

CAPITOLUL VI

Metabolismul proteinelor și nucleotidelor

Pentru a se putea include în metabolismul general, proteinele alimentare trebuie să fie supuse proceselor de digestie și de absorbție.

Digestia proteinelor alimentare are loc la diferite nivele ale tractului gastro-intestinal sub acțiunea enzimelor proteolitice: pepsinei, tripsinei, chimotripsinei, carboxipeptidazelor, aminopeptidazelor și dipeptidazelor. În urma acțiunii exercitate de către exo- și endopeptidaze, macromoleculele proteinelor alimentare sunt scindate pînă la aminoacizi.

Absorbția proteinelor are loc sub forma aminoacizilor corespunzători sau eventual sub formă de dipeptide sau peptide cu masa moleculară mică. Pe cale portală, aminoacizii ajung la ficat de unde pe cale sanguină sunt repartizați în diferite organe și țesuturi. Transportul aminoacizilor prin membrane este un proces activ.

Metabolismul intermediar al aminoacizilor se realizează prin mecanisme generale de degradare și biosinteză, comune tuturor aminoacizilor, dar și pe căi particulare, proprii fiecărui aminoacid în parte. Principalele mecanisme generale de degradare a aminoacizilor sunt dezaminarea, transaminarea și decarboxilarea.

Dezaminarea conduce la eliberarea amoniacului. În organismele animale se întâlnește practic numai dezaminarea oxidativă, care conduce la formarea unui cetoacid. În țesuturi se desfășoară cu mare intensitate dezaminarea oxidativă a acidului glutamic sub acțiunea catalitică a glutamatdehidrogenazei, enzimă care are drept cofactor NAD. Acidul glutamic poate regenera prin dezaminare oxidativă acidul α -cetoglutamic, care devine apt să accepte grupările amino de la majoritatea aminoacizilor. Din această cauză acidul glutamic este colectorul universal al grupărilor amino.

Acidul piruvic sau acidul oxalilacetic, precum și alți α -cetoacizi, pot funcționa drept acceptori de grupări amino atunci cînd se transformă în alanină și respectiv în acid aspartic. Acest proces poartă denumirea de transaminare. Reacțiile de transaminare sunt catalizate de enzime specifice cum sunt aspartataminotransferaza (AST) și alaninaminotransferaza (ALT). Ele au drept coenzimă piridoxalfosfatul.

Decarboxilarea are loc sub acțiunea aminoaciddecarboxilazelor, a căror coenzimă este tot piridoxalfosfatul. Decarboxilarea este mai puțin o cale de degradare a aminoacizilor și mai mult o cale de biosinteză a unor amine cu acțiune biologică marcată, denumite și amine biogene, așa ca histamina, triptamina, serotonina, tiramina etc.

Deci, din dezaminarea directă sau din transaminarea cuplată rezultă amoniac și un cetoacid. Cetoacizii rezultați pot lua căi variate de transformare: a) pot fi antrenați în procese de aminare, ajungându-se la biosinteza de aminoacizi; b) se pot transforma în intermediarii ciclului Krebs și, deci, pot fi oxidați pînă la CO_2 și H_2O .

Amoniacul, provenit din metabolismul aminoacizilor, este convertit într-un compus puțin toxic, glutamina care reprezintă forma sa de transport.

Din amoniacul provenit din aminoacizi și glutamină, și din dioxid de carbon în ficat, printr-un proces care decurge în mai multe etape, se sintetizează ureea (ciclul Krebs - Henseleit).

Numeroși aminoacizi prezintă și căi particulare de metabolizare cînd se formează intermediari, dotați ei înșiși cu remarcabilă activitate biologică.

În cadrul metabolismului intermediar, sub acțiunea nucleazelor, acizii nucleici sunt degradați pînă la mononucleotide. În continuare nucleotidele purinice sunt hidrolizate pînă la eliberarea acidului fosforic, a pentozei, adeninei sau guaninei. La om produsul final de catabolism al bazelor purinice este acidul uric. Perturbări ale catabolismului purinic, însoțit de creșterea concentrației acidului uric sanguin, se întîlnesc în boala numită gută.

Bazele pirimidinice sunt catabolizate prin mecanisme specifice, formîndu-se NH_3 , CO_2 și β -aminoacizi, care la rîndul lor se supun degradării.

Biosinteza nucleotidelor purinice are loc pornindu-se de la precursori simpli: glutamina, acidul aspartic, glicocolul, dioxidul de carbon, grupările formil, ribozo-5-fosfat. Precursorii biosintezei nucleotidelor pirimidinice sunt carbamoilfosfatul, acidul aspartic și 5-fosforibozil-1-pirofosfatul.

TEMA 21

Metabolismul proteinelor simple. Digestia și absorbția proteinelor. Putrefacția proteinelor în intestin

Experiența 1. *Determinarea acidității sucului gastric.*

Principiul metodei. Aciditatea totală a sucului gastric este constituită din HCl liber, HCl fixat, fosfați acizi și acizi organici (ultimele două componente pot fi asociate sub termenul de alte substanțe acidoreagente). HCl total este suma HCl liber și HCl fixat. Alte substanțe acidoreagente constituie diferența dintre aciditatea totală și HCl total.

Aciditatea sucului gastric se determină prin metoda titrării cu bază și se măsoară în cantitatea de ml soluție de NaOH de 0,1 N consumată la neutralizarea a 1000 ml de suc gastric în prezența indicatorilor: la determinarea acidității totale – fenolftaleinei, HCl liber – dimetilaminoazobenzenului, HCl fixat – hidrogensulfonatalizarinei de sodiu.

În normă la adult aciditatea totală constituie 40-60 unități de titrare; HCl liber – 20-40 ; HCl fixat – 10-12; celelalte substanțe acidoreagente - 2-5.

Mod de lucru:

1. *Determinarea HCl liber.*

Într-un balon de titrare se iau 5 ml suc gastric, se adaugă o picătură soluție de dimetilaminoazobenzen de 0,5% și se titrează din biuretă cu soluție de NaOH de 0,1 N pînă la apariția culorii oranj. Se face calculul.

2. *Determinarea acidității totale.*

Într-un balon de titrare se iau 5 ml de suc gastric, se adaugă o picătură soluție de fenolftaleină de 0,5% și se titrează din biuretă cu soluție de NaOH de 0,1 N pînă la apariția culorii roz. Se face calculul.

3. *Determinarea tuturor tipurilor de aciditate într-o singură porție de suc gastric (Metoda Mihaelis).*

Într-un balon de titrare se iau 5 ml de suc gastric, se adaugă o picătură soluție de fenolftaleină de 0,5% și o picătură soluție de dimetilaminoazobenzen de 0,5%. Se notează nivelul bazei în biuretă și se titrează, agitînd permanent. Se notează nivelul bazei la trecerea culorii roșii inițiale în portocalie (punctul A care corespunde HCl liber), nivelul bazei la apariția culorii galben-deschisă (punctul B, care servește la determinarea HCl total) și nivelul bazei la apariția culorii roz (punctul C, care corespunde acidității totale). În punctele

B și C nivelurile bazei sunt citite de la nivelul inițial. Se face calculul tuturor tipurilor de aciditate ținând cont de faptul că media aritmetică a punctelor B și C corespunde HCl total.

Importanța diagnostică. În afecțiunile stomacului, aciditatea poate fi nulă (suc anacid), ridicată (suc hiperacid), scăzută (suc hipoacid). Sucul hiperacid se constată în boala ulceroasă a stomacului și gastrita hiperacidă; suc hipoacid – în gastrita hipoacidă sau cancerul stomacal; suc anacid (absența deplină a HCl și scăderea considerabilă a acidității totale) – în cancerul stomacal, gastrită cronică, anemia pernicioasă.

Experiența 2. *Problemă de analiză a sucului gastric.*

Fiecare student primește o probă de suc gastric și determină în ea toate tipurile de aciditate (vezi experiența 1); trage o concluzie cu privire la devierea acidității și indică patologia în care se întâlnește această deviere.

Experiența 3. *Componentele patologice ale sucului gastric și identificarea lor.*

Într-o serie de afecțiuni, în suc gastric pot apărea componente patologice așa ca sângele (din cauza ulcerăției pereților stomacului), pigmentii biliari (ca urmare a antiperistaltismului), acidul lactic și alți acizi organici – acetic, butiric (în aclorhidrie în stomac decurg procesele de fermentație).

1. *Identificarea acidului lactic (reacția Uffelmann).*

Principiul reacției. Acidul lactic, în prezența fenolatului de fier (reactivul Uffelmann), formează lactatul de fier de culoare verde-gălbui.

Mod de lucru. 5 picături de suc gastric se adaugă la reactivul Uffelmann (20 picături soluție fenol de 1% + 2 picături soluție de triclorură de fier de 1%). În prezența acidului lactic culoarea violetă a lichidului trece în verde-gălbui.

Reactivul Uffelmann (fenolatul de fier – $(C_6H_5O)_3Fe$).

Preparare. La 20 picături de soluție de fenol de 1% se adaugă 2 picături de soluție de clorură de fier de 1%. Amestecul se colorează în violet.

2. *Identificarea sîngelui (reacția benzidinică).*

Principiul reacției. Proba benzidinică se bazează pe oxidarea benzidinei de către oxigenul atomic, format la descompunerea peroxidului de hidrogen de către hemoglobină, care exercită acțiune peroxidazică.

Mod de lucru. La 5 picături soluție de benzidină de 1% se adaugă 5

picături soluție de H_2O_2 de 3% și 5 picături de suc gastric. Apariția unei colorații albastre indică prezența sîngelui și reacția este considerată pozitivă.

Teme pentru autopregătire

1. Valoarea biologică a proteinelor. Bilanțul azotat. Necesarul de proteină în alimentație. Starea dinamică a proteinelor.
2. Digestia proteinelor în stomac și intestin. Secreția HCl și reglarea ei (H^+ , K^+ -ATP-aza).
3. Endo- și exopeptidazele, specificitatea de acțiune a proteinazelor.
4. Proenzimele proteinazelor și mecanismul convertirii lor în enzime active.
5. Reglarea secreției sucului gastric, pancreatic și intestinal.
6. Absorbția aminoacizilor în intestin. Fondul metabolic comun al aminoacizilor.
7. Putrefacția aminoacizilor în intestin.
8. Alimentația proteică parenterală.
9. Compoziția sucului gastric și modificările lui în patologie.
10. Principiul determinării tuturor tipurilor de aciditate a sucului gastric și identificării componentelor patologice ale sucului gastric.

Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. În ce constă specificitatea de acțiune a următoarelor proteaze: a) tripsinei; b) chimotripsinei; c) pepsinei; d) carboxipeptidazei; e) aminopeptidazei.
2. Care dintre proteinele alimentare enumerate mai jos au valoare biologică redusă: a) cazeina; b) ovalbumina; c) zeina; d) glutelina; e) gliadina?
3. Care dintre aminoacizii enumerați sunt aminoacizi neesențiali: a) fenilalanina; b) triptofanul; c) lizina; d) acidul glutamic; e) alanina?
4. Care dintre enzimele proteolitice enumerate se conțin în suc pancreatic: a) chimotripsina; b) renina; c) aminopeptidaza; d) carboxipeptidaza; e) elastaza?
5. Tripsina participă la activarea: a) tripsinogenului; b) pepsinogenului; c) chimotripsinogenului; d) procarboxipeptidazelor; e) enterokinazei?
6. Selectați afirmațiile juste. Putrefacția proteinelor: a) decurge în ficat; b) duce la formarea produșilor toxici; c) ficatul conține enzima UDP-glucuroniltransferaza; d) ficatul nu conține enzima arilsulfotransferaza; e) acizii conjugați netoxici se excretă cu masele fecale.

7. Suferindul a fost internat în legătură cu dureri în regiunea abdomenului. Investigațiile biochimice au arătat conținut mărit de indican în sînge și urină. Scrieți reacțiile de sinteză a indicanului. Ce indică creșterea conținutului de indican? De ce acest indice poate determina tactica chirurgului?

8. Proteina a fost expediată la laborator ca obiect de studiu al valorii ei biologice în alimentație. Prin ce metode de investigație poate fi rezolvată această problemă?

TEMA 22

Metabolismul intermediar al aminoacizilor în țesuturi.

Produsele finale ale metabolismului azotat.

Experiența 1. Determinarea activității aminotransferazelor.

Aminotransferazele catalizează reacțiile de transformare – transferul reversibil al grupării amino de la aminoacid la cetoacid. Cea mai mare importanță prezintă determinarea activității aspartataminotransferazei (AST) și alaninaminotransferazei (ALT). Aceste enzime posedă activitate catalitică mare și sunt larg răspîndite în diverse organe și țesuturi.

AST catalizează reacția:

Acidul aspartic + acidul α -cetoglutamic \rightarrow acidul glutamic + acidul oxalilacetic.

ALT catalizează reacția:

Alanina + acidul α -cetoglutamic \rightarrow acidul glutamic + acidul piruvic.

Principiul metodei. Sub acțiunea ALT și AST se formează corespunzător acidul oxalilacetic și acidul piruvic. Acidul oxalilacetic este capabil să se transforme în acid piruvic. La adăugarea 2,4-dinitrofenilhidrazinei acide, procesul enzimatic este anihilat și se formează dinitrofenilhidrazona acidului piruvic, care în mediu alcalin dă o colorație roșie-brună, intensitatea căreia este direct proporțională cu cantitatea de acid piruvic rezultat.

Activitatea aminotransferazelor se exprimă prin mM de acid piruvic format de 1 litru ser sanguin la incubarea în termostat timp de o oră la temperatura de 37°C. În serul sanguin în normă activitatea AST constituie 0,1 - 0,45 mM piruvat/l ser/oră, iar activitatea ALT – 0,1 - 0,68.

Mod de lucru. În două eprubete (proba experimentală și proba de control) se introduc câte 0,5 ml soluție amestec de substraturi (alanina și

α -cetoglutarat). Eprubetele se introduc pentru 5 minute în baia de apă la temperatura de 37°C. Apoi în eprubeta experimentală se adaugă 0,1 ml ser sanguin, iar în cea de control – 0,1 ml apă și 0,5 ml soluție de 2,4-dinitrofenilhidrazină. Ambele eprubete se introduc pentru 30 minute în baia de apă la temperatura de 37°C.

După 30 minute, eprubetele se scot din baia de apă și în cea experimentală se adaugă 0,5 ml soluție 2,4-dinitrofenilhidrazină. Ambele eprubete se lasă la temperatura camerei pentru 20 minute. Apoi în ele se introduc câte 5 ml soluție de NaOH de 0,4 N, conținutul se agită cu grijă; se lasă pentru 10 minute la temperatura camerei după ce se colorimetrează la fotoelectrocolorimetru, folosindu-se cuva de 10 mm grosime și filtrul de lumină verde (500-560 nm). Fotocolorimetrarea se efectuează contra probei de control. Calculul se face după curba etalon.

Valoarea diagnostică

1. Determinarea activității aminotransferazelor are o mare importanță în diagnosticul afecțiunilor cordului. În 95% cazuri de infarct miocardic, activitatea AST crește. Creșterea activității apare peste 4-6 ore, manifestându-se clar peste 24-36 ore. După 3-7 zile activitatea atinge valori normale.

2. Determinarea activității aminotransferazelor prezintă un mare interes clinic în diagnosticul diferențial al bolilor de ficat. Activitatea ambelor transaminaze, îndeosebi a ALT, crește în hepatita infecțioasă. Creșterea activității ALT în perioada de incubare și în formele anicterice ale hepatitei infecțioase prezintă importanță pentru diagnostic. În hepatopatie toxică și acutizarea hepatitei cronice se observă cifre crescute ale activității ALT. Ciroza ficatului nu este însoțită de hiperenzimie pronunțată. La bolnavul cu icter mecanic, activitatea aminotransferazelor este normală sau puțin mărită.

Experiența 2. Determinarea ureei în urină.

Ureea este amida completă a acidului carbonic sintetizată în ficat. Zilnic cu urina se excretă 20-35 g sau 333-585 mM de uree.

Principiul metodei. Metoda se bazează pe facultatea ureei de a forma cu p-dimetilbenzaldehida în mediu acid o combinație complexă de culoare galbenă. Intensitatea culorii este direct proporțională cu concentrația ureei în urină.

Mod de lucru. Se pune cu pipeta într-o eprubetă 0,2 ml urină și 1,2 ml soluție p-dimetilaminobenzaldehidă de 2%. Conținutul se agită, iar după 15 minute proba se fotocolorimetrează în cuva de 3 mm grosime și filtrul de lumină albastră contra apei distilate. Cantitatea de uree din urină este calculată după curba etalon.

Valoarea diagnostică. Cantitatea ureei în urină crește în anemia pernicioasă, febră, degradarea intensă a proteinelor în organism. Conținutul ureei în urină scade în nefrită, acidoză, icter parenchimos, ciroza ficatului, uremie.

Teme pentru autopregătire

1. Soarta aminoacizilor absorbiți. Transportul aminoacizilor în celule.
2. Metabolizarea NH_2 -grupelor:
 - a) Dezaminarea aminoacizilor. Tipurile. Glutamatdehidrogenaza.
 - b) Transaminarea aminoacizilor. Aminotransferazele și importanța clinică a determinării activității transaminazelor.
 - c) Dezaminarea indirectă a aminoacizilor.
3. Decarboxilarea aminoacizilor. Influența aminelor biogene asupra funcțiilor fiziologice ale organismului. Detoxifierea aminelor biogene.
4. Metabolizarea α -cetoacizilor rezultați din aminoacizi.
5. Detoxicarea amoniacului: sinteza glutaminei, carbamoilfosfatului, aminarea reductivă a α -cetoglutaratului.
6. Biosinteza ureei. Importanța clinică a determinării ureei în sânge și în urină.
7. Biosinteza aminoacizilor neesențiali în organismul animal.
8. Principiul determinării activității transaminazelor serului sanguin și ureei în urină.

Întrebări pentru autocontrol

1. Scheletele de carbon ale căror aminoacizi intră în ciclul Krebs prin intermediul: a) acetyl-CoA; b) α -cetoglutaratului; c) succinatului; d) fumaratului; e) oxalilacetatului.
2. Ce α -cetoacizi se formează la transaminarea următorilor aminoacizi: a) alanina; b) glutamat; c) aspartat; d) leucina; e) fenilalanina; f) tirozina?
3. Căile metabolismului amoniacului: a) sinteza glutaminei; b) sinteza aminoacizilor; c) sinteza carbamoilfosfatului; d) sinteza ureei; e) excreția lui cu urina.

4. Scrieți ecuațiile reacțiilor de sinteză a alaninei, aspartatului și glutamatului.

5. Scrieți ecuațiile reacțiilor de sinteză a glutaminei și asparaginei.

6. Din ce se sintetizează prolina, tirozina, cisteina, glicina, serina?

7. Soarta acidului glutamic: a) se decarboxilează; b) se supune transaminării; c) se oxidează; d) se carboxilează; e) se transformă în glutamină.

8. Acidul aspartic: a) se supune transaminării; b) formează asparagina; c) participă la sinteza nucleotidelor pirimidinice; d) este implicat în sinteza ureei; e) se supune dezaminării oxidative directe.

9. Transaminaza hepatică catalizează următoarele reacții: a) dezaminarea oxidativă a glutamatului; b) transferul grupării fosfat de la piridoxalfosfat la piridoxamină; c) transferul grupării amino de la glutamat la piridoxalfosfat; d) transferul grupării amino de la piridoxamină la piruvat.

10. În ciclul sintezei ureei, enzima ornitintranscarbamoilaza participă la: a) sinteza ornitinei din citrulină; b) sinteza ureei din arginină; c) sinteza citrulinei din ornitină; d) transaminarea ornitinei; e) hidroliza ornitinei.

11. Hipertransaminazemia se observă în: a) infarctul plămînilor; b) infarctul miocardic; c) hepatite; d) colecistite; e) traume vaste ale mușchilor.

12. Aminele biogene: a) se formează în urma acțiunii aminotransferazelor asupra aminoacizilor; b) acumularea lor în organism nu provoacă tulburări ale funcțiilor organismului; c) histamina posedă un spectru îngust de acțiune; d) serotonina are acțiune vasoconstrictoare; e) administrarea acidului γ -aminobutiric duce la excitația scoarței cerebrale.

TEMA 23

Particularitățile metabolismului unor aminoacizi

Experiența 1. Determinarea ureei din serul sanguin prin metoda colorimetrică.

Principiul metodei. Ureea reacționează cu diacetilmonooxima în prezența tiosemicarbazidei și sărurilor de fier într-un mediu acid la încălzire cu formarea unui complex de culoare roșie. Intensitatea colorației este direct proporțională cu conținutul de uree din serul sanguin și se măsoară colorimetric.

Mod de lucru. Pentru precipitarea proteinelor, într-o eprubetă de

centrifugat se introduc 0,8 ml apă, 0,2 ml ser și 1 ml soluție de acid tricloracetic de 10%. Conținutul se agită. Concomitent într-o eprubetă obișnuită se prepară proba martor, care conține în loc de ser soluție standardă de uree. După 15 minute proba de cercetat este centrifugată la 1500 rotații/minut timp de 10 minute. Apoi într-o eprubetă se iau 0,5 ml supernatant, iar în alta – 0,5 ml soluție de uree, iar în a treia (proba de control) – 0,5 ml apă distilată. În toate trei eprubete se adaugă câte 5 ml agent colorant și se agită. Probele se încălzesc într-o baie de apă în clocot timp de 20 minute, iar apoi sunt răcite în curent de apă timp de 2-3 minute.

Probele de analizat și proba martor sunt citite la fotocolorimetru contra probei de control, folosindu-se cuva de 10 mm și filtrul de lumină verde.

Calculul se efectuează după formula:

$$X = \frac{E_{cer} \cdot 100}{E_{st}}$$

unde: X – concentrația ureei în mg/100 ml;

E_{cer} – extincția probei de cercetat;

E_{st} – extincția probei standard (probei martor);

100 – concentrația ureei în soluția standard de uree (100 mg/100ml).

Cantitatea ureei crește în nefrită, tuberculoza renală, starea febrilă, septicemie.

Experiența 2. Determinarea creatininei în urină (metoda Folin).

Creatinina, anhidrida creatinei, este o componentă normală a urinei. În urina din 24 de ore se găsesc 8,8-17,7 mM de creatinină (1,0-2,0g) la bărbați și 7,1-15,9 mM (0,8-1,8 g) – la femei. Creatina se conține în mușchi, unde formează creatinfosfat, care la degradare se transformă în fosfat și creatinină. În urina normală a pacienților adulți, creatina este absentă. Însă urina copiilor și adolescenților întotdeauna conține creatinină.

Principiul metodei se bazează pe reacția Jaffe. Creatinina în mediu alcalin reacționează cu acidul picric cu formare de compuși colorați; intensitatea culorii roșie-portocalie este direct proporțională cu concentrația creatininei din urină și se măsoară colorimetric.

Mod de lucru. Într-un cilindru cotat de 10 ml se pun cu pipeta 0,1 ml urină, 0,1 ml hidroxid de sodiu de 10% și 0,15 ml soluție saturată de acid

picric. Proba de control se realizează ca și proba de analizat cu excepția că în locul urinei se iau 0,1 ml apă distilată.

Probele se agită și se lasă pentru 5 minute. Nivelul lichidului din cilindru se aduce pînă la semn (10 ml) cu apă distilată. Fotocolorimetrarea probei de cercetat se face contra probei de control, folosindu-se cuva de 3 mm grosime și filtrul de lumină verde.

Calculul se efectuează după curba etalon, determinînd cantitatea de creatinină în 0,1 ml urină. Apoi se calculează cantitatea de creatinină în urina de 24 ore.

Valoarea diagnostică. Hipercreatininuria se întîlnește în consum excesiv de alimente bogate în proteine, după efort muscular susținut, în atrofia musculară, în starea febrilă, în sindromul de compresiune.

Hipocreatininuria se întîlnește în nefrita cronică asociată cu uremie, boala polichistică a rinichiului, leucoză.

Experiența 3. Dozarea acidului uric în urină.

Acidul uric este produsul final al metabolismului bazelor purinice. În urina de 24 ore se conțin între 1,6 și 3,54 mM (270-600 mg).

Principiul metodei. Acidul uric reduce reactivul fosfowolframic la albastru de fosfowolframat. Intensitatea colorației este direct proporțională cu cantitatea de acid uric. Cantitatea de albastru de fosfowolframat se determină prin titrare cu fericianura de potasiu, care oxidează albastru de fosfowolframat și colorația albastră dispăre.

Mod de lucru. La 1,5 ml urină se adaugă 1 ml soluție carbonat de sodiu de 20% și 1 ml reactiv fosfowolframic. Conținutul probei se agită și se titreză cu soluție de fericianură de potasiu de 0,01 N pînă la dispariția colorației albastre.

Calculul se efectuează după formula:

$$X = \frac{0,8ab}{1,5} \text{ mg/24 ore,}$$

unde: 0,8 – cantitatea, în mg, de acid uric, care corespunde unui ml de fericianură de potasiu;

a – cantitatea de fericianură de potasiu care s-a consumat la titrare, în ml;

b – diureza nictemerală, în ml.

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

Experiența 4. Identificarea acidului homogentizinic în urină.

Principiul metodei. Acidul homogentizinic, interacționând cu reactivul molibdenic, formează un complex colorat în albastru.

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

Importanța clinico-diagnostică. Acidul homogentizinic se determină în urină în alcaptonurie.

Teme pentru autopregătire

1. Metabolismul fenilalaninei, tirozinei și triptofanului. Rolul acestor aminoacizi în sinteza altor compuși.
2. Metionina. S-Adenozilmetionina. Rolul acestui aminoacid în organism. Sinteza creatinei.
3. Acidul tetrahidrofolic. Rolul lui în sinteza serinei, metioninei, glicinei, timinei.
4. Metabolismul glicinei, serinei și cisteinei.
5. Metabolismul aminoacizilor dicarboxilici.
6. Glutamina și rolul ei în organism; glutaminaza rinichilor.
7. Patologia metabolismului proteic. Tulburările congenitale ale metabolismului aminoacizilor.

Întrebări pentru autocontrol

1. Amoniacul se formează în urma dezaminării: a) aminoacizilor; b) glutamatului; c) glutaminei; d) bazelor azotate; e) noradrenalinei.
2. Glicina participă la sinteza: a) serinei; b) creatinei; c) nucleotidelor purinice; d) hemului; e) combinațiilor conjugate.
3. Serina este folosită de organism la formarea: a) fosfatidilserinei; b) etanolaminei; c) piruvatului; d) glicinei; e) fosfoproteidelor.

4. Cisteina formează: a) cistină; b) glutation; c) piruvat; d) cisteamină; e) acid cisteinic.
5. S-Adenozilmetionina este utilizată la sinteza: a) fosfatidilcolinei; b) creatinei; c) timinei; d) adrenalinei; e) N-metilnicotinamidei.
6. Glutamina ia parte la sinteza: a) nucleotidelor purinice; b) nucleotidelor pirimidinice; c) aminozaharurilor; d) NAD-ului; e) carbamoilfosfatului.
7. Din tirozină se formează: a) serotonina; b) tiroxina; c) catecolaminele; d) melanina; e) fenilalanina.
8. La om se întâlnesc următoarele tulburări congenitale ale metabolismului proteic: a) fenilcetonuria; b) albinismul; c) alcaptonuria; d) boala siropului de arțar; e) afecțiunea Hartnup.
9. Scrieți ecuația stoichiometrică pentru sinteza glucozei din aspartat.
10. Scrieți ecuația stoichiometrică a transformării aspartatului în oxaloacetat prin fumarat.
11. Scrieți ecuația stoichiometrică pentru sinteza alaninei din glucoză.
12. În timpul contracțiilor musculare are loc scăderea concentrației creatinfosfatului fără schimbarea concentrației ATP-ului. Explicați de ce.

TEMA 24

Metabolismul nucleotidelor. Chimia și metabolismul cromoproteidelor

Experiența 1. Identificarea pigmentilor sanguini în lichidele biologice (proba cu benzidina).

Pigmentul sanguin se poate elimina cu urina sub formă de :

- hemoglobina conținută în structura eritrocitului – *hematurie*;
- hemoglobina liberă – *hemoglobinurie*.

În primul caz în sediment se depistează structuri hemactice.

Principiul general al metodelor chimice pentru recunoașterea sîngelui se bazează pe activitatea peroxidazică a hemoglobinei. Sub acțiunea pigmentului sanguin, apa oxigenată este descompusă punînd în libertate oxigen atomic activ capabil să oxideze anumite substanțe, care își modifică culoarea.

Experiența 2. Determinarea bilirubinei în serul sanguin (metoda Jendrassik).

Principiul metodei. Bilirubina cu diazoreactivul, în prezența cofeinei, formează un compus complex colorat în roșu-purpuriu.

Mod de lucru. În trei eprubete (control, bilirubina totală, bilirubina conjugată) se introduc reactivii (în ml) conform tabelului de mai jos.

Numărul eprubetei	I	II	III
Reactivul	Bilirubina totală (ml)	Bilirubina conjugată (directă) ml	Proba de control (ml)
Ser sanguin	0,5	0,5	0,5
Reactiv cofeinic	1,75	-	1,75
Soluție NaCl de 0,9%	-	1,75	0,25
Diazoreactiv	0,25	0,25	-

Pentru dezvoltarea colorației și determinarea bilirubinei totale, prima eprubetă se lasă în repaus și se colorimetrează. Pentru determinarea bilirubinei conjugate (eprubeta II), colorimetrarea se face peste 5-10 minute. La fotocolorimetrare se va folosi filtru de lumină verde, cuva de 5 mm față de control.

Calculul se face după curba etalon.

Pentru determinarea bilirubinei neconjugate (indirecte, libere), din bilirubina totală se scade bilirubina conjugată (directă).

Valorile normale: bilirubina totală – 8,55-20,52 mM/l (0,5-1,2 mg/100); bilirubinei libere (indirecte) îi revin 75% din bilirubina totală.

Valorile medii ale diferitelor fracții de bilirubină: bilirubina totală – 11,1 mM/l (0,65 mg/100 ml); bilirubina conjugată (directă) – 2,6 mM (0,15 mg/100 ml); bilirubina liberă (indirectă) – 8,6 mM/l (0,5 mg/100 ml).

Experiența 3. Proba cu timol (Huergo-Popper).

Principiul metodei. La reacția serului sanguin cu soluție tampon timol-veronal apare o opalescență ca rezultat al formării complexului lipid-globulinic.

Mod de lucru. La 6 ml de soluție tampon timol-veronal se adaugă 0,1 ml de ser sanguin. După 30 minute se determină extincția la FEC la lungimea unde de lumină 630-690 nm; filtrul de lumină roșie, contra soluției tampon timol-veronal.

Calculul se face după curba etalon.

Valorile normale: 0 - 4 unități de opalescență.

Importanța clinico-diagnostică. Proba cu timol pozitivă (valoarea mai mare de 4 unități) indică creșterea conținutului de globuline. Se observă în boala Botkin (90-100 cazuri), hepatopatii toxice, ciroză hepatică, colagenoze ș. a. În icterul mecanic fără complicații, cu hepatită parenchimotoasă, proba este negativă.

Teme pentru autopregătire

1. Digestia și absorbția acizilor nucleici.
2. Degradarea nucleotidelor purinice și pirimidinice în țesuturi. Guta.
3. Biosinteza nucleotidelor purinice, reglarea.
4. Biosinteza nucleotidelor pirimidinice, reglarea.
5. Structura chimică și rolul biologic al cromoproteidelor.
6. Digestia și absorbția cromoproteidelor. Principiul reacțiilor de identificare a hemoragiilor oculute din tractul digestiv, urină.
7. Catabolismul hemoglobinei în țesuturi. Legătura dintre pigmenții sanguini, biliari, urinari și ai maselor fecale. Importanța determinării lor în diagnosticul și diferențierea icterelor.
8. Metabolismul fierului în organism.
9. Biosinteza hemului. Reglarea procesului.

Întrebări pentru autocontrol și situații de problemă

1. Drept sursă de sinteză de novo a nucleotidelor purinice servesc: a) glutamina; b) glicina; c) aspartatul; d) formiatul; e) oxidul de carbon.
2. Cum decurge sinteza nucleotidelor purinice din produse gata?
3. Fluoruracilul se transformă în celulă în fluordezoxiuridilat, care prezintă inhibitorul viguros al timidilatsintetazei. De ce fluoruracilul inhibă creșterea celulelor canceroase, care se divizează rapid la animalele experimentale?
4. În chimioterapia tumorilor este larg utilizat preparatul medicamentos metotrexatul. Care este mecanismul lui de acțiune?
5. Azaserina este un inhibitor puternic al enzimei amidotransferaza, care în procesul de sinteză al nucleotidelor purinice catalizează transportul grupării amino de la glutamină la acceptorul corespunzător. Dacă celulele sunt tratate cu azaserină, ce produs intermediar al biosintezei nucleotidelor purinice se acumulează?

6. Scrieți ecuația stoichiometrică pentru sinteza dTMP din dUMP, cuplată cu transformarea serinei în glicină.

7. Prin care produse intermediare are loc includerea azotului liber în biosinteza hemului?

8. Masa moleculară a proteinelor este mult mai mare decât masa moleculară a substanțelor organice. Se știe că în componența hemoglobinei intră 0,34% fier. Calculați masa moleculară minimă a hemoglobinei. Experiențele moderne au arătat că masa moleculară a hemoglobinei este egală cu 645000. Calculați câți atomi de fier conține o moleculă de hemoglobină.

9. Bolnavul este icteric, masele fecale și urina au o culoare intens oranj. Bilirubina serică este majorată și se identifică prin reacție indirectă. Stabiliți diagnosticul prezumtiv. Motivați răspunsul.

TEMA 25

Colocviu la teme:

Metabolismul lipidelor, proteinelor, nucleotidelor și cromoproteidelor