii, lactatul, piruvatul, intermediarii ciclului acizilor tricarboxilici și decurge prin simpla inversare a reacțiilor glicolitice. Deseori glucoza se formează din celelalte hexoze prin procesul de interconversie. Desfășurarea normală a metabolismului glucidic este controlată atât la nivel molecular prin intermediul enzimelor reglatoare, cât și la nivel superior de factorii de reglare cum sunt hormonii, sistemul nervos etc.

Starea de echilibru a metabolismului glucidic este indicată de concentrația glucozei în sânge (glicemie). În condiții fiziologice ea este cuprinsă între 3,33 - 5,55 mM/l.

Tulburările metabolismului glucidic se pot manifesta prin hiperglicemii sau prin hipoglicemii. În patologia metabolismului glucidic sunt întâlnite și bolile de depozitare a glicogenului, numite *glicogenoze*.

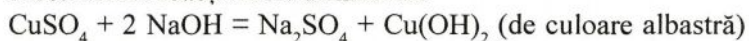
### TEMA 13

#### **Chimia și digestia glucidelor. Metabolismul glicogenului (sinteza, mobilizarea, reglarea). Reacții de identificare a monozelor în lichidele și preparatele biologice**

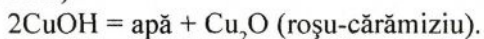
##### **Experiența 1. Reacția Trommer.**

**Principiul reacției.** Monozaharidele în mediu alcalin reduc hidroxidul de cupru  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  cu formare de oxid cupros  $\text{Cu}_2\text{O}$ , care se depune sub formă de precipitat roșu-cărămiziu.

Mecanismul reacției este următorul:



Glucoza +  $2\text{Cu}(\text{OH})_2$  = Acid gluconic + apă +  $2\text{CuOH}$  (de culoare galbenă).



Reacția Trommer poate fi mascată în cazul prezenței unui exces de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ , deoarece în timpul încălzirii acesta pierde o moleculă de apă, trecând în oxid de cupru de culoare neagră:  $\text{Cu}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{CuO} + \text{H}_2\text{O}$

**Mod de lucru.** În patru eprubete numerotate se introduc cu pipeta câte 1ml din soluțiile de glucoză, zaharoză, amidon și urină patologică, adăugându-se apoi hidroxid de sodiu de 10%. Se adaugă soluție de sulfat de cupru de 2% pînă la apariția unei suspensii de hidroxid de cupru de culoare albastră.

Partea superioară a eprubetei, pînă la care a ajuns nivelul soluției, este apoi încălzită cu grijă. Apare o culoare galbenă care la încălzirea de mai departe a conținutului eprubetei trece în roșu-cărămiziu, dovedind prezența zaharurilor reducătoare în soluția analizată. Comparați rezultatele reacției de culoare obținute și explicați prezența sau absența precipitatului roșu-cărămiziu.

#### **Experiența 2. Reacția Fehling.**

**Principiul reacției** zaharurilor reducătoare cu licoarea Fehling este același ca cel descris mai sus pentru reacția Trommer.

Licoarea Fehling este o soluție în compoziția căreia intră sulfatul de cupru, hidroxidul de sodiu și tartratul dublu de sodiu și potasiu în proporții determinate. Tartratul dublu de sodiu și potasiu menține hidroxidul de cupru în soluție. De aceea la fierberea licorii Fehling nu se poate observa apariția oxidului de cupru de culoare neagră.

**Mod de lucru.** În patru eprubete numerotate se pun cu pipeta câte 1ml din soluțiile de glucoză, zaharoză, amidon și urină patologică, adăugându-se în toate câte 1ml de licoare Fehling. Conținutul eprubetelor se încălzește pînă la fierbere. Se notează și se explică rezultatele reacției cu licoarea Fehling.

#### **Experiența 3. Reacția Nylander.**

**Principiul reacției.** În prezența unui zahăr reducător, sarea de bismut la cald este redusă pînă la bismut metalic de culoare neagră.

**Mod de lucru.** Într-o eprubetă se pune cu pipeta 1ml soluție de glucoză și se adaugă 1ml soluție Nylander și 2 ml de apă distilată. Amestecul se încălzește pînă la fierbere. La începutul fierberii apare un precipitat brun, care trece repede în negru.

#### **Experiența 4. Reacția Seliwanoff.**

**Principiul reacției.** Cetozele (fructoza), prin încălzire în prezența acidului clorhidric și a rezorcinei, colorează soluția în roșu-vișiniu sau în roșu. Fructoza prin încălzire în mediu puternic acid pierde trei molecule de apă, transformându-se în oximetilfurfurol. Acesta reacționează cu rezorcina formînd un compus colorat în roșu-vișiniu sau roșu.



**Mod de lucru.** În două eprubete se pun cu pipeta 1 ml soluție Seliwanoff la care în prima eprubetă se adaugă 2-3 picături soluție de fructoză, iar în a doua - 2-3 picături soluție de glucoză. Eprubetele se încălzesc. Se notează și se explică rezultatele reacțiilor.

**Experiența 5. Digestia glucidelor în tractul gastrointestinal.**

Experiența se realizează conform schemei de mai jos. Se notează colorația în fiecare eprubetă și se explică rezultatele reacției cu licoarea Fehling luând în considerare acțiunea enzimelor ce se conțin în sucul gastric, salivă, pancreatinei asupra amidonului și zaharozei.

**Experiența 6. Hidroliza amidonului în mediu acid.**

**Principiul reacției.** Amidonul nu posedă proprietăți reducătoare, însă la fierbere cu HCl concentrat el se scindează cu formarea la început a dextrinelor (produse intermediare), apoi a maltozei și în sfârșit a glucozei, care posedă proprietăți redox.

**Mod de lucru.** Într-o eprubetă se introduc 3-4 ml soluție de amidon de 1% și câteva picături de HCl concentrat. Conținutul eprubetei se agită și se fierbe. După 1-2 minute de la începutul fierberii se iau 5-10 picături de hidrolizat într-o eprubetă, unde din timp se introduc 5 ml H<sub>2</sub>O și apoi 2 picături soluție Lugol (I<sub>2</sub> în KI). Apare o culoare violetă ce indică prezența I<sub>2</sub> dextrine – amilodextrine. Eprubeta cu amidon și acid se încălzește în continuare și peste 1-2 min repetăm proba cu iodul – apare o culoare roșie-brună, ce indică prezența eritrodextrinelor. Peste 2-3 min se repetă reacția cu iodul – apare o colorație galbenă (culoarea iodului în apă), caracteristică pentru acrodextrine. Amidonul se hidrolizează mai departe pînă la maltoză și glucoză, reacția cu iodul este negativă. Conținutul eprubetei se colorează în galben, ceea ce indică sfârșitul hidrolizei.

Hidrolizatului obținut se neutralizează cu 2-3 picături de NaOH de 10 % pînă la mediu bazic (după hîrtia de turnesol), se adaugă licoarea Fehling (în raport de: 5 picături de hidrolizat la 15 picături de licoarea Fehling) și se încălzește pînă la fierbere. Apare un sediment galben de CuOH, care trece în roșu-cărămiziu (Cu<sub>2</sub>O). Aceasta ne dovedește prezența glucozei care posedă proprietăți reducătoare.

No d/o	Ami- don (ml)	Zaha- roză (ml)	Sali- vă (ml)	Suc gastric (ml)	Pan- creatină (ml)	Baie de apă	Licoa- rea Fehlin g (ml)	Cu- loa- rea
1	1,0	-	1,0	-	-		1,0	
2	1,0	-	-	1,0	-		1,0	
3	1,0	-	-	-	1,0		1,0	
4	-	1,0	1,0	-	-	37°C	1,0	
5	-	1,0	-	1,0	-	10	1,0	
6	-	1,0	-	-	1,0	min	1,0	

**Experiența 7. Determinarea activității  $\alpha$ -amilazei salivare. Metoda Volghemut.**

**Principiul metodei.** Metoda se bazează pe determinarea cantității minime de amilază care degradează complet amidonul adăugat. Activitatea  $\alpha$ -amilazei salivare se exprimă în mililitri de soluție de amidon de 0,1%, care sunt descompuși de 1 ml salivă nediluată în decurs de 30 min la 38°C. În salivă activitatea amilazei variază între 160 și 320. Această metodă este utilizată pe larg la dozarea activității amilazei în urină și sînge.

**Mod de lucru.** În șase eprubete numerotate se pun cu pipeta cîte 1 ml de apă. În prima eprubetă se adaugă 1 ml de salivă diluată de 10 ori. Conținutul primei eprubete se agită trăgînd și dînd drumul lichidului din pipetă. Se iau cu pipeta 1 ml amestec și se trece în eprubeta a doua. Conținutul acestei eprubete se agită și 1 ml de amestec se trece în a treia. Acest procedeu se repetă pînă la ultima eprubetă, din care 1 ml de amestec se varsă. În toate eprubetele se adaugă cîte 2 ml soluție de amidon de 0,1%, eprubetele se agită și se instalează în baia de apă la 38°C pentru 30 minute. După incubare, eprubetele se răcesc într-un șuvoi de apă de robinet și se adaugă în fiecare cîte o picătură soluție de iod de 0,1% și se agită. Se notează colorația amestecului din fiecare eprubetă.

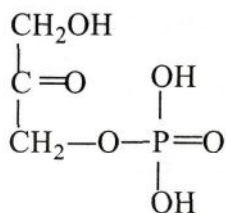
**Calculul.** Se notează eprubeta în care s-a produs hidroliza completă a amidonului de către cantitatea minimă de amilază. După cantitatea de salivă nediluată din această eprubetă se face calculul activității amilazei salivare conform următoarelor proporții. A ml salivă diluată scindează 2 ml soluție de amidon de 0,1%, iar 1 ml de salivă nediluată scindează X ml soluție de amidon de 0,1%. Diluția salivei este următoarea: prima eprubetă - 1:20, eprubeta a doua - 1:40, eprubeta a treia - 1:80 etc.

### Teme pentru autopregătire

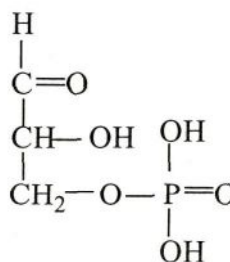
1. Rolul biologic al glucidelor. Clasificarea glucidelor.
2. Monozaharidele. Clasificarea lor. Importanța și structura celor mai importante trioze, pentoze și hexoze.
3. Structura glucozei (formula deschisă, proiecția Haworth, conformația scaun). D- și L-glucoza, anomerii și epimerii glucozei.
4. Reacțiile chimice importante ale monozaharidelor (formarea O- și N-glicozodelor, derivaților fosforilați, aminoglucidelor, acizilor aldonici și uronici).
5. Structura și proprietățile dizaharidelor (maltozei, lactozei și zaharozei).
6. Structura și proprietățile polizaharidelor (amidonului, glicogenului și celulozei).
7. Digestia și absorbția glucidelor în tractul gastrointestinal.
8. Metabolismul glicogenului (sinteza, mobilizarea, reglarea).
9. Principiul reacțiilor de identificare a monozaharidelor în lichidele biologice.

### Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. Zaharoza nu se prezintă sub două forme anomere. De ce?
2. Care este singura deosebire de structură dintre amidon și celuloză? Cum se răsfrânge această deosebire asupra proprietăților acestor polizaharide?
3. Mai jos sunt date formulele a două substanțe. Care din afirmațiile enumerate sunt juste și care nu?



A



B

- a) A este un alcool primar, iar B – alcool secundar;
- b) A este o cetonă, iar B - o aldehidă;
- c) A și B sunt enantiomeri;



d) A și B nu sunt enantiomeri, ci ambele sunt optic active;

e) A și B sunt fosfotrioze.

4. Rumegătoarele utilizează celuloza ca hrană, iar majoritatea mamiferelor nu o pot utiliza. Explicați de ce.

## TEMA 14

**Glicoliza. Reglarea. Soarta piruvatului în diferite condiții.**

**Fermentația alcoolică. Gluconeogeneza: mecanismul, reglarea**

**Experiența 1. Utilizarea fosforului anorganic în procesul de fermentație alcoolică.**

**Principiul reacției.** Dacă în proba luată pînă la începerea fermentației și în trei probe luate după începerea fermentației se efectuează reacția molibdenică de identificare a acidului fosforic, atunci se observă că intensitatea culorii albastre descrește de la prima probă spre ultima. Aceasta are loc din cauza că fosfatul anorganic este folosit permanent în procesul de fermentație alcoolică la formarea 1,3 - difosfogliceratului și cantitatea lui în mediu se reduce treptat.

**Mod de lucru.** În 4 eprubete numerotate se pune cu pipeta cîte 1 ml soluție de acid tricloracetic de 10%. Se mărunțește 1 g drojzii de bere uscată cu un 1 g glucoză sau zaharoză, 5 ml soluție de fosfați și se agită. 1 ml de amestec se trece în prima eprubetă. Eprubeta cu restul amestecului se pune într-o baie de apă la  $t = 37^{\circ}\text{C}$ . După 30, 60 și 90 minute de la începutul fermentației se iau cîte 1 ml de amestec și se trec în eprubetele cu acid tricloracetic (probele 2, 3 și 4). Amestecul din fiecare probă se filtrează și în filtratele obținute se identifică fosforul anorganic. Pentru aceasta din fiecare probă se iau cîte 0,5 ml filtrat neproteic într-o eprubetă numerotată, la care se adaugă cîte 0,5 ml soluție de acid ascorbic. Apoi se adaugă 8 ml apă distilată, se agită și se lasă în repaus timp de 15 minute la temperatura camerei. Se compară intensitatea colorației albastre în toate probele și se explică rezultatele obținute.

**Experiența 2. Determinarea activității fructozo-1,6-difosfaldolazei din serul sanguin.**

**Principiul metodei.** Fructozo-1,6-difosfaldolaza catalizează reacția de scindare a fructozo-1,6-difosfatului (FDP) în două fosfotrioze -

dihidroxiacetonfosfat și gliceraldehidă-3-fosfat, care formează cu 2,4-dinitrofenilhidrazina o hidrazonă, colorată în mediu alcalin în violet. Intensitatea colorației este direct proporțională cu activitatea enzimei în eșantionul analizat.

**Mod de lucru.** În două eprubete (proba de cercetat și proba de control) se pun cu pipeta câte 0,1 ml ser sangvin. În proba de cercetat se adaugă 0,2 ml amestec nr. 2 (conține hidrocarbonat de sodiu, hidrazinsulfat, acid monoiodacetic, FDP și apă), iar în proba de control - 0,175 ml de amestec nr. 1 (conține aceleași componente în afară de FDP). Ambele eprubete se introduc într-o baie de apă pentru o oră la  $t = 37^{\circ}\text{C}$ . După incubare, în proba de control se adaugă câte 0,3 ml soluție de acid tricloracetic de 10% și 0,6 ml soluție de hidroxid de sodiu de 3%. Probele se lasă în repaus timp de 10 minute la temperatura camerei. Apoi se adaugă câte 0,6 ml soluție de 2,4-dinitrofenilhidrazină și din nou se lasă în repaus timp de 10 minute. După aceasta în fiecare eprubetă se introduc câte 4,2 ml soluție de hidroxid de sodiu de 3% și probele se citesc imediat la fotocolorimetru contra apei (cuva - 5 nm, filtrul de lumină verde). Din indicația probei de analizat se scade indicația probei de control. Activitatea fructozo-1,6-difosfaldolazei se exprimă în unități convenționale, care prezintă valoarea extincției multiplicată cu 100. În condiții normale, activitatea aldolazei constituie 3 - 8 unități.

**Valoarea diagnostică.** Creșterea activității aldolazei din serul sanguin se observă în distrofia musculară, hepatitele toxice și infecțioase, pancreatita acută, infarctul miocardic.

#### **Teme pentru autopregătire**

1. Glicoliza. Treptele enzimaticice ale glicolizei aerobe și anaerobe.
2. Reglarea glicolizei.
3. Bilanțul energetic al degradării anaerobe și aerobe a glucozei. Soarta piruvatului.
4. Fermentația alcoolică.
5. Sistemele navetă pentru transferarea NADH din citozol în mitocondrii.
6. Gluconeogeneza (mecanismul, reglarea).
7. Procesul de sinteză și reglare a lactozei.



### Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. Scrieți reacțiile glicolizei anaerobe în care se formează ATP prin fosforilare la nivel de substrat.
2. Numiți enzimele glicolizei care se referă la oxido-reductaze, transferaze și liaze.
3. Scrieți reacțiile de transformare ulterioară a piruvatului.
4. Scrieți reacțiile degradării glucozei începând cu dihidroxiacetonfosfatul și terminând cu 1,3-difosfoglicerat. Care este soarta hidrogenului scindat în condițiile aerobe și anaerobe de degradare a glucozei?
5. Câte molecule de ATP se generează prin fosforilare la nivel de substrat la degradarea completă aerobă a unei molecule de glucoză?
6. Scrieți reacțiile sistemelor navetă glicerolfosfat și malat.
7. Câte molecule de ATP se generează la oxidarea completă până la  $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2\text{O}$  a unei molecule de lactat?
8. Care este soarta acidului lactic?
9. Scrieți reacțiile de obținere a alcoolului etilic din lactat.
10. Calculați numărul de molecule de ATP și  $\text{CO}_2$  care se eliberează la fermentația alcoolică a zaharozii.
11. Gluconeogeneza. Reacțiile ireversibile ale glicolizei și inversarea lor în cazul gluconeogenezei.
12. Cum influențează majorarea concentrației de ATP și AMP asupra activității fosfofructokinazei?
13. În baza reacțiilor enzimatiche cunoscute, indicați care din substanțele numite sunt formatoare de glicogen: a) succinat; b) glicerol; c) acetyl-CoA; d) piruvat; e) butirat?
14. În ce punct se produce reglarea sintezei glicogenului?
15. Reieșind din procesul de sinteză a glicogenului, determinați numărul de molecule de ATP care se consumă la transformarea glucozo-6-fosfatului în glicogen. Câte procente constituie acest număr din numărul maxim de molecule de ATP formate la degradarea completă a glucozo-6-fosfatului?

## TEMA 15

**Calea pentozofosfat de degradare a glucozei. Includerea altor monozaharide (fructoza, galactoza) în secvența glicolică.**

**Reglarea și patologia metabolismului glucidic. Diabetul zaharat.**

**Insulina și mecanismele ei de acțiune.**

**Reglarea nivelului de glucoză în sânge**

**Experiența 1. Determinarea piruvatului în urină.**

**Principiul metodei.** Piruvatul în mediul alcalin reacționează cu 2,4-dinitrofenilhidrazina acidului piruvic de culoare galbenă-oranj. Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația de acid piruvic și se determină pe cale colorimetrică.

**Mod de lucru.** În prima eprubetă (proba de analizat) se pune cu pipeta 1 ml de urină, iar în a doua (proba de control) - 1 ml de apă. Apoi în ambele eprubete se adaugă câte 1 ml soluție alcoolică de hidroxid de potasiu de 2,5%, se agită un minut, după ce se adaugă câte 0,5 ml soluție de 2,4-dinitrofenilhidrazină de 0,1%. Conținutul eprubetei din nou se agită și se lasă în repaus timp de 15 minute la temperatura camerei. Se determină valoarea E a probei de analizat la FEC contra probei de control (cuva - 5 mm, filtrul de lumină albastră). Conținutul de acid piruvic în proba de analizat se determină cu ajutorul curbei-etalon.

**Valoarea diagnostică.** Zilnic cu urina se excretă 113,7-283,9 mM (10-25 mg) de acid piruvic. Conținutul acidului piruvic crește în sânge și în urină în insuficiență de tiamină în organism, în diabetul zaharat, în hiperfuncția sistemului hipofizo-suprarenal, în cazurile de administrare a unor medicamente – adrenalinei, stricninei, camforului.

**Experiența 2. Determinarea glucozei în sânge. Metoda o-toluidinică.**

**Principiul metodei.** La fierberea glucozei cu o-toluidină (metilanilină) în soluția de acid acetic se formează un complex de culoare verde. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea de glucoză și se determină prin fotocolorimetrie.

**Mod de lucru.** În două eprubete de centrifugare se pun cu pipeta câte 0,9 ml soluție de acid tricloracetic de 3%. În prima eprubetă (proba de analizat) se adaugă 0,1 ml sânge sau ser sanguin, iar în a doua (proba standard) - 0,1 ml soluție standard de glucoză (5 mM/l). Conținutul eprubetelor se agită și se centrifughează la 3000 rotații/minut în decurs de 10 minute. Supernatantul

este decantat. Pentru determinarea glucozei se iau câte 0,5 ml supernatant din fiecare eprubetă, se introduc în eprubete uscate obișnuite și se adaugă câte 4,5 ml reactiv o-toluidinic. Eprubetele se introduc într-o baie de apă clocotindă exact pentru 8 minute, după ce se răcesc într-un jet de apă de robinet. Probele sunt citite la fotocolorimetru contra apei (cuva - 10 mm; filtrul de lumină roșie).

*Calculul* se efectuează după formula:

$$C^{an} = \frac{C^{st} E^{an}}{E^{st}}$$

unde:  $C^{an}$  - concentrația glucozei în proba de analizat;  
 $C^{st}$  - concentrația de glucoză în proba standard (5 mM / l);  
 $E^{an}$  - densitatea optică a probei de analizat;  
 $E^{st}$  - densitatea optică a probei standard.

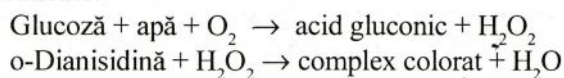
În normă cantitatea de glucoză din sânge determinată prin metoda o-toluidinică variază între 3,33 - 5,55 mM/l.

**Valoarea diagnostică.** Hiperglicemia se întâlnește la pacienții cu diabet zaharat, pancreatită acută, în cazurile de excitație a sistemului nervos central, în hiperfuncția hipofizei, glandelor suprarenale și tiroidei.

Hipoglicemia se întâlnește în hipofuncția glandelor endocrine enumerate mai sus, în hiperfuncția insulelor Langerhans, la supradozarea insulinei, în bolile de rinichi când este dereglat procesul de reabsorbție al glucozei.

**Experiența 3. Determinarea conținutului de glucoză în lichidele biologice (ser, urină, etc). Metoda enzimatică.**

**Principiul metodei.** Glucoza este oxidată enzimatic de către glucozo-oxidaza până la acid gluconic. Din reacție rezultă peroxid de hidrogen, care oxidează o-dianisidina până la un complex colorat în galben-brun. Intensitatea colorației este proporțională cu concentrația glucozei și se măsoară fotocolorimetric.



**Mod de lucru.** Dozarea propriu-zisă se efectuează conform tabelului:

Reactivi ( ml)	Proba (A <sub>1</sub> )	Etalon (A <sub>2</sub> )	Control
Ser	0,01	-	-
Sol. de glucoză	-	0,01	-
Apă distilată	-	-	0,01
Reactiv glucozic	3,00	3,00	3,00



Eprubetele se agită, apoi se introduc în baia de apă (37°C) pentru 30 minute (sau se lasă la temperatura camerei timp de o oră). După expirarea timpului se măsoară densitatea optică a probei A<sub>1</sub> și a probei etalon A<sub>2</sub> față de control (filtrul de lumină verde, cuva de 10 mm).

*Calculul:* Glucoza (mM/l) = 10 x A<sub>2</sub>/A<sub>1</sub>.

*Valorile normale:* 3,3 - 5,5 mmol/l.

### **Teme pentru autopregătire**

1. Calea pentozofosfat de degradare a glucozei.
2. Antrenarea altor glucide, în afară de glucoză, în reacția glicolitică (fructoza, galactoza, manoza).
3. Reglarea metabolismului glucidic la nivelul celulei, organelor și întregului organism.
4. Investigația funcției glicoreglatoare a organismului (hiperglicemie provocată, hiperglicemia provocată dublă și proba funcțională cu galactoză).
5. Perturbările metabolismului glucidelor: a) hiperglicemia, hipoglicemia și glucozuria; b) diabetul zaharat: dereglările metabolismului glucidic, lipidic, proteic și hidrosalin. Mecanismul de acțiune al insulinei; c) bolile moleculare legate de tulburările metabolismului glucidic (galactozemia, fructozuria, intoleranța lactozei, glicogenozele și aglicogenozele); d) dereglarea metabolismului glucidic în stările hipoxice.
6. Diabetul zaharat. Insulina – structura și mecanismele de acțiune.
7. Reglarea nivelului de glucoză în sânge.

### **Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă**

1. Scrieți ecuația stoichiometrică pentru sinteza ribozo-5-fosfatului din glucozo-6-fosfat fără generarea simultană de NADPH.
2. Scrieți ecuația stoichiometrică de sinteză a NADPH din glucozo-6-fosfat fără generarea simultană de pentoze.
3. Glucoza marcată cu C<sub>14</sub> la atomul C<sub>6</sub> a fost adăugată la o soluție, care conține enzimele și cofactorii căii pentozofosfat. Care este soarta izotopului radioactiv?
4. Care reacție a ciclului Krebs este analoagă cu reacția de decarboxilare a fosfogluconatului?
5. Care produse se acumulează în sânge și țesuturi în insuficiența de

galactokinază și galactozo-1-fosfaturidiltransferază în cele două tablouri clinice de galactozemie?

6. Mecanismul de acțiune al insulinei (indicați răspunsul corect): a) stimulează procesul de transport activ al glucozei și aminoacizilor în țesuturi; b) exercită acțiune activatoare asupra sintetazei acizilor grași; c) inhibă enzimele gluconeogenezei; d) intensifică glicogenoliza în ficat; e) intensifică lipoliza.

7. Care din enzimele enumerate mai jos sunt activate sau inhibitate de insulină: a) hexokinaza; b) glucokinaza; c) fosfofructokinaza; d) glicogensintetaza; e) glicogenfosforilaza; f) piruvatcarboxilaza.

8. Acțiunea cărora dintre hormonii enumerați este îndreptată spre creșterea conținutului de glucoză în sânge: a) glucagonului; b) insulinei; c) adrenalinei; d) adrenocorticotropinei; e) hidrocortizonului?

9. Pentru boala ereditară de depozitare a glicogenului – afecțiunea von Hirke – este caracteristic: a) conținut redus de glucoză în sânge după 6 ore de inaniție; b) depozitare exagerată de glicogen în ficat; c) activitate înaltă a glucozo-6-fosfatazei hepatice; d) creșterea nivelului de acid lactic în sânge; e) hipolipemie.

## **TEMA 16**

### **Colocviu la teme:**

#### **Metabolismul general. Chimia și metabolismul glucidelor**