

CAPITOLUL V

Chimia și metabolismul lipidelor

Se numesc lipide substanțele organice insolubile sau puțin solubile în apă, dar solubile în solvenți nepolari: eter, cloroform, benzen etc. Acest grup include numeroase și variate substanțe cu funcții importante în organismul viu, inclusiv în cel uman. Ele sunt elemente structurale ale membranelor biologice și determină permeabilitatea lor, contribuie la comunicarea și adeziunea intercelulară, participă la generarea și transmiterea impulsului nervos. Acilgliceridele țesutului adipos reprezintă forma majoră de depozitare a combustibilului biologic. La degradarea unui gram de lipide se obțin 9,3 kcal (mai mult decât la oxidarea unei cantități echivalente de glucide sau proteine). Hormonii, vitaminele și substanțele biologic active de natură lipidică reglează procesele metabolice și fiziologice. Datorită proprietăților sale fizico-chimice, lipidele asigură hidro-, termo- și electroprotecția organismelor vii.

Lipidele se clasifică în dependență de structura chimică, proprietățile fizico-chimice și rolul lor. După structură, deosebim monomeri lipidici (aldehide, cetone, alcooli, aminoalcooli superiori, izoprenoizi și derivații lor, acizi grași) și lipide policomponente, care la rândul lor se divid în simple și compuse. Lipidele policomponente simple sunt esterii alcoolilor și acizilor grași (cerurile, acilgliceridele). În componența celor compuse distingem și alte substanțe: acid fosforic (fosfogliceridele), sfingozina (sfingolipide), mono- și oligozaharide (glicolipide).

În organism lipidele se găsesc în trei forme: a) lipidele structurale sau protoplasmice care sunt părți componente ale membranelor biologice; b) lipidele de rezervă depozitate în țesutul adipos și care constituie o importantă sursă energetică; c) lipidele plasmice – forma de transport a lipidelor.

Necesarul zilnic de lipide este în medie de 80 g, incluzând grăsimi atât de origine animală, cât și vegetală. Lipidele alimentare sunt sursa vitaminelor liposolubile (A, D, E, K) și a acizilor grași indispensabili – linolic și lino-lenic.

Digestia și absorbția lipidelor alimentare este un proces complex, ce decurge în intestinul subțire și care necesită prezența bilei, sucului pancreatic și a enzimelor lipolitice. Acizii biliari, compușii majori ai bilei, contribuie

la emulsionarea lipidelor alimentare, activizarea enzimelor lipolitice și absorbția produselor finale ale digestiei. Bicarbonații sucului pancreatic crează pH-ul optim enzimelor lipolitice. Principalele enzime lipolitice sunt lipaza, fosfolipazele, colesterolesteraza, sfingomielinaza și ceramidaza. Produsele finale ale digestiei lipidelor alimentare sunt absorbite prin difuzie simplă și difuzie sau pinocitoză micelară.

Din substanțele, ce se absorb din lumenul intestinului în enterocite, se resintetizează lipide specifice organismului omului, transportate spre alte țesuturi și organe ce le utilizează.

Metabolismul intermediar al lipidelor include un număr considerabil de căi catabolice și anabolice. Degradarea lipidelor policomponente constă în formarea unei cantități semnificative de acizi grași. β -oxidarea lor are loc în matricea mitocondrială și duce la formarea acetyl-CoA, $FADH_2$ și $NADH \cdot H^+$. Oxidarea lor ulterioară în ciclul Krebs și lanțul respirator este cuplată cu degajarea energiei și biosinteza ATP-ului. Numărul moleculelor de ATP sintetizate este proporțional lungimii catenei hidrocarbonice a acidului gras și este semnificativ mai mare decât în cazul oxidării monozaharidelor sau aminoacizilor.

Biosinteza majorității claselor de lipide necesită formarea în prealabil a acizilor grași. Ea are loc în citozol din acetyl-CoA cu participarea $NADPH \cdot H^+$. Sursele de $NADPH \cdot H^+$ sunt ciclul pentozofosfaților de oxidare a glucozei și sistemul navetă citrat de transfer a acetyl-CoA. Acetyl-CoA și $NADPH \cdot H^+$ sunt de asemenea necesare pentru biosinteza colesterolului și derivaților lui (acizilor biliari, vitaminei D, hormonilor steroizi). În condiții fiziologice o cantitate neînsemnată de acetyl-CoA este folosită în ficat pentru biosinteza corpilor cetonici - acetonei, acizilor acetoacetic și α -hidroxibutiric, concentrația sanguină a cărora este mică și constantă. Dacă se acumulează cantități importante de acetyl-CoA, se intensifică biosinteza corpilor cetonici și ca urmare crește concentrația lor sanguină (cetonemie). De asemenea, ei încep să se elimine cu urina (cetonurie).

Dereglările metabolismului lipidic se manifestă prin modificări cantitative și calitative ale lipidelor sanguine – hiperlipemii sau ale țesuturilor – lipidoze tisulare. Deosebim hiperlipemii ereditare sau primare și secundare, ce însoțesc alte afecțiuni (diabetul zaharat, alcoolismul etc.). Cele mai frecvent întâlnite lipidoze tisulare sunt obezitatea, ateroscleroza și litiaza biliară.

TEMA 17

Lipidele – clasificarea, structura, proprietățile fizico-chimice, rolul biologic

Experiența 1. Determinarea conținutului lipidelor totale în serul sanguin.

Lipidele totale includ: triacilglicerolii, acizii grași liberi, fosfolipidele, colesterolul, lipoproteidele.

a) *Cu reactivul fosfovanilinic.*

Principiul metodei. Lipidele serului sanguin sunt hidrolizate cu ajutorul acidului sulfuric concentrat. Producția degradării lipidelor interacționează cu reactivul fosfovanilinic, constituit din vanilină și acid fosforic, formând un compus de culoare roșie. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea lipidelor din serul sanguin.

Mod de lucru. Determinarea lipidelor se efectuează conform tabelului:

Reactivi	Proba	Etalon	Soluția de comparație
Ser sanguin (ml)	0,02	-	-
Soluție etalon (ml)	-	0,02	-
H ₂ SO ₄ concentrat (ml)	1,50	1,50	1,50
Hidrolizat (ml)	0,1	0,1	0,1
Reactiv fosfovanilinic (ml)	1,50	1,50	1,50

Eprubetele se fierb 15 minute în baia de apă în clocot (are loc hidroliza lipidelor), ulterior se răcesc. În trei eprubete uscate se trec câte 0,1 ml hidrolizat și se adaugă câte 1,5 ml reactiv fosfovanilinic (vezi tabelul). Conținutul eprubetelor se amestecă și peste 40-50 minute se măsoară densitatea optică a probei și etalonului față de soluția de comparație (FEC, filtrul de lumină verde, cuva de 10 mm).

Conținutul lipidelor X (g/l) se determină după formula: $X = A/B \cdot 8$,

unde: A – densitatea optică a probei;

B – densitatea optică a etalonului;

8 – concentrația lipidelor în etalon (g/l).

Reactiv fosfovanilinic (acid fosforic 11,8 M, vanilină 13 mM).

Prepararea reactivului fosfovanilinic: se dizolvă 0,495 vanilină în 50 ml de apă, se adaugă 170 ml acid fosforic (d = 1,7) și se completează la 250 ml cu apă. Se amestecă bine.

b) *Prin metoda nefelometrică.*

Principiul metodei. Lipidele extrase cu amestec etanol-eter (3:1) interacționează cu acidul sulfuric și formează o emulsie, densitatea optică a căreia este proporțională cantității lipidelor și se măsoară fotoelectrocolorimetric (nefelometric).

Mod de lucru. În eprubetă se introduc 0,2 ml ser sanguin și 3,8 ml amestec etanol-eter. Eprubeta se agită, se introduce în baia de apă la temperatura de 50-70°C și se lasă pînă conținutul ei începe să fiarbă. După răcire soluția se filtrează în eprubete cotate (4 ml). Volumul filtratului se completează cu amestec etanol-eter pînă la 4 ml. În altă eprubetă se trec 2 ml de extract obținut (corespunde la 0,1 ml ser sanguin) și se adaugă 10 ml soluție de acid sulfuric de 1%. Proba se introduce în baia de apă în clocot pentru 1 minut, apoi se răcește și peste o oră se măsoară densitatea optică la FEC (filtrul de lumină roșie, cuva de 10 mm) față de soluția martor (2 ml amestec etanol-eter și 10 ml soluție acid sulfuric de 1%).

Calculul se efectuează după curba-etalon.

Valorile normale constituie 4-8 g/l.

Importanța clinică. Conținutul lipidelor în serul sanguin se majorează (hiperlipemie) în diabet zaharat, nefroze, ciroza biliară, obezitate, ateroscleroză etc. Hiperlipemie fiziologică se constată peste 1-4 ore după luarea mesei (hiperlipemie postprandială).

Experiența 2. Determinarea conținutului triacilglicerolilor în serul sanguin.

Principiul metodei. Triacilglicerolii, saponificîndu-se cu KOH, eliberează glicerolul, care este oxidat pînă la formaldehidă. Aceasta interacționează cu acetilacetona, formînd un compus de culoare verde-galbenă. Intensitatea colorației este proporțională cantității TAG și se măsoară fotoelectrocolorimetric.

Mod de lucru. Experiența se efectuează conform schemei în eprubetele de centrifugare.

Reactivi (ml)	Proba (ml)	Etalon (ml)	Martor (ml)
Apă distilată	-	-	0,1
Soluție etalon	-	0,1	-
Ser sanguin	0,1	-	-
Izopropanol	4,0	4,0	4,0

Eprubetele se agită și în fiecare se introduce cu o linguriță gradată câte 0,4 mg de absorbant. Eprubetele se agită timp de 10-15 minute și se centrifughează 5 minute la 3000 turații/minut. În alte eprubete uscate se introduc:

Supernatant (ml)	2,0	2,0	2,0
Soluție de KOH (ml)	0,5	0,5	0,5

Eprubetele se agită, apoi se închid cu dopuri și se incubează 10 minute în baia de apă la 60°C. După incubare, eprubetele se răcesc și în fiecare se adaugă câte 0,5 ml soluție oxidantă. Soluțiile se amestecă și se lasă 10 minute la temperatura camerei. Ulterior, în fiecare eprubetă se adaugă câte 0,5 ml soluție de acetilacetonă, conținutul se amestecă și eprubetele se pun la incubare în baia de apă pe 30 minute la 60°C. După răcire, se măsoară densitatea optică a probei de experiență și probei etalon față de martor în cuve de 10 mm (filtrul de lumină violetă).

Calcularea conținutului de triacilgliceroli se face după formula:

$$C_{\bar{o}} = \frac{E_{\text{exp.}} \cdot C_{\text{st}}}{E_{\text{st}}}, \quad \text{unde } C_{\text{st.}} = 3,39 \text{ mM/l.}$$

Valorile normale constituie 0,4-1,86 mM/l.

Importanța clinică. Conținutul triacilglicerolilor în serul sanguin se mărește în diabetul zaharat, nefroze, hipotiroidism, afecțiuni hepatice. Scăderea conținutului se constată în hipertiroidism.

Notă: În fiecare grupă se vor efectua câte 2 probe etalon și martor.

Teme pentru autopregătire

1. Funcțiile biologice ale lipidelor.
2. Clasificarea lipidelor (structurală, funcțională, după proprietățile fizico-chimice).
3. Lipidele de rezervă. Reprezentanții, structura, proprietățile fizico-chimice, rolul biologic.
4. Lipidele protoplasmatică – fosfogliceridele, sfingolipidele, glicolipidele, colesterolul – structura, proprietățile fizico-chimice, rolul biologic.
5. Lipidele sanguine. Lipoproteidele plasmei. Tipurile, compoziția chimică (lipidele și apoproteidele), rolul biologic.
6. Eicosanoizii – prostaglandinele, leucotrienele, tromboxanii – structura și rolul biologic.

7. Vitaminele liposolubile – A,D,E, K – structura și rolul biologic.
8. Membranele biologice.
 - Funcțiile.
 - Structura – modelul S.G.Sanger și G.L.Nicolson.
 - Proprietățile fundamentale – fluiditatea, motilitatea, permeabilitatea selectivă, asimetria, autoasamblarea și autorepararea.
 - Diversitatea și specificitatea structurilor și funcțiilor diferitor membrane biologice.

Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. Care acizi grași se întâlnesc cel mai frecvent în țesutul adipos uman? Scrieți structura lor. Cărei clase de acizi grași aparține fiecare? Ce proprietăți fizico-chimice posedă? Ce proprietăți conferă lipidelor din componența cărora fac parte?
2. Cantitatea căror lipide – de rezervă sau protoplasmatică: a) variază în limite mari; b) este practic constantă în organismul uman? Explicați, de ce.
3. De ce lipidele sunt sursa energetică principală în organismul omului?
4. Scrieți formulele următoarelor lipide și indicați grupele hidrofobe și hidrofile din componența lor. Care din ele posedă sarcină?
 - a) Fosfatidilcolinele;
 - b) Fosfatidiletanolaminele;
 - c) Fosfatidilserinele;
 - d) Sfingomielinele;
 - e) Cerebrozidele;
 - f) Ganglioizidele;
 - g) Colesterolul.
5. Între lipidele și proteinele membranelor biologice se formează preponderent legături:
 - a) hidrofobe; b) de hidrogen; c) covalente; d) ionice; e) eterice și esterice.
6. Membranele căror organite celulare sunt formate dintr-un singur strat de lipide? Cum se reflectă această particularitate structurală asupra proprietăților lor?
7. Care sunt deosebirile dintre membranele citoplasmatică ale unei celule normale și ale unei celule canceroase?

TEMA 18

Digestia și absorbția lipidelor în tractul gastrointestinal. Catabolismul tisular al lipidelor

Experiența 1. Acțiunea fosfolipazelor pancreatice.

Principiul metodei. Fosfolipazele pancreatice scindează fosfolipidele alimentare pînă la acizi grași, glicerol, acid fosforic și substanțe azotate. Acțiunea lor poate fi apreciată după apariția acidului fosforic liber ce se identifică prin reacția molibdenică (acidul fosforic la încălzirea cu molibdatul de amoniu formează precipitatul galben de fosfomolibdat de amoniu).

Mod de lucru. În două eprubete se introduc cîte 5 picături de suspensie de gălbenuș de ou. În prima se adaugă 2 picături de soluție de pancreatină, iar în a doua (martor) - 2 picături de apă. Eprubetele se incubează la 38°C timp de 30 minute. După incubare, în ambele eprubete se introduc cîte 5 picături de reactiv molibdenic. Eprubetele se încălzesc la flacără, după ce se răcesc. Observăm apariția precipitatului de culoare galbenă.

Experiența 2. Acțiunea bilei asupra activității lipazei.

Principiul metodei. Viteza acțiunii lipazei poate fi apreciată după cantitatea acizilor grași ce se formează la hidroliza lipidelor laptelui sub influența acestei enzime. Cantitatea acizilor grași se determină prin titrare cu bază în prezența fenolftaleinei. Bila activează lipaza pancreatică și hidroliza grăsimii se accelerează. Activitatea lipazei se exprimă în ml soluție de NaOH 0,05N consumate la titrare și poate fi reprezentată grafic, notînd pe ordonată cantitatea de NaOH (ml) consumat, iar pe abscisă - timpul (min).

Mod de lucru. În două baloane se iau cîte 100 ml lapte și cîte 10 ml soluție de pancreatină de 5%. În primul balon se adaugă 10 ml bilă, iar în al doilea - 10 ml apă. Conținutul se amestecă. Din fiecare balon se trec în eprubete cîte un ml de amestec și se adaugă 1-2 picături de fenolftaleină de 0,5%. Conținutul eprubetelor se titrează cu soluție de NaOH de 0,05 N pînă la apariția culorii roze. Baloanele cu amestecurile rămase se pun în baia de apă la 38°C.

Titrarea se va repeta de 4-5 ori cu interval de 10 minute, folosindu-se eșantioane noi de amestecuri din ambele baloane.

Notă: Fiecare grupă folosește aceleași 2 baloane cu amestecuri inițiale.

Experiența 3. Identificarea acizilor biliari. Reacția Petencofer.

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

Mod de lucru. Într-o eprubetă uscată se introduc 2 picături de bilă și 2 picături de zaharoză de 20%. Conținutul eprubetei se agită. Se adaugă 5-6 picături de acid sulfuric concentrat. Peste 2-3 minute conținutul eprubetei se colorează în roșu-violet.

Teme pentru autopregătire

1. Importanța lipidelor în alimentație.
2. Digestia și absorbția lipidelor în tractul gastrointestinal.
3. Acizii biliari – clasificarea, structura, funcțiile. Metabolismul acizilor biliari (noțiuni generale).
4. Resinteza lipidelor în enterocite. Soarta lipidelor resintetizate. Metabolismul LPP.
5. Catabolismul triacilglicerolilor – reacțiile parțiale, enzimele, reglarea.
6. Oxidarea glicerolului – reacțiile parțiale, enzimele, coenzimele, reglarea, randamentul energetic al oxidării anaerobe și aerobe.
7. Oxidarea acizilor grași:
 - saturați cu număr par de atomi de carbon;
 - nesaturați cu număr par de atomi de carbon;
 - saturați cu număr impar de atomi de carbon;
 - în peroxizomi.Reacțiile parțiale, enzimele, coenzimele, reglarea, randamentul energetic.
8. Oxidarea fosfo-, sfingo- și glicolipidelor.
9. Metabolismul corpurilor cetonic. Căile biosintezei și utilizării lor – reacțiile parțiale, enzimele, coenzimele, reglarea. Rolul biologic al corpurilor cetonic.

Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. Comparați numărul moleculelor de ATP ce se formează la oxidarea completă (până la CO_2 și apă) a unei molecule de acid capronic și a unei molecule de glucoză. Ce concluzie puteți trage?
2. Primele trei reacții ale ciclului β -oxidării acizilor grași amintesc o succesiune de reacții ale ciclului Krebs. Scrieți ambele succesiuni.

3. Câte molecule de ATP se formează la oxidarea completă (până la CO_2 și apă) a unei molecule de palmitooleomargarianat (C_{16} , $\text{C}_{18}^{9,10}$, C_{17})? Explicați.

4. Câte molecule de ATP se formează la oxidarea completă (până la CO_2 și apă) a unei molecule de acid α -hidroxibutiric?

5. Scrieți reacția stoichiometrică a transformării glicerolului în acid piruvic. Ce enzime sunt necesare, cu excepția celor glicolitice?

6. Cum se reflectă lipsa glucidelor în rația alimentară asupra utilizării lipidelor în calitate de sursă energetică?

7. Numiți și scrieți structura acizilor grași indispensabili. Care sunt principalele surse alimentare de acizi grași indispensabili?

8. Presupunem că o mutație în promotor induce sinteza proteinkinazei AMPc dependente în adipocite. Cum se va modifica metabolismul lipidelor în ele?

9. Chilomicronii se formează:

- în duoden și conțin lipide legate covalent de proteine;
- în celule hepatice specializate și conțin colesterol și proteine;
- în sânge din LPP circulante și conțin cca 60% trigliceride;
- în celulele epitelului intestinului și conțin cca 85% trigliceride.

10. Care din afirmațiile de mai jos nu caracterizează lipoproteinlipaza?

- este localizată în membrana celulelor endoteliale;
- posedă activitate fosfolipazică;
- este activată de fosfolipide și apolipoproteina C-II;
- hidrolizează restul acidului gras din poziția II a glicerolului;
- lipsește sau cantitatea ei este micșorată în hiperlipidemia de tip I.

TEMA 19

Biosinteza lipidelor

Experiența 1. Dozarea colesterolului în serul sanguin.

a) *Cu anhidrida acetică.*

Principiul reacției. Colesterolul reacționează cu anhidrida acetică în prezența acidului sulfuric concentrat (amestecul se numește reactivul nr. 1), rezultând o colorație verde.

Mod de lucru. Într-o eprubetă uscată se introduce 0,1 ml ser sanguin. Cu un *cilindru uscat* se măsoară 2,1 ml reactiv nr. 1 și repede (*foarte*

atent) se toarnă în eprubeta cu ser. Conținutul eprubetei se agită (**atent!**) de 10-15 ori și se lasă la temperatura camerei 20 minute până la apariția culorii verzi. După incubare, soluția se fotocolorimetrează în cuve **uscate** (5 mm) față de apă (filtrul roșu).

- Notă:** 1. Calculul se efectuează după curba etalon.
2. Experiența se va efectua numai în prezența profesorului.

Valorile normale: 2,97-8,97 mM/l

b) *Cu clorura de fier.*

Principiul metodei. Metoda se bazează pe reacția Salkowski. Colesterolul interacționând cu clorura de fier în mediul acid dă o colorație roșie-purpurie.

Mod de lucru. Experiența se efectuează conform schemei.

Reactivi (ml)	Proba	Standard	Etalon
Ser sanguin	0,1	-	-
Standard de colesterol	-	0,1	-
Soluție acetică de clorură fierică	4,0	4,0	-

Amestecul se agită și se lasă la temperatura camerei timp de 30 minute. Supernatantul se transferă în eprubete obișnuite :

Supernatant (ml)	3,0	3,0	-
Sol.acetică de clorură de fier	-	-	3,0
H ₂ SO ₄ (conc.)	2,0	2,0	2,0

$$\text{Formula de calcul: } C \text{ (mg/100ml)} = \frac{E_{\text{probei}}}{E_{\text{standard}}} \times 250.$$

Valorile normale: 200-260 mg/100ml.

Importanța clinică. Majorarea conținutului de colesterol în serul sanguin (hipercolesterolemia) se constată în ateroscleroză, diabet zaharat, nefroze, nefrite, icter obturativ etc. Scăderea conținutului (hipocolesterolemia) are loc în anemii, tuberculoză, inaniție, hipertiroidism, icter hepatic etc.

Experiența 2. Identificarea vitaminelor liposolubile în lichidele biologice.

a) *Vitamina A.*

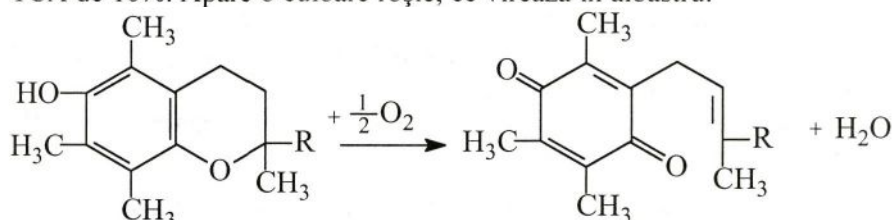
Principiul reacției. Vitamina A dă cu acidul tricloracetic o colorație galbenă care virează în albastru.

Mod de lucru. Într-o eprubetă se iau 0,5 ml soluție uleioasă de vitamina A și 1 ml soluție TCA de 30%. Apare o culoare galbenă care virează în albastru.

b) *Vitamina D.*

Principiul reacției. Vitamina D formează cu acidul tricloracetic o culoare roșie ce virează în albastru-deschis (reacția Rosenheim).

Mod de lucru. Într-o eprubetă se ia 1 ml soluție de vitamina D și 1 ml TCA de 10%. Apare o culoare roșie, ce virează în albastru.



c) *Vitamina E.*

Principiul reacției. Vitamina E este oxidată de acidul azotic, rezultând un compus cu structură parachinonică de culoare roșie (vezi schema reacției de mai sus).

Mod de lucru. Într-o eprubetă se ia 1 ml soluție uleioasă de vitamina E și 7-8 picături de HNO₃. Amestecul se încălzește cu atenție pe baia de apă 1-2 minute. Apare o culoare roșie.

Importanța clinico-diagnostică. Practic nu se întâlnesc hipervitaminoze A, D sau E. Hipovitaminoza A se manifestă la nivelul ochilor prin nictalopie și heteralopie; xerofthalmie și keratomalacie; la nivelul pielii prin hiperkeratoză și frenodermie; la nivelul aparatului genital și de reproducere prin atrofia organelor și sterilitate. Hipovitaminoza D provoacă la copii rahitismul și la maturi osteomalacie. Hipovitaminoza E determină amplificarea patologică a proceselor de oxidare a lipidelor.

Teme pentru autopregătire

1. Biosinteza acizilor grași:

- saturați cu număr par de atomi de carbon;
- nesaturați cu număr par de atomi de carbon;
- saturați cu număr impar de atomi de carbon.

Enzimele, coenzimele, reglarea.

2. Biosinteza acilgliceridelor: substanțele inițiale, enzimele și coenzimele, reglarea.

3. Biosinteza fosfogliceridelor: substratele, reacțiile parțiale ale căilor I și II; enzimele și coenzimele, reglarea. Substanțele lipotrope, rolul lor.

4. Biosinteza sfingo- și glicolipidelor: precursorii, reacțiile principale, enzimele, reglarea.

5. Metabolismul colesterolului. Biosinteza colesterolului – substratele, etapele, reacțiile parțiale ale primei etape (până la acidul mevalonic), enzimele, coenzimele, reglarea. Căile de utilizare și eliminare a colesterolului.

6. Metabolismul eicosanoizilor. Căile ciclooxigenazică și lipooxigenazică de biosinteză a acestora. Inactivarea.

7. Metabolismul vitaminelor liposolubile: sursele alimentare, necesitățile diurne, transformările în organism.

Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. Comparați următoarele trăsături ale oxidării și biosintezei acizilor grași:

- a) localizarea procesului;
- b) transportul resturilor "acil" prin membrana mitocondrială;
- c) agenții oxidanți și reducători;
- d) organizarea complexelor polienzimatice.

2. Indicați principalele două procese ce furnizează $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$ necesar pentru biosinteza acizilor grași. Scrieți reacțiile în care nemijlocit se formează $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$.

3. Scrieți succesiunea reacțiilor formării acidului arahidonic în organism. Care este rolul biologic al acestui acid?

4. De ce etanolul se poate transforma în lipide, iar în glucide – nu? Sinteza căror lipide este stimulată în cazul consumului abuziv de etanol? Scrieți schematic reacțiile transformării etanolului în acizi grași.

5. Care sunt deosebirile metabolismului colesterolului la vegetarieni și la persoanele ce consumă și produse de origine animală? Care sunt cauzele acestor deosebiri?

6. Colesterolul este precursorul următoarelor substanțe:

- a) acidului chenodezoxicolic;
- b) 1,25-dihidroxicolecalciferolului;
- c) testosteronului;
- d) acidului glicocolic;

- e) colecistokininei.
7. 1,25-dihidroxicolecalciferolul se formează:
- a) în piele din 7-dihidrocolesterol sub acțiunea razelor UV;
 - b) în ficat din colecalciferol;
 - c) în rinichi din 25-hidroxicolecalciferol;
 - d) în intestin din vit.D;
 - e) nu se sintetizează în organismele mamiferelor.
8. Numiți substanța activată în cazul biosintezei:
- a) fosfatidilserinelor din serină;
 - b) fosfatidiletanolaminelor din etanolamină;
 - c) ceramidelor din sfingozină;
 - d) sfingomielinelor din ceramide;
 - e) cerebrozidelor din ceramide.
9. Care din acizii grași enumerați mai jos sunt precursori ai prostaglandinelor în organismul uman:
- a) acidul linoleic;
 - b) acidul linolenic;
 - c) acidul $\Delta 5,8,11$ -eicozotrienoic;
 - d) acidul $\Delta 8,11,14$ -eicozotrienoic.

TEMA 20

Reglarea și patologia metabolismului lipidic

Experiența 1. Determinarea conținutului total de fosfolipide în serul sanguin.

Principiul metodei. Fosfolipidele serului se precipită cu acidul tricloracetic. În precipitatul obținut se determină fotocolorimetric conținutul fosforului. Înmulțind cantitatea fosfatului lipidic cu 25 se calculează cantitatea totală de fosfolipide.

Mod de lucru. Într-o eprubetă conică (*proba experimentală*) se introduc 3 ml apă distilată și 0,2 ml ser sanguin. Se adaugă **foarte atent cu picătura** 3 ml soluție de acid tricloracetic de 10 %, agitând permanent eprubeta. Peste 2 minute soluția se centrifughează 2 minute la 3000 turații/min. Supernatantul se varsă, eprubeta se întoarce cu fundul în sus pe o hârtie de filtru până se va scurge tot lichidul. Marginea eprubetei se usucă cu hârtie de filtru.

La sediment se adaugă 1 ml soluție HClO₄ de 42% și câteva mărgelile de sticlă pentru fierberea uniformă. Eprubeta se pune pe baia de apă în clocot pe 20 -30 minute, apoi se răcește și se adaugă 5 ml apă.

Proba standard. Într-o eprubetă obișnuită se introduc 0,8 ml soluție de HClO₄ de 42% și 2 ml soluție standard de fosfat. Volumul eprubetei se completează cu apă pînă la 5 ml.

Proba martor. Într-o eprubetă obișnuită se introduc 0,8 ml soluție de HClO₄ de 42% și 5,2 ml de apă.

În fiecare eprubetă (de experiență, standard și martor) se introduc cîte 1 ml soluție de acid ascorbic de 1%. Volumul fiecărei soluții se completează pînă la 10 ml cu apă distilată. Conținutul eprubetelor se agită.

Peste 5 minute probele de experiență și standard se fotocolorimetrează față de martor (filtrul de lumină roșie, cuvele de 10 mm).

Notă: În fiecare grupă se vor efectua cîte 2 probe martor.

Calculul se efectuează după formula:

$$\text{Fosfatul lipidic} = \frac{E_{\text{exp}} \cdot 0,02 \cdot 100}{E_{\text{st}} \cdot 0,2} = \frac{E_{\text{exp}} \cdot 10}{E_{\text{st}}},$$

unde: 0,02 – cantitatea fosforului conținut în 2 ml de soluție standard.

0,2 – cantitatea serului în proba de experiență.

Pentru a reprezenta conținutul fosfatului lipidic în unități SI (mM/l) rezultatul se înmulțește cu coeficientul 0,32.

Valorile normale: 1,97 – 4,68 mM/l (6,1–15,5 mg %).

Conținutul fosfolipidelor sanguine poate fi determinat înmulțind cantitatea fosfatului lipidic cu 25. Cantitatea lor normală constituie 1,35–3,62 g/l (152 –362 mg%).

Importanța clinică. Majorarea conținutului de fosfolipide în serul sanguin se constată în diabetul zaharat, nefroze, nefrite cronice, colestază etc. În ateroscleroză, anemii, distrofiile alimentare cantitatea lor scade.

Experiența 2. Identificarea corpiilor cetonici.

Principiul metodei. Acetona și acidul acetolactic, interacționînd în mediul bazic cu nitroprusiatul de sodiu, colorează soluția în roșu-portocaliu.

Mod de lucru. Într-o eprubetă *uscată* se introduc cîte 2 picături de urină, soluție de NaOH de 10% și soluție de nitroprusiat de sodiu de 10%. Conținutul eprubetei se colorează în roșu-portocaliu.

Experiența 3. Determinarea conținutului de β -lipoproteide în serul sanguin.

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

Mod de lucru. Într-o eprubetă se introduc 2 ml soluție de clorură de calciu de 0,27% și 0,2 ml ser sanguin. Conținutul eprubetei se agită și se măsoară densitatea optică a soluției experimentale (E_1) față de soluția de CaCl_2 (cuvă – 5 mm, filtrul de lumină roșie). Soluția din cuvă se toarnă din nou în eprubetă și se adaugă 0,04 ml soluție de heparină de 1%. Conținutul eprubetei se agită și *exact* peste 4 minute se determină densitatea optică a soluției în condițiile descrise anterior (E_2).

Formula de calcul: $X \text{ (g/l)} = (E_2 - E_1) \cdot 100$, unde 100 – coeficient standard empiric.

Valorile normale: 3,0 - 4,4 g/l (300-450 mg%).

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

Teme pentru autopregătire

1. Reglarea metabolismului lipidelor la nivelul celulei.
2. Reglarea neurohormonală a metabolismului lipidelor. Rolul lipotropinelor, ACTH, hormonilor tiroizi, insulinei, glucagonului, glucocorticoizilor și catecolaminelor.
3. Relațiile reciproce dintre metabolismul energetic, glucidic și lipidic.
4. Dereglările digestiei și absorbției lipidelor. Steatoreea pancreatică, hepatică și intestinală.
5. Dislipidemiile:
 - a) hipolipoproteinemii familiale – afecțiunea Tangier, α - și β -lipoproteinemia familială;
 - b) hiperlipoproteinemii primare și familiale;
 - c) hiperlipoproteinemii secundare (dobândite) – în diabet zaharat, alcoolism, afecțiuni ale glandelor endocrine.

Cauze, mecanismele dereglării metabolismului lipidelor, manifestările biochimice.

6. Lipidozele tisulare:

a) ereditare – Neimann-Pick, Tay-Sachs, Krabbe, Gaucher, Farber, leucodistrofia metacromatică, gangliozidoza GM₁;

b) dobândite – obezitate, ateroscleroză, alcoolism.

Cauze, mecanismele dereglării metabolismului lipidelor, manifestările biochimice.

7. A-, hipo- și hipervitaminezele A, D, E, K – cauze, manifestări metabolice.

8. Rolul eicosanoizilor în procesele inflamatorii, reacțiile alergice, dereglările fluidității sanguine.

Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. În afecțiunile pancreasului însoțite de insuficiență funcțională:

a) scade digestia lipidelor din cauza micșorării pH-ului conținutului duodenal;

b) scade absorbția lipidelor din cauza creșterii pH-ului conținutului duodenal;

c) scade digestia și absorbția lipidelor din cauza micșorării secreției enzimelor lipolitice;

d) scade absorbția vitaminelor grupei B;

e) se dezvoltă steatozele pancreatice.

2. Toate afirmațiile de mai jos referitoare la hiperlipidemia de tipul II A (hipercolesterolemia familială) sunt corecte cu excepția:

a) nivelul LDL este crescut;

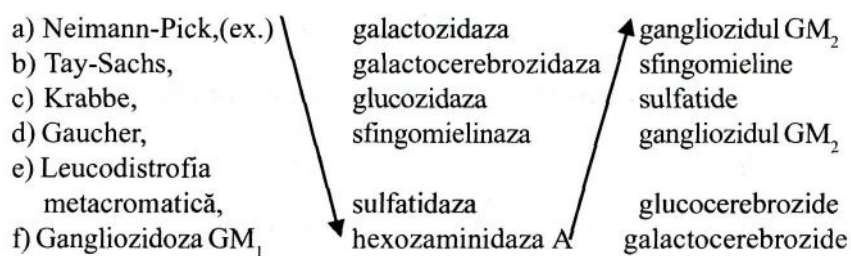
b) este condiționată de carența LDL-receptorilor în țesuturile extrahepatice;

c) este dereglată biosinteza extrahepatice a colesterolului;

d) constituie un risc sporit de afectare a arterelor coronariene;

e) este o afecțiune rară, transmisă autosomal-recesiv.

3. Indicați enzima carențială și compusul ce se acumulează în fiecare afecțiune:



4. Indicați succesiunea dereglărilor metabolismului lipidelor în organismul alcoolicii ce determină apariția steatozei hepatice.

5. Ce clasă de lipoproteide plasmatice constituie factorul de risc “pozitiv” în ateroscleroză? Numiți enzima cu rolul central în metabolismul acestor lipoproteide plasmatice. Scrieți reacția catalizată de ea.

6. Cum pot fi deosebite după hemoragiile cutanate hipovitaminozele K și C? Care sunt mecanismele apariției lor într-un caz și în altul?