



**Univerzitet Crne Gore
Medicinski fakultet
Katedra za Biohemiju**



BIOHEMIJA

ZA STUDENTE VISOKE MEDICINSKE ŠKOLE U BERANAMA

Doc. dr Snežana Pantović

PREDAVANJE BR. 1

Nastava

- Semestar: II
- Broj ECTS kredita: 7
- Fond časova: 2P+3V

Predispitne aktivnosti

- Prisustvo nastavi: 2.5 boda
- Prisustvo i aktivnost na vježbama: 2.5 bodova
- Praktični dio ispita: 5 bodova
- Kolokvijum: 15 bodova
- Ispit: 25

Literatura



1. Osnovi biohemije

S.Spasić; Z.Jelić-Ivanović; V.Spasojević-Kalimanovska

2. Medicinska biohemija

S.Spasić; Z.Jelić-Ivanović; V.Spasojević-Kalimanovska

Sadržaj predmeta

- Biomolekule – struktura i funkcija
- Enzimi: **struktura i funkcija**
- Biološke membrane: **struktura i funkcija**
- Uvod u bioenergetiku
- Metabolizam: **ugljenih hidrata, proteina, lipida i azotnih jedinjenja**
- Metabolizam **minerala**
- Laboratorijske tehnike i priprema materijala za analizu

A horizontal decorative bar at the top of the slide, consisting of a red rectangular section on the left and a teal rectangular section on the right.

UVOD U BIOHEMIJU. BIOMOLEKULI

BIOHEMIJA

- Biohemija je most između biologije i hemije.
- Biohemija je mlada fundamentalna nauka (XX vijek) sa širokom primjenom u medicini, farmaciji, stomatologiji, ali i brojnim drugim oblastima
- Biohemija proučava:
 - ▣ Molekulski sastav žive ćelije
 - ▣ Hemijske reakcije biomolekula
 - ▣ Regulaciju ovih reakcija
 - ▣ Protok energije u živim sistemima
 - ▣ Protok informacija u živom svijetu

Medicinska biohemija

- Grana biomedicinske nauke
- Drugi naziv: laboratorijska medicina
- Svrha medicinske biohemije:
 - procjena stanja zdravlja ljudi (postavljanje dijagnoze)
 - procjena praćenja toka bolesti,
 - prognoza bolesti,
 - praćenje efikasnosti terapije i praćenje neželjenih efekata
 - prevencija bolesti
 - otkrivanje naslednih oboljenja kod novorođenčadi
 - otkrivanje faktora rizika kod zdravih osoba

Biohemija - medicina

**B
I
O
H
E
M
I
J
A**

Nukleinske
kiseline



**Nasledne
bolesti**

Proteini



**Anemija
srpastih ćelija**

Lipidi



Ateroskleroza

Ugljeni
hidrati



**Diabetes
mellitus**

**M
E
D
I
C
I
N
A**

Šta se neprekidno usavršava u medicinskoj biohemiji ?

- Izbor i način obrade biološkog materijala
- Analitičke metode za mjerenje biohemijskih markera
 - što tačnije i preciznije
 - što jednostavnije za rutinski rad u laboratorijama
- Sprovođenje kvaliteta rada u biohemijskim laboratorijama

Uticaj fizioloških faktora na biohemijske markere

- Važni za tumačenje biohemijskih rezultata
- **Nepromjenljivi** - dugoročni efekti (ne mogu se kontrolisati)
 - starost, pol, rasa
 - faktori sredine (klima)
 - uticaj godišnjeg doba
- **Promjenljivi** - kratkoročni efekti (mogu se kontrolisati)
 - položaj tijela u toku vađenja krvi
 - uzimanje hrane prije vađenja krvi
 - dnevne varijacije kod jedne osobe
 - način ishrane, fizička aktivnost
 - pušenje, uzimanje alkohola, lijekova i dr.

24 sata pre

1

24 sata pre:
Ne izlagati se teškim fizičkim
naporima



12 sati ranije

2

12 sati ranije:
Ne konzumirati hranu i
piće (sem vode)

19:00



07:00



1 sat pre

3

1 sat pre:
Ne pušiti



10-15 minuta pre

4

10 - 15 minuta pre:
Sesti i opustiti se



Terapija

5

Dati informacije o medikamentoznoj terapiji i nutritivnim suplementima



Kada uzeti uzorak?

6

Preporučeno vreme za uzimanje uzorka je:

07:00



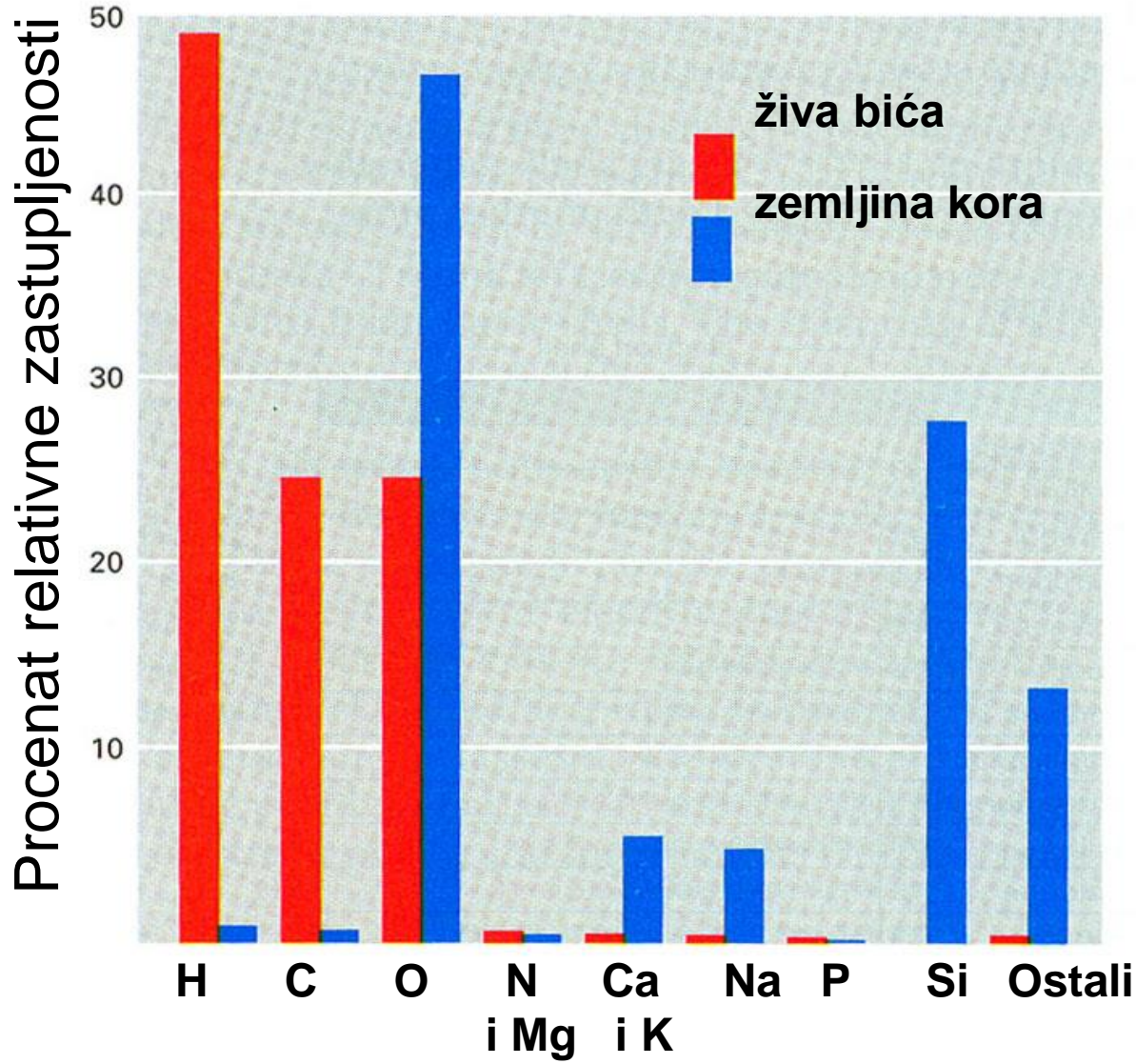
10:00



BIOMOLEKULI

- Biomolekuli su molekuli koji izgrađuju žive organizme.
- Dijele se na **makromolekule** i **mikromolekule**.
- **Makromolekuli** su: proteini, nukleinske kiseline, ugljeni hidrati (polisaharidi) i masti (lipidi).
- **Voda** je vrlo značajan biomolekul (i do 70% TM odrasle osobe).
- Šest osnovnih elemenata su: **C, H, N, O, S i P**

Zastupljenost nekih hemijskih elemenata u neživom svijetu (Zemljina kora) u poređenju sa njihovim zastupljenostima u tkivima životinja !!!



Neorganski joni

- uglavnom čine manje od 1% od ukupne težine ćelije
- katjoni (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} itd.)
- anjoni (Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , itd.)

Intracelularno dominiraju K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} i HPO_4^{2-} ,
Ekstracelularno Na^+ , Cl^- i HCO_3^- .

***Metali imaju različitu sposobnost da grade
komplekse!!!***

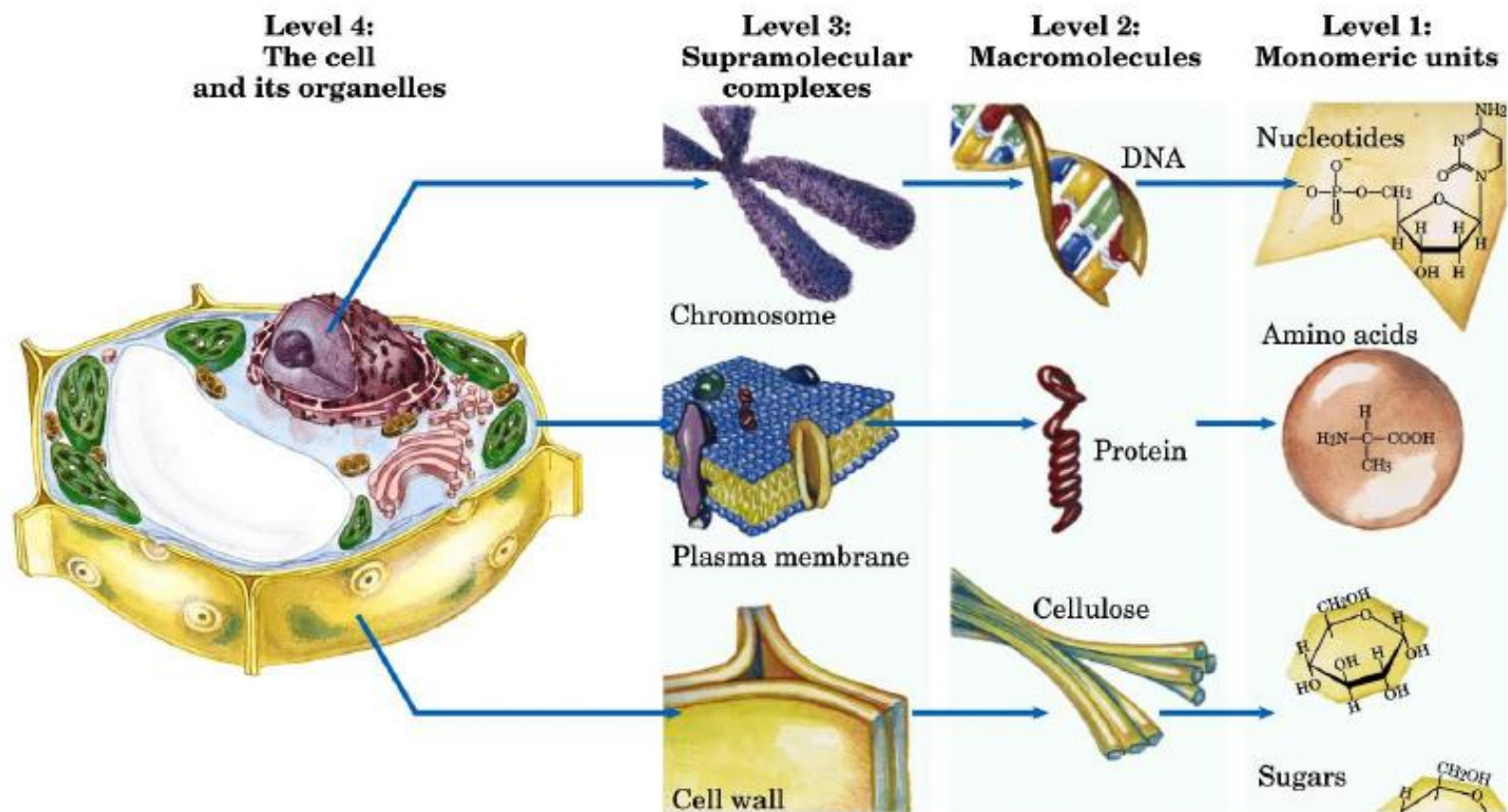
Hijerarhija molekulske organizacije ćelija

Biomolekuli

Prekursori iz okoline	ugljen-dioksid, voda, amonijak, azot
Metabolički intermedijeri	piruvat, citrat, malat, gliceraldehid-3-P
Gradivni blokovi	nukleotidi, aminokiseline, monosaharidi, masne kiseline, glicerol
Makromolekuli	nukleinske kiseline, proteini, polisaharidi, lipidi
Supramolekulska organizacija	ribozomi, enzimski kompleksi, kontraktilni sistemi, mikrotubule
Organele	jedro, mitohondrije, hloroplasti, Goldžijeva tjelašca

ćelija → tkiva → organ → organizam

Molekularna organizacija celije – kompleksni biomolekuli izgradjeni od jednostavnijih



VODA

- Brojne su uloge vode u organizmu:
 - ▣ Esencijalni konstituent svih oblika života.
 - ▣ Prisutna u svim ćelijama omogućava odvijanje reakcija i procesa u ćelijama.
 - ▣ Neophodna je za djelovanje enzima i transport rastvorenih supstanci po cijelom organizmu.
 - ▣ Omogućava postizanje odgovarajuće konformacije (3D strukture) u prostoru biomolekulima kao što su proteini i nukleinske kiseline.
 - ▣ Učestvuje u regulaciji tjelesne temperature.
 - ▣ Sadržaj vode u organizmu se mijenja usljed dehidracije i edema.



BIOLOŠKI MATERIJALI. LABORATORIJSKE TEHNIKE

BIOLOŠKI MATERIJALI

U biohemijskim laboratorijama izvode se brojne **kvalitativne** i **kvantitativne** analize različitih sastojaka biološkog materijala uzetog od pacijenata u cilju postavljanja dijagnoze i praćenje toka bolesti.

U tu svrhu najčešće se koristi **krv** (puna krvi i serum ili plazma koji se iz nje dobijaju) i **urin**.



BIOLOŠKI MATERIJALI

Međutim, za dijagnozu i praćenje velikog broja bolesti neophodne su i analize drugih vrsta biološkog materijala:

- ❑ Krv: venska, kapilarna, arterijska
- ❑ Serum, plazma
- ❑ Urin: prvi jutarnji, 24-časovni
- ❑ Mokraćni kamenac, Žučni kamenac
- ❑ Cerebrospinalna tečnost
- ❑ Amnionska tečnost
- ❑ Sinovijalna tečnost
- ❑ Serozne tečnosti: pleuralna, peritonealna, perikardijalna
- ❑ Želudačni sok, Duodenalni sok
- ❑ Znoj
- ❑ Saliva
- ❑ Sperma
- ❑ Čvrsto tkivo

KAPILARNA KRV

Kapilarna krv se najčešće uzima iz **jagodice prsta**, koja se najpre obriše gazom natopljenom alkoholom i osuši. Posle uboda sterilnom lancetom ili iglom za injekcije, dozvoljeno je da se primijeni samo blagi pritisak, što potpomaže izlazak krvi.

Kapilarna krv se takođe može uzeti i iz **ušne školjke**, a kod beba se obično uzima iz **pete**. Najčešće se koristi za **hematološka ispitivanja** ili za određivanje glukoze.

VENSKA KRV

Venska krv je najčešće korišćen biološki materijal, a uzima se iz vena u lakatnom pregibu ili na dorzalnoj strani ruke. Prije izvođenja venepunkcije postavlja se **podveska** nekoliko centimetara iznad lakta. Puna venska krv, koja je uzeta uz dodavanje odgovarajućeg **antikoagulansa**, najčešće se koristi kao uzorak za ispitivanje krvne slike pomoću automatskih analizatora.

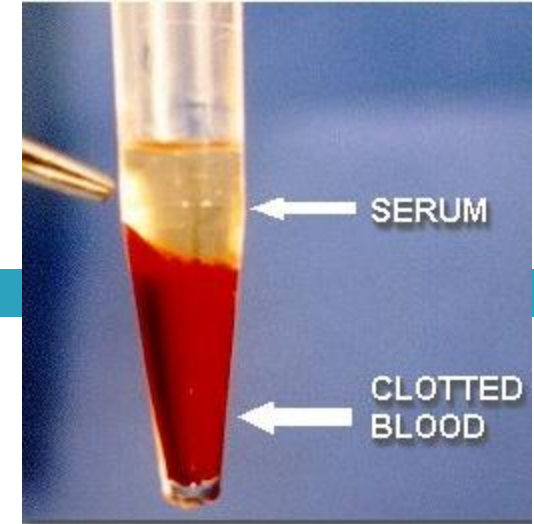
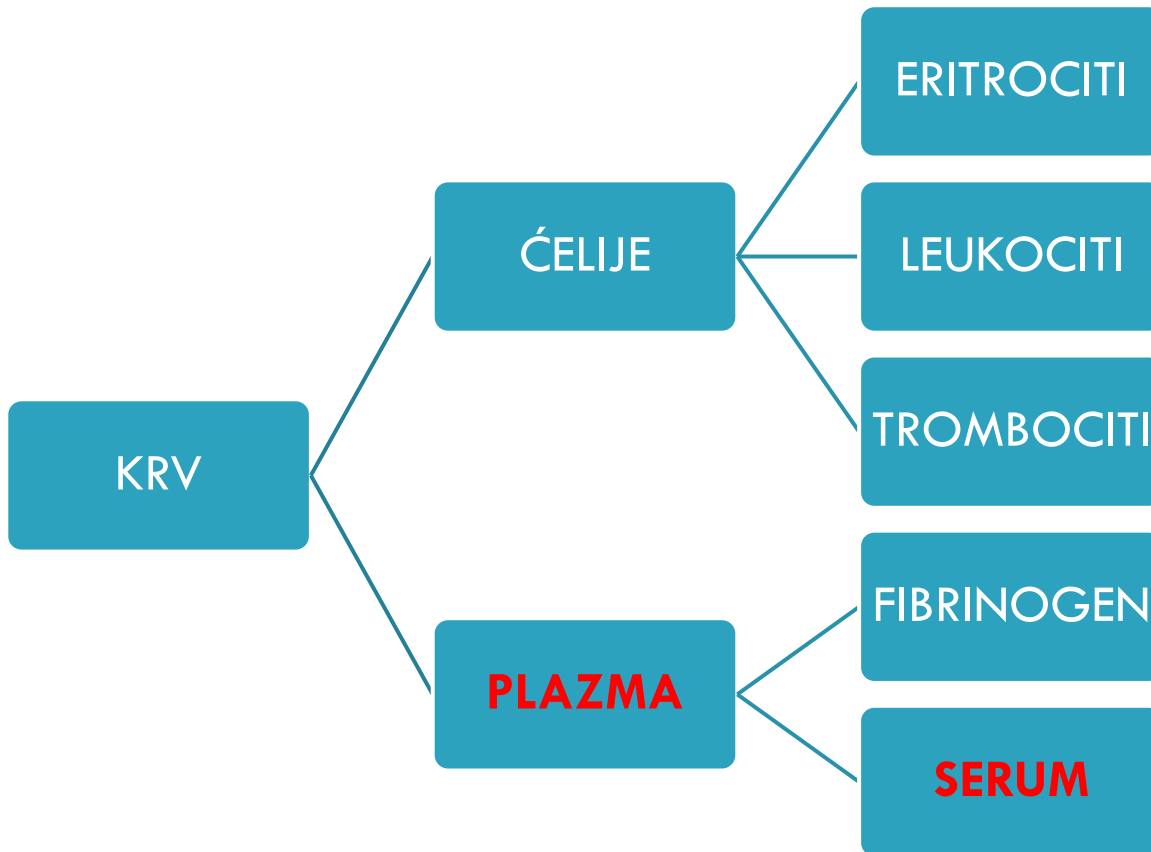
Za ostala ispitivanja iz venske krvi se izdvajaju **serum** (posle koagulacije krvi) ili **plazma** (iz krvi kojoj je dodat odgovarajući antikoagulans).

ARTERIJSKA KRV

Arterijska krv se rijetko koristi kao uzorak, a potrebna je za određene analize, kao npr. za određivanje parametara acido-baznog statusa i za analizu gasova u krvi (uz heparin kao antikoagulans).

Dobija se uvođenjem igle u radijalnu, brahijalnu ili femoralnu arteriju.

KRV



SASTAV KRVI



KRV

- **Serum** se dobija centrifugiranjem krvi uzete bez antikoagulansa.
- **Plazma** je krv bez krvnih ćelija, a dobija se centrifugiranjem pune krvi. Osnovna razlika u sastavu seruma i plazme je da **plazma sadrži fibrinogen**, koji se pri dobijanju seruma konvertuje u fibrin i na taj način uklanja iz uzorka.

URIN

- **Prvi jutarnji urin** se uzima rano ujutru, natašte, uz korišćenje potpuno čistog suda. Kako je ovaj uzorak urina najkoncentrovaniji, pogodan je za *kvalitativno ispitivanje* tj. za fizičko-hemijski pregled urina i sedimenta.
- **24-časovni urin**, odnosno ukupna količina urina koja se izluči u toku 24 h, sakuplja se počev od jutra, zaključno do jutra sljedećeg dana. Cjelokupna količina urina nosi se u laboratoriju, gdje će biti izvršeno merenje zapremine urina. Kod zdravih osoba koje unose prosečne količine hrane i tečnosti, zapremina 24-časovnog urina se obično kreće između 1 200 i 1 500 mL. 24-časovni urin se koristi za *kvantitativno određivanje* raznih sastojaka.

FECES

- Za ispitivanje fecesa koriste se različiti uzorci:
 - pojedinačni (za kvalitativne analize, najčešće za dokazivanje okultnog krvarenja),
 - cjelodnevni (sakupljen u toku 24-sata, za kvantitativne analize) i
 - uzorak koji se sakuplja u toku 72 sata (za metabolička ispitivanja).

Biohemijska laboratorija



VAŽNO!

Obavezno je nositi mantil!

Voditi računa o bezbjednosti u laboratoriji!

Nakon svake vježbe prati ruke!

Oprezno raditi sa infektivnim materijalom!

Ne unositi hranu i vodu u laboratoriju!

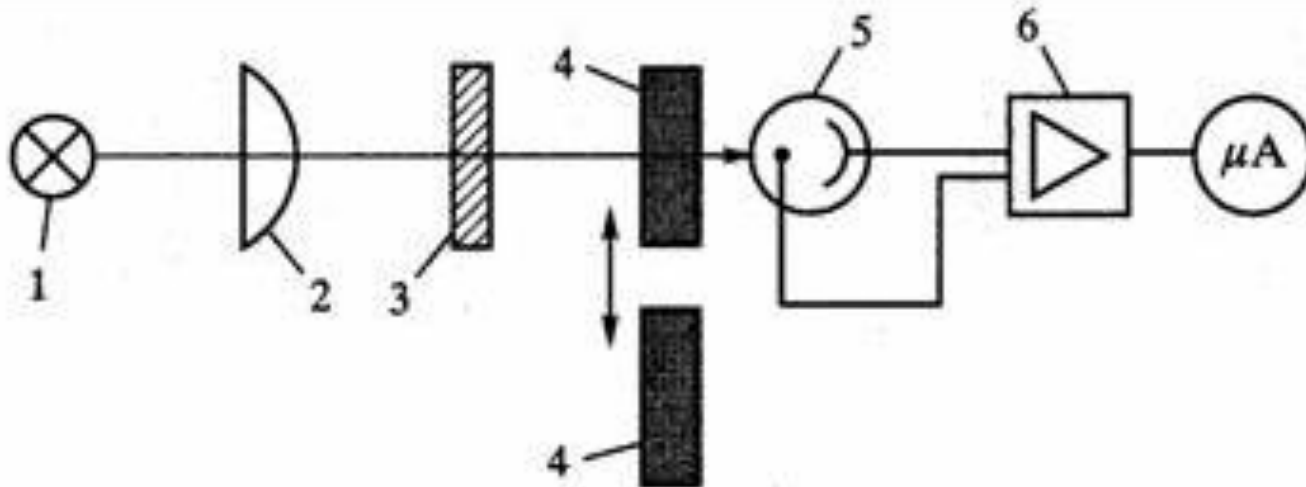
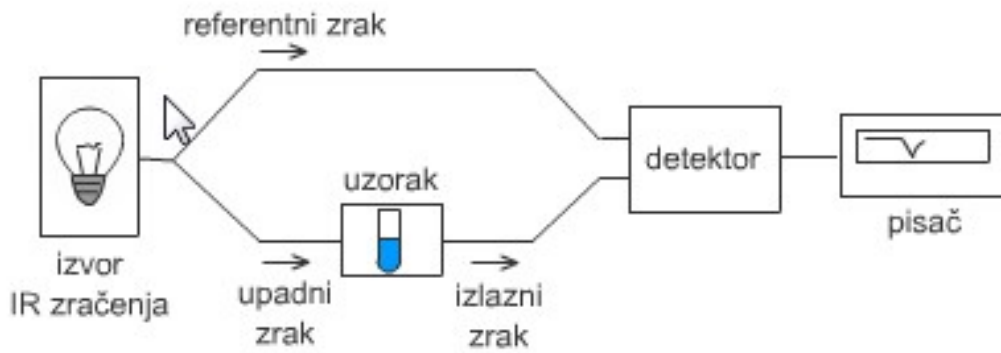


Način rada: PIPETIRANJE



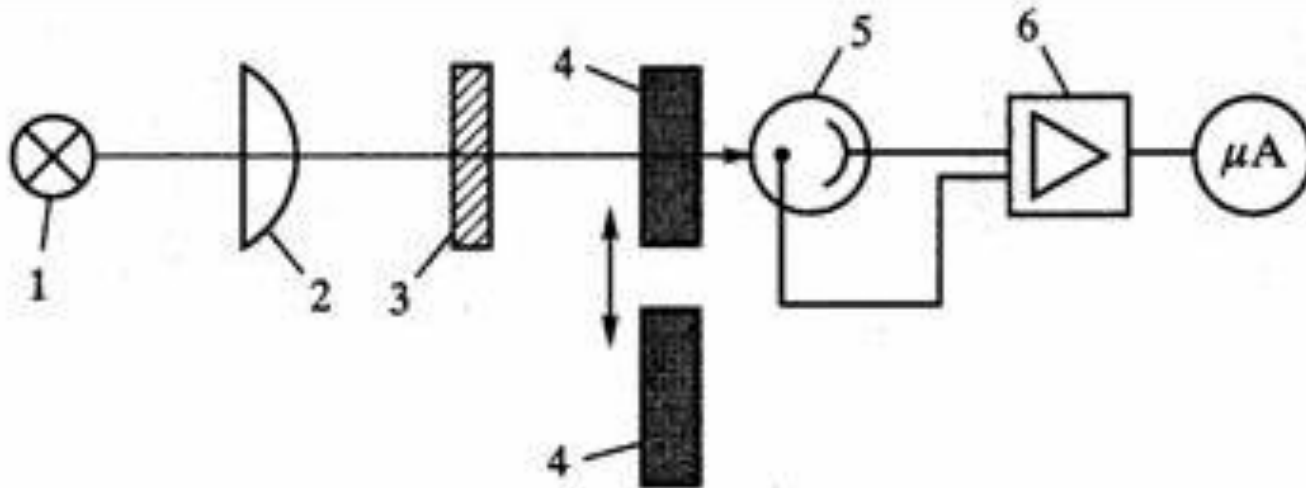
SPEKTROFOTOMETRIJA

SPEKTROMETAR



Osnovni pojmovi

- ❑ SLIJEPA PROBA je rastvor u koji smo dodali sve sastojke kao u ispitivani ratvor (uzorak), osim jedinjenja čiju koncentraciju određujemo.
- ❑ STANDARD je rastvor jedinjenja kojeg određujemo poznate koncentracije.



V O D A



Procenat vode u različitim tkivima čovjeka:

Krv	79%
Srce	79%
Mozak	76%
Eritrociti	65%
Nadbubrežne žlijezde	80%
Pluća	78%
Skeletni mišići	75%
Skelet	46%
Dentin	10%

Funkcija vode

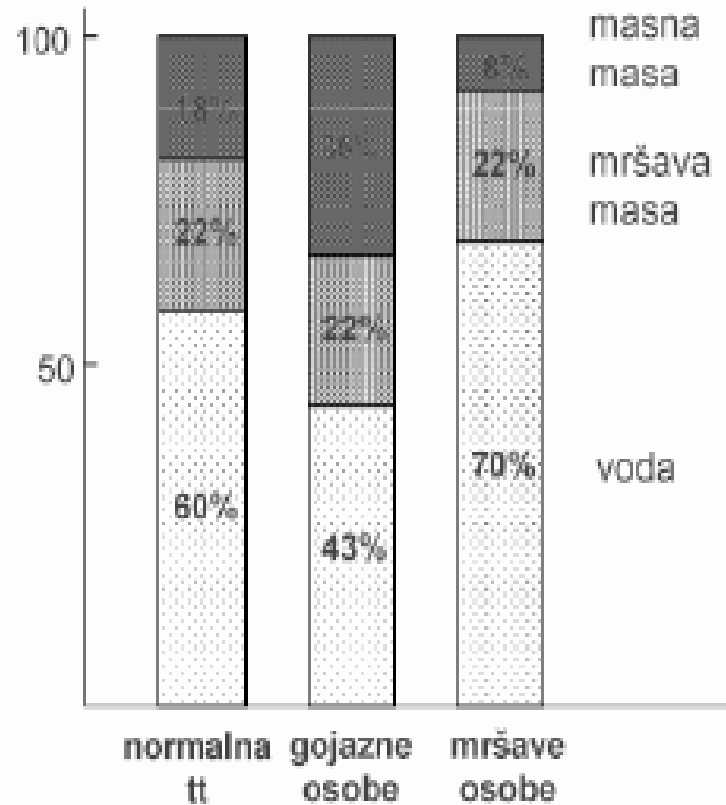
- **Glavni rastvarač**
- **Strukturni sastojak makromolekula**
- **Supstrat/proizvod enzimskih reakcija**
- **Termoregulator**

Raspodjela vode

- Ukupna voda u organizmu:
65% tjelesne mase (M); 55% (Ž)
- Tokom intrauterinog života i ranog djetinjstva stalno se smanjuje sadržaj vode i u 3. godini dostiže sadržaj koji odgovara sadržaju vode kod odraslih osoba
- tokom života: < ECT; > ICT;
- plazma – konstantna (4-5% od ukupne tjelesne mase)

Razlike u sadržaju vode

razlike u količini masnog tkiva



Raspodjela vode

- Ukupna tjelesna voda (60% tjelesne mase): voda unutar i izvan ćelija, voda u gastrointestinalnom i renalnom traktu
- ukupna voda (UVT):
 - **ekstracelularna tečnost (ECT)** - tečnost izvan ćelijske membrane (medijum u kome se odvijaju sve metaboličke izmjene)
 - **intracelularna tečnost (ICT)** – tečnost unutar ćelijske membrane (medijum u kome se odigravaju hemijske reakcije ćelijskog metabolizma)

- Ekstracelularna tečnost:
 - fiziološka tečnost
 - transcelularna tečnost
- Fiziološka ekstracelularna tečnost:
 - intravaskularna voda (plazma)
 - intersticijalna tečnost (IST) – tečnost između ćelija

- Dio intersticijske tečnosti — tečnosti potencijalnih prostora
(perikardijalni, peritonealni, pleuralni i sinovijalni)
- Transcelularna tečnost - tečnost u prostorima uz epitelnu membranu
(očna vodica, CST, voda unutar GIT-a, urogenitalnog i nazorespiratornog trakta)

	% telesne mase	% ukupne telesne vode	zapremina na 70 kg telesne mase
UTV	60%	-	42 L
ECT	20%	33%	14 L
Plazma	5%	8%	3,5 L
IST	15%	25%	10,5 L
ICT	40%	67%	28 L

Sastav vode u različitim tjelesnim prostorima

- Zbir svih (+) naelektrisanih jona = zbir svih (-) naelektrisanih → održanje elektroneutralnosti plazme
- Nemogućnost određivanja svih katjona i anjona u plazmi:
 - mjerljivi katjoni: Na i K
 - mjerljivi anjoni: hloridi i bikarbonati
- Zbir svih mjerljivih katjona $>$ zbira mjerljivih anjona
- Anjonski “gap” (anjonska praznina)

Sastav vode u različitim tjelesnim prostorima

- **Anjonski “gap”**



ili



Normalno: 15 mmol/L

12 mmol/L (bez K)



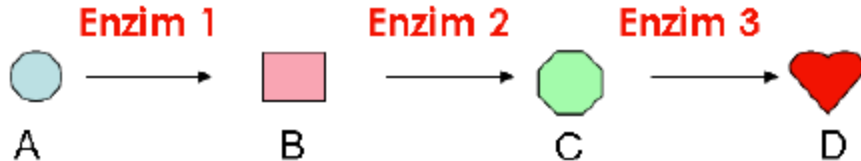
OSNOVNI BIOHEMIJSKI MEHANIZMI U ORGANIZMU.

METABOLIZAM

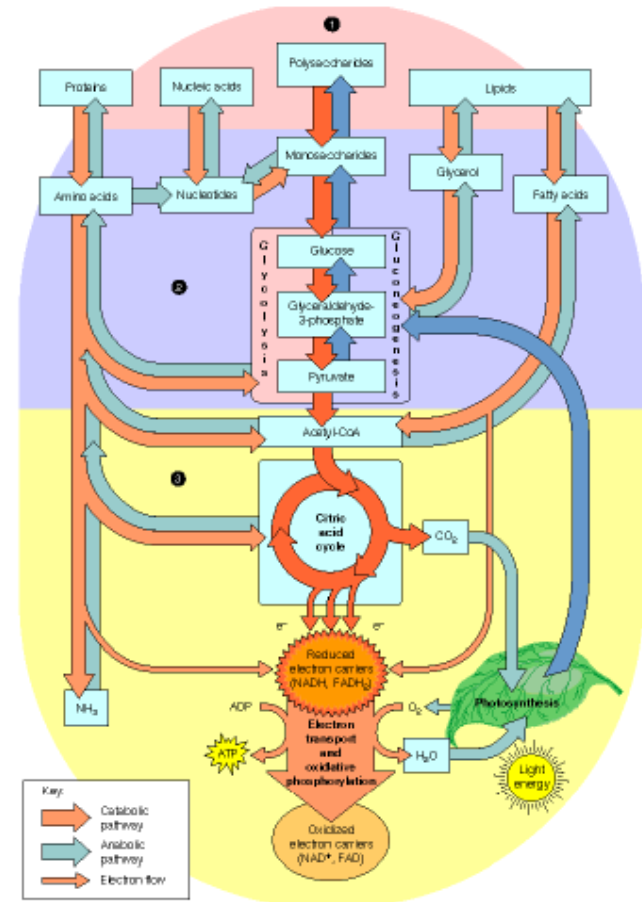
- **Metabolizam** predstavlja skup enzimski katalizovanih reakcija u živim ćelijama.
- **Metabolički putevi** su hemijske reakcije u ćeliji organizovane kao linearni, razgranati, spiralni ili ciklični nizovi.
- **Metabolit** je svaki učesnik u enzimski katalizovanoj reakciji.
- Metabolizam obuhvata **katabolizam** i **anabolizam**.
- **Katabolizam** je pretvaranje složenih molekula u proste.
- **Anabolizam** je pretvaranje prostih molekula i složene.

METABOLIZAM

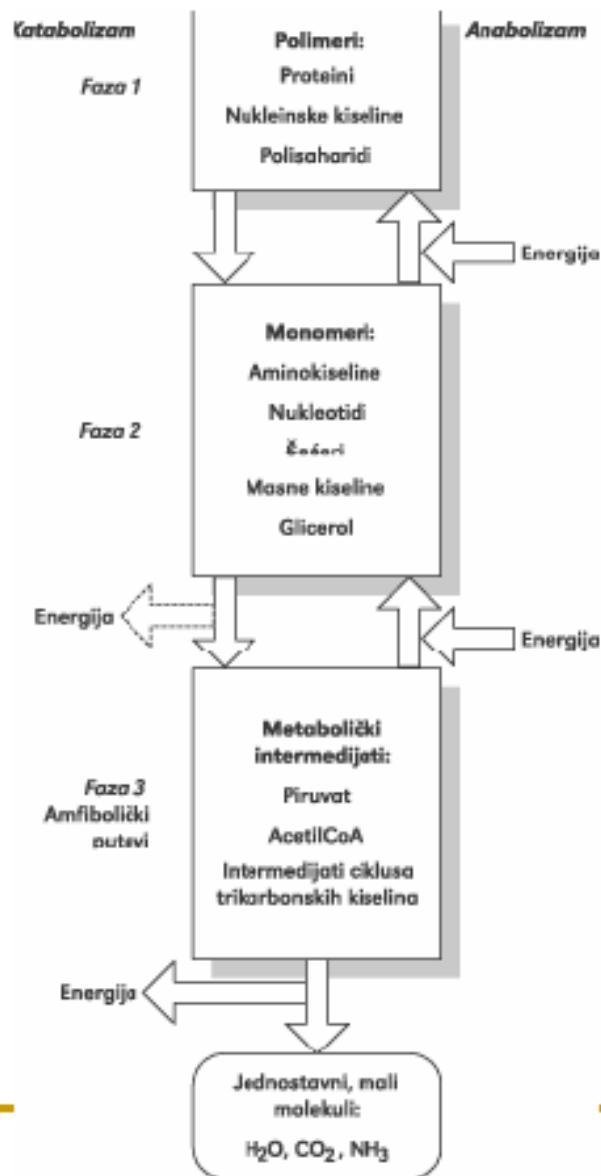
Reakcije u ćeliji koje katališu enzimi obično su povezane u nizove (proizvod jedne je supstrat naredne reakcije)



Niz (ciklus) uzastopnih, enzimski katalizovanih reakcija čini METABOLIČKI PUT (CIKLUS);



3 FAZE METABOLIČKIH PUTEVA



FAZA 1 - razgradnja molekula unetih hranom na jednostavnije sastavne molekule

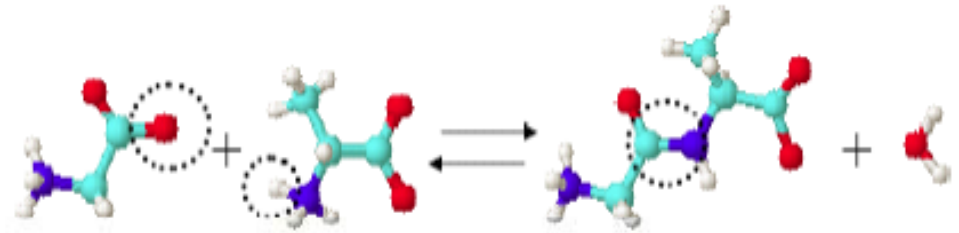
FAZA 2 - dalja razgradnja do dvo- i trougljeničnih ostataka

FAZA 3 - oksidacija do H_2O i CO_2

Metaboličke procese regulišu ENZIMI

- Klinički važni enzimi su:
 - Amilaza
 - Aspartat-aminotransferaza (AST)
 - Alanin-aminotransferaza (ALT)
 - Kreatin-kinaza (CK)
 - Alkalna fosfataza (ALP)
 - Laktat-dehidrogenaza (LDH)
 - Gama-glutamil transferaza (GGT)

Proteini. Enzimi

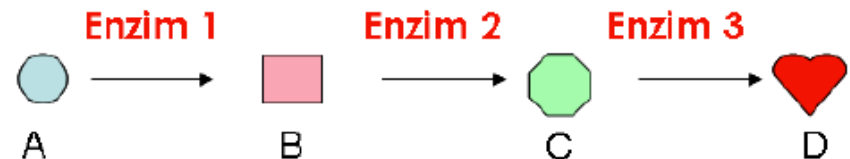
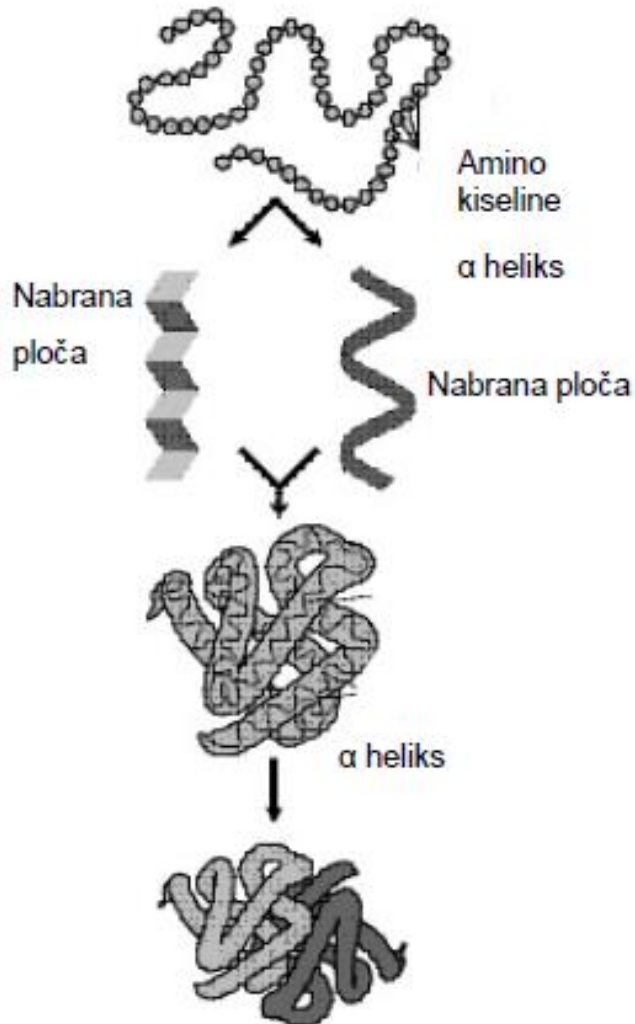


Važne osobine enzima su:

- ✓ Povećavaju **brzinu** hemijske reakcije
- ✓ Visoka **specifičnost** prema reakciji
- ✓ Aktivnost im se može **regulisati**

Značaj enzima:

- ✓ Regulišu ćelijski metabolizam
- ✓ Markeri u dijagnostici
- ✓ Ciljno mjesto djelovanja nekih lijekova
- ✓ Deficit => ozbiljni poremećaji



Enzimi – koji postoje? koliko ih ima?

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	<p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}</p>	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monoxygenases Dioxygenases
2 Transferases	<p>A-B + C ⇌ A + B-C</p>	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	<p>A-B + H₂O ⇌ A-H + B-OH</p>	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	<p>A + B ⇌ A-B</p>	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	<p>A ⇌ Iso-A</p>	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	<p>A + B + XTP ⇌ A-B + XDP</p> <p>X = A, G, U, C</p>	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

www.brenda-enzymes.org/all_enzymes.php

BRENDA
The Comprehensive Enzyme Information System

All enzymes in BRENDA™

For a more structured view of enzymes/EC Numbers and enhanced search capabilities please go to the [EC Explorer](#)

Number of different enzymes: 6671

EC Number	Recommended Name	History	Show details
1.1.1.1	alcohol dehydrogenase	-	(long) (short)
1.1.1.2	alcohol dehydrogenase (NADP)	-	(long) (short)
1.1.1.B3	(S)-specific secondary alcohol dehydrogenase	preliminary BRENDA-supplied EC number	(long) (short)
1.1.1.3	homoserine dehydrogenase	-	(long) (short)
1.1.1.B4	(R)-specific secondary alcohol dehydrogenase	preliminary BRENDA-supplied EC number	(long) (short)
1.1.1.4	(R,R)-butanediol dehydrogenase	transferred to EC 1.1.1.303 and EC 1.1.1.304	(long) (short)
1.1.1.5	acetaldehyde dehydrogenase	-	(long) (short)
1.1.1.6	glycerol dehydrogenase	-	(long) (short)

es: 6671

d Name

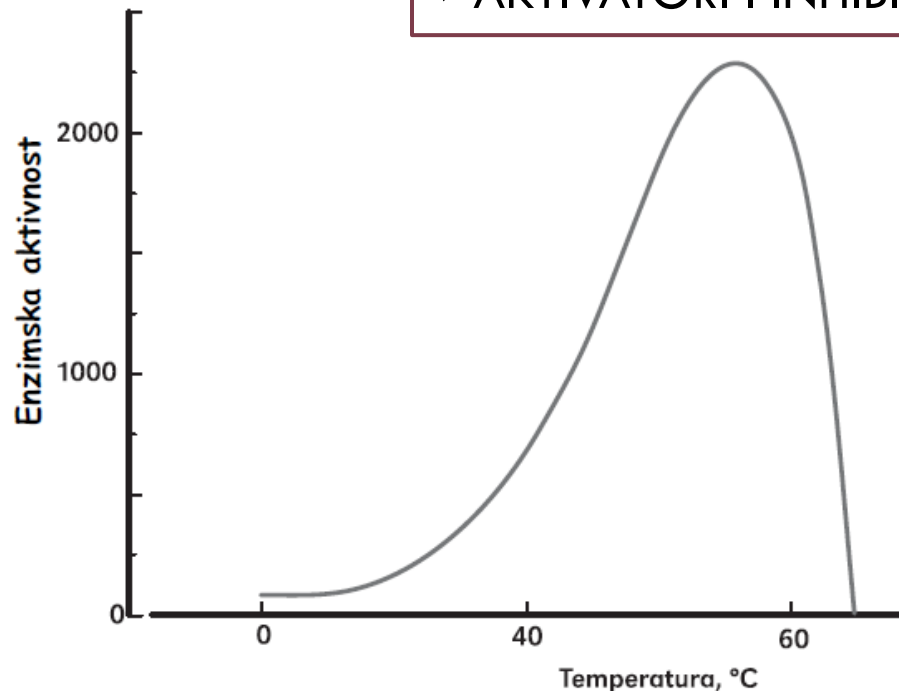
Faktori koji utiču na aktivnost enzima

ĆELIJA:

- ❖ Neutralan pH
- ❖ Umjerena temperatura
- ❖ Atmosferski pritisak
- ❖ Niska koncentracija reaktanata

FAKTORI:

- ✓ TEMPERATURA
- ✓ pH
- ✓ KOLIČINA SUPSTRATA
- ✓ KOLIČINA ENZIMA
- ✓ AKTIVATORI I INHIBITORI



Faktori koji utiču na aktivnost enzima

FAKTORI:

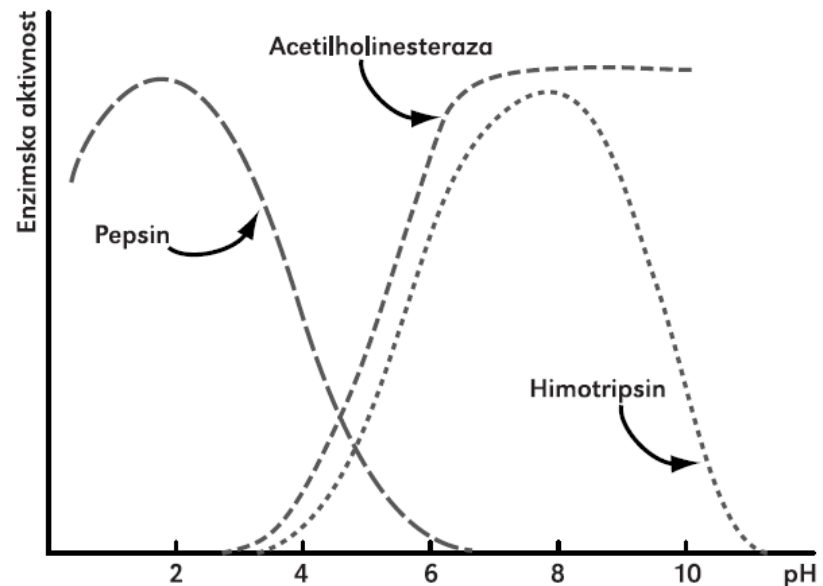
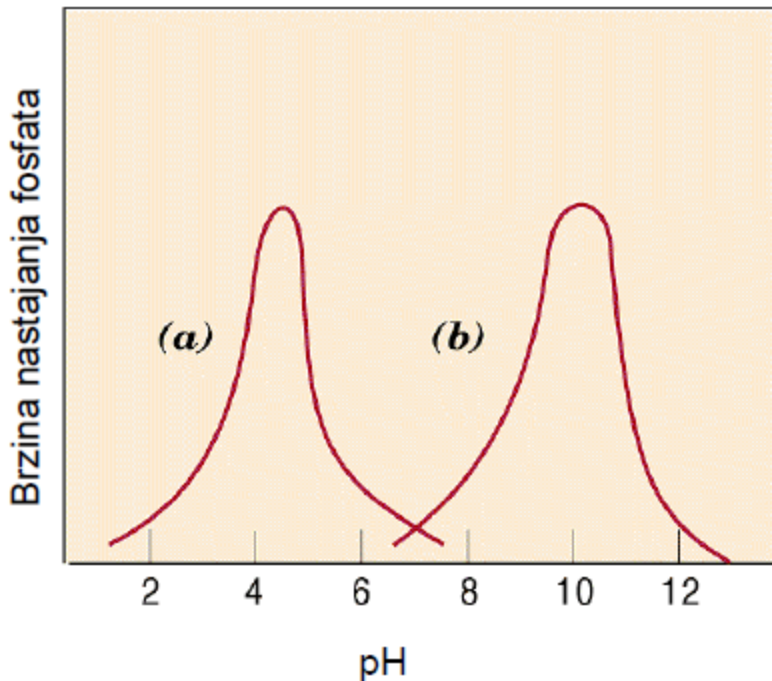
- ✓ TEMPERATURA
- ✓ pH
- ✓ KOLIČINA SUPSTRATA
- ✓ KOLIČINA ENZIMA
- ✓ AKTIVATORI I INHIBITORI

pH utiče na:

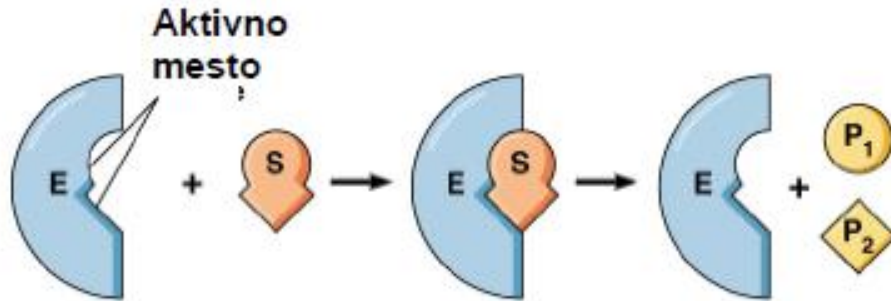
- stepen jonizacije supstrata
- stepen jonitacije funkcionalnih grupa AK u AM
- konformaciju enzima u cjelini

a- kiselna fosfataza

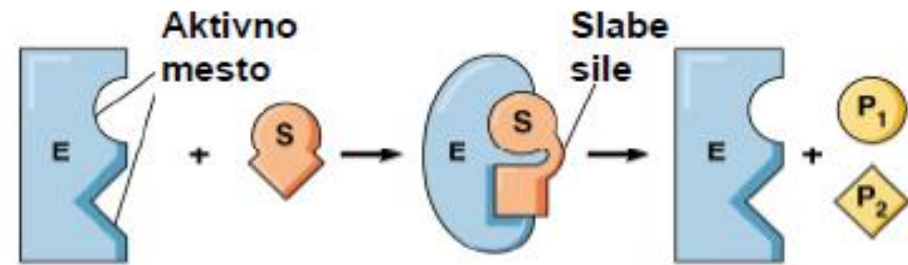
b- alkalna fosfataza



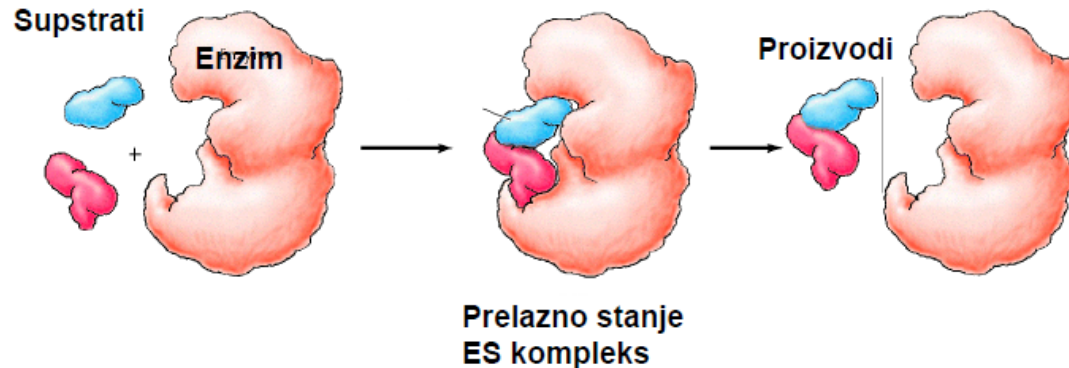
Mehanizam enzimske katalize



MODEL „KLJUČ I BRAVA,,
(Fischer, 1894)



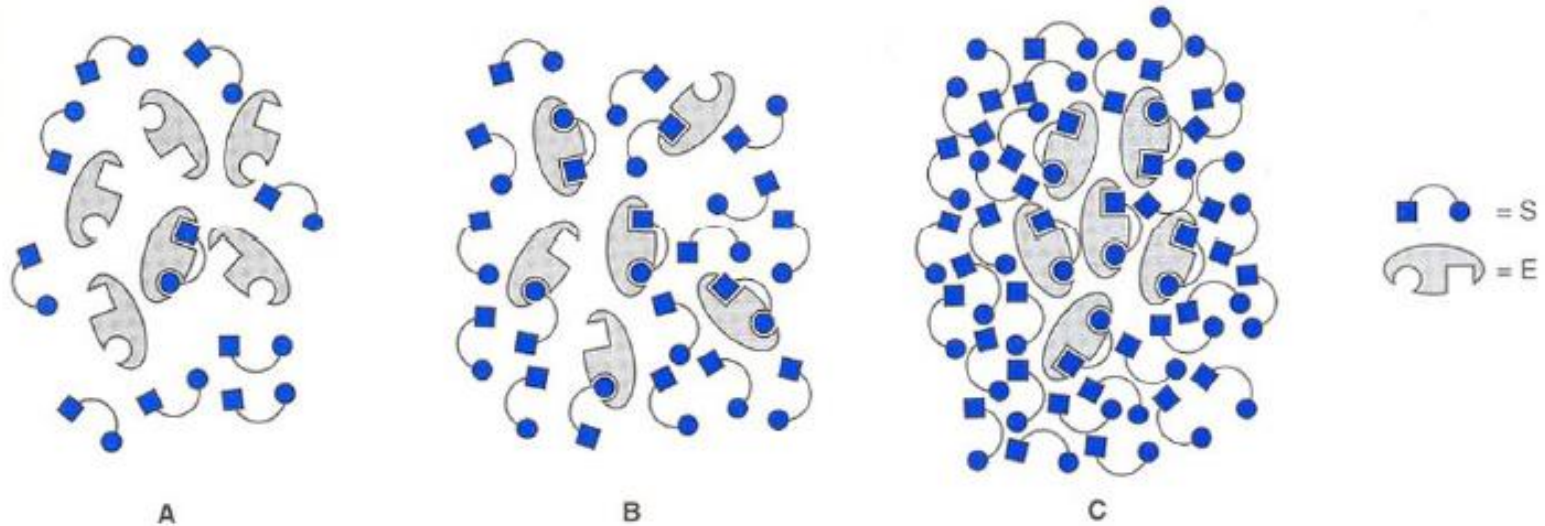
MODEL INDUKOVANOG PRILAGOĐAVANJA
(Koshland, 1958)



Faktori koji utiču na aktivnost enzima

FAKTORI:

- ✓ TEMPERATURA
- ✓ pH
- ✓ KOLIČINA SUPSTRATA
- ✓ KOLIČINA ENZIMA
- ✓ AKTIVATORI I INHIBITORI



Koenzimi

Enzim + Kofaktor/koenzim = Holoenzim
(protein) (nije protein)
apoenzim



HIPOVITAMINOZE = BOLESTI KOENZIMA

Amilaza (α -1,4 glukano-4 glukano hidrolaza, EC 3.2.1.1)

Pripada klasi **hidrolaza**, katalizuje hidrolizu **1,4 α -glikozidnih veza** u polisaharidima.

Ona je **kalcijum**-metaloenzim (kalcijum neophodan za funkcionalni integritet), a puna aktivnost u prisustvu **Cl⁻**.

Molekularna masa: 55-60 hiljada

Prolazi glomerularnu membranu. **JEDINI ENZIM SERUMA KOJI SE NORMALNO NALAZI U URINU!**

Nalazi se u brojnim tkivima i organima, prije svega u **PANKREASU (40%)** i **PLJUVAČNIM ŽLIJEZDAMA (60%)**. Vrlo mala aktivnost nađena u testisima, ovarijumima, jajovodima, suzama i mlijeku. Neki tumori pluća i ovarijuma mogu lučiti male količine amilaze. Nema aktivnosti u jetri.

Amilaza (α -1,4 glukano-4 glukano hidrolaza, EC 3.2.1.1)

Enzim u **serumu i urinu** je porijeklom iz:

PLJUVAČKE i **PANKREASA.**

Enzim u **urinu** je porijeklom iz plazme, a ascit i pleuralna tečnost mogu sadržati amilazu usljed prisustva tumora ili u sklopu pankreatitisa.

Govorimo o dva prava **izoenzima**:

P – pankreasna amilaza

S – salivarna amilaza

Optimum pH: 6,9-7,0.

Najznačajniji je marker akutnog pankreatitisa!

Akutni pankreatitis

Uzroci:

1. **Alkoholizam**
2. **Žučni kamenci**
3. **Hiperlipidemija**
4. **Hiperkalcemija**
5. **Ishemija**
6. **Ostali**



- povećanje aktivnosti posle 2 - 12 sati
- maksimum posle 12 - 72 sata
- vraćanje na normalu posle 3 - 4 dana

Aktivnost povećana u serumu 4 - 6 puta

- nije u korelaciji sa težinom oboljenja, ali veće aktivnosti ukazuju na ovo oboljenje; u 20 % slučajeva aktivnost enzima normalna

Aktivnost amilaze u urinu bolji pokazatelj

- češće povećana, veće povećanje, duže povećana.

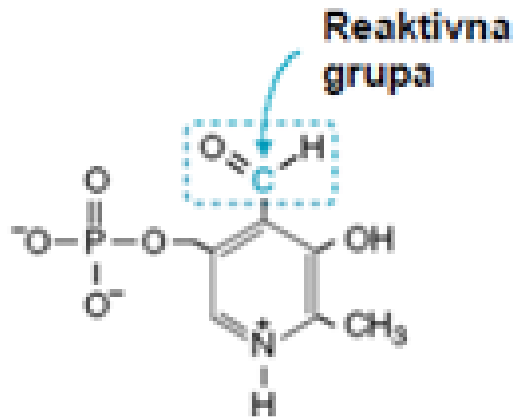
Aminotransferaze

Aspartat aminotransferaza **AST**

(ranije: glutamat oksalacetat transferaza GOT)

Alanin aminotransferaza **ALT**

(ranije: glutamat piruvat transaminaza GPT)

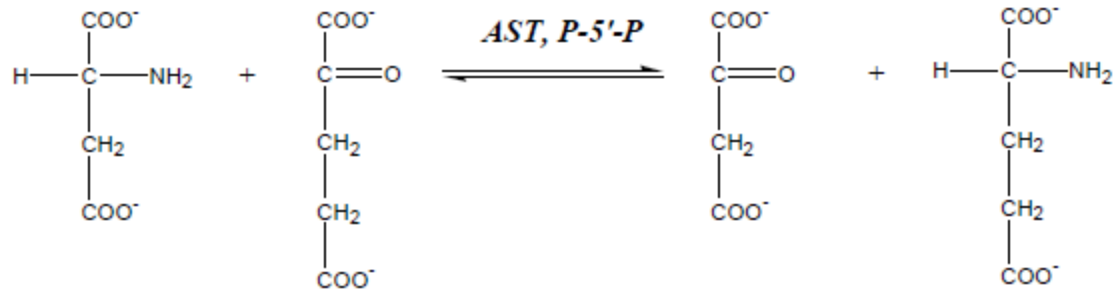


Piridoksal fosfat (PLP)

Koenzim transaminaza je piridoksal fosfat (PLP)

Aminotransferaze

AST i ALT katalizuju sljedeće biohemijske reakcije:

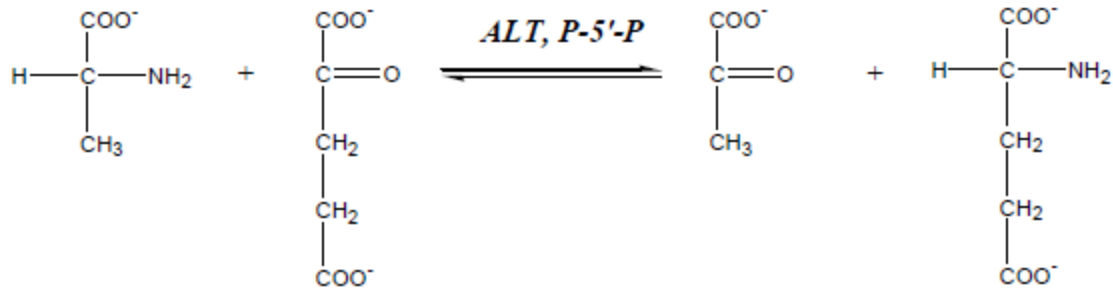


L-aspartat

2-oksoglutarat

oksalacetat

L-glutamat



L-alanin

2-oksoglutarat

piruvat

L-glutamat



Aminotransferaze

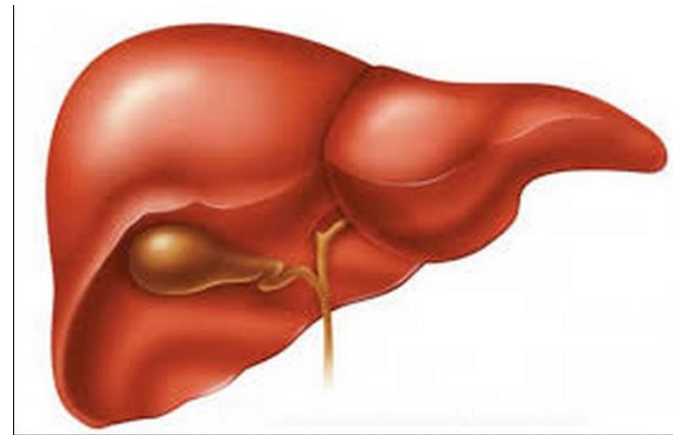
AST i ALT su normalno prisutne u:

- plazmi
- žuči
- cerebrospinalnoj tečnosti
- pljuvački

Nema ih u urinu, sem ako postoji lezija bubrega.

Povećanje aktivnosti AST i ALT postoje usljed:

- ✓ Oštećenja jetre
- ✓ Infektivne mononukleoze
- ✓ Akutnog infarkta miokarda
- ✓ Primjene nekih lijekova (statini!)



ALT – samo u citosolu

AST – i citosolna i mitohondrijalna

ALT i AST

De – Ritisov koeficijent = $\frac{\text{ALT}}{\text{AST}}$

AST (=GOT)



ALT (=GPT)



Normalno: <1

>1 = manje oštećenje hepatocita; obično reverzibilne promjene

<1 = veće oštećenje hepatocita; obično ireverzibilne promjene; oslobađanje mtAST

Visoka aktivnost AST u srčanom mišiću => AIM = visok porast aktivnosti AST

Porast: 6-8h

Pik: 18-48h

Normalizacija: 4-5 dana

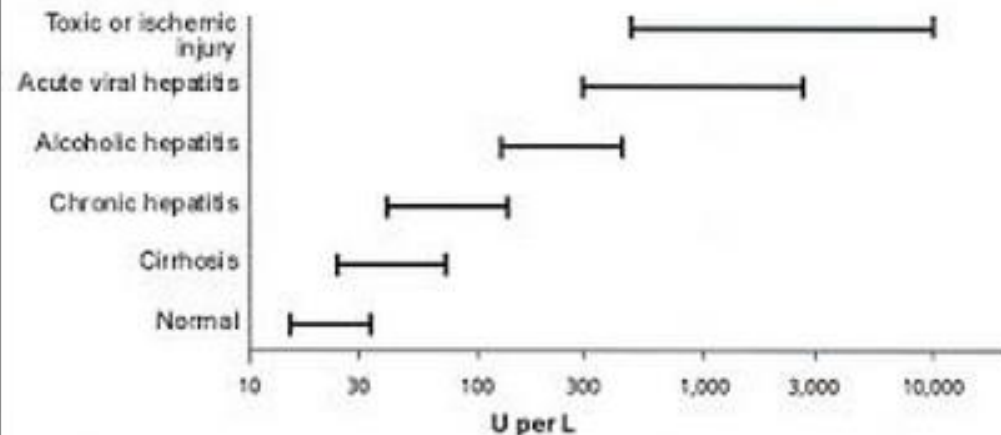
AST

Aktivnost AST (ponekad i ALT) u serumu će biti povećana usljed:

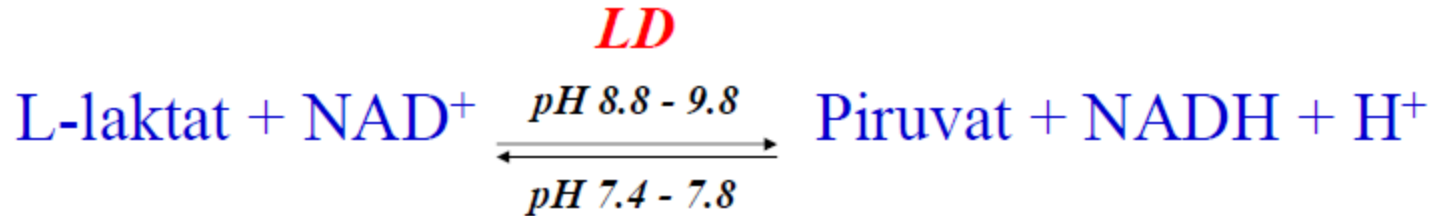
- nekih oboljenja mišića (npr. dermatomiozitis)
- plućnoj tromboemboliji
- akutnom pankreatitisu
- gangreni
- hemolitičkim bolestima
- „crush,, povredama mišića

Izoenzimi AST-a se mogu razdvojiti:

- elektroforezom
- imunohemijskim metodama
- hromatografijom
- diferencijalno – kinetičkim metodama



Laktat dehidrogenaza (LDH)



2 tipa subjedinica: **M** (ili A) i **H** (ili B) čija je struktura određena lokusima na hromozomima 11 i 12.

5 izoenzima

LDH-1 (HHHH; H_4)

LDH-2 (HHHM; H_3M)

LDH-3 (HHMM; H_2M_2)

LDH-4 (HMMM; HM_3)

LDH-5 (MMMM; M_4)

LDH je prisutna u svim ćelijama, i to u citosolu!

Laktat dehidrogenaza (LDH)

Različita je distribucija izoenzima u tkivima:

- Srčani mišić
 - Bubrezi
 - Eritrociti
- } LDH -1
LDH -2
- Jetra
 - Skeletni mišići
- } LDH -4
LDH -5
- Endokrine žlezde, slezina,
pluća, limfni čvorovi,
trombociti,
negravidni uterus
- } LDH -3

Laktat dehidrogenaza (LDH)

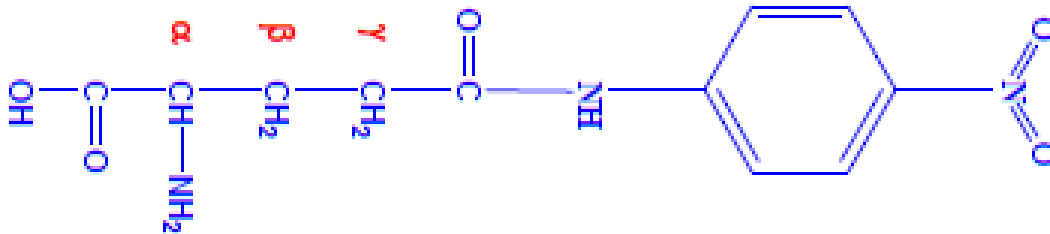
LDH nije tkivno specifičan enzim - ukupna aktivnost u serumu je povećana u velikom broju oboljenja.

Aktivnost **umereno** povećana :

- miokarditis
- srčana insuficijencija sa kongestijom jetre
- težak šok i anoksija
- hemoliza - profil promena izoenzima kao kod AIM
- megaloblastna anemija (50 puta u odnosu na gornju norm. vrednost)
- bolesti jetre
- bolesti bubrega
- maligne bolesti
- progresivna mišićna distrofija (LD-5)
- plućna embolija (LD -3)

Gama glutamil transferaza (GGT)

Katalizuje transfer **γ glutamil grupe** (sa peptida i jedinjenja koja ovu grupu sadrže) na neki akceptor. Djeluje samo na peptide i peptidima slična jedinjenja koja sadrže terminalni glutamil ostatak vezan za preostali dio jedinjenja preko terminalne γ – karboksilne grupe.



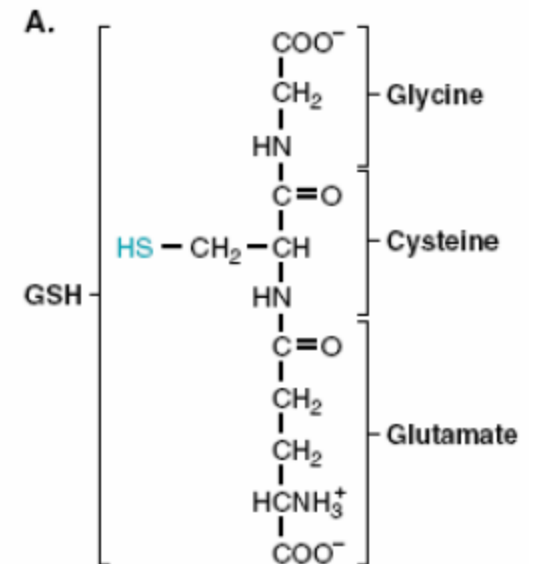
Gama glutamil transferaza (GGT)

GGT je prisutna u:

- serumu
- svim ćelijama (osim mišića)

Veća frakcija enzima je locirana u membranama, a manje frakcija se nalazi u citosolu!

GGT može učestvovati u nekim aspektima metabolizma glutationa!

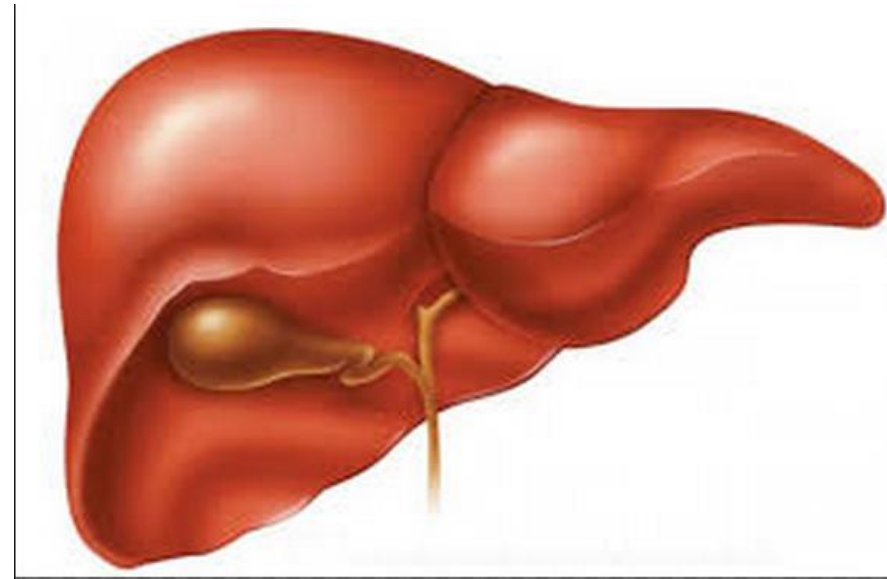


GGT

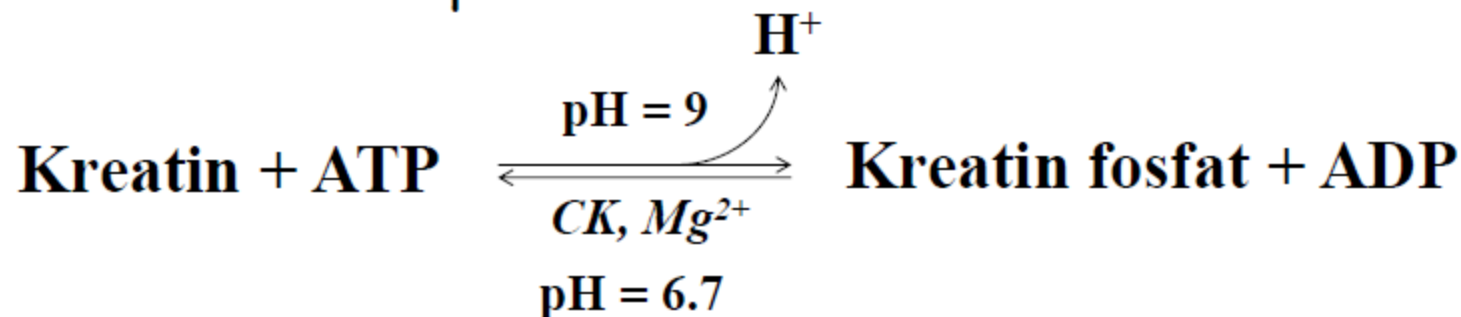
- GGT u serumu je primarno porijeklom iz hepatobilijarnog sistema.
- Najviši porast aktivnosti u slučajevima:
 - ▣ Intrahepatične holestaze
 - ▣ Ekstrahepatične holestaze
 - ▣ Primarnih i sekundarnih tumora
- ▣ Senzitivnija od ALP i transaminaza u detekciji opstruktivne žutice!

GGT

- Umjereni porast u slučajevima:
 - Infektivnog hepatitisa
 - Masne jetre
 - Intoksikacije lijekovima
 - ALKOHOLIZAM
 - Alkoholna ciroza ...
 - Akutni pankreatitis
 - Karcinomi pankreasa
 - Tumori prostate...



Kreatin kinaza (CK)



Dimer građen od dvije subjedinice:

B (brain) i **M** (muscle)

Prema tome, ima **3 izoenzima**:

BB (CK-1) **MB** (CK-2) **MM** (CK-3)

Izoenzimi su označeni na osnovu elektroforetske pokretljivosti (CK-1, CK-2 i CK-3), tako da forma koja se kreće najbrže ka anodi ima najmanji broj.

Otkriven je i **četvrti izoenzim MiMi** – između spoljašnje i unutrašnje membrane mitohondija u miokardu i skeletnim mišićima.

Kreatin kinaza (CK)

- Najviša aktivnost nađena u:
 - ▣ Poprečno – prugastim mišićima
 - ▣ Srcu
 - ▣ Mozgu

Aktivnost u jetri je praktično nemjerljiva.

Prema tome, aktivnost CK će biti povećana u oboljenjima:

- ▣ Skeletnih mišića (miš. distrofija; virusni miozitis, polimiozitis i sl.)
- ▣ Srca (AIM, miokarditis, perikarditis i sl.)
- ▣ CNS-a (Reyeov sy, trauma glave, SAH, i sl.)
- ▣ Štitaste žlezde (hipotireoidizam – povećanje od 5x do 50x)

CK – akutni infarkt miokarda

- **Najznačajnije povećanje aktivnosti CK-2**
- **Aktivnost se povećava 3 - 8 sati** (6 sati najčešće) od nastanka bola u grudima
- **Maksimum** posle **10 - 24 sata** (20 sati najčešće)
- **Normalizacija** nivoa posle **3 - 4 dana** (obično 4)

Poluživot CK-2 - 12.5 sati tako da je određivanje značajno u prvih 48 sati od sumnje na infarkt.

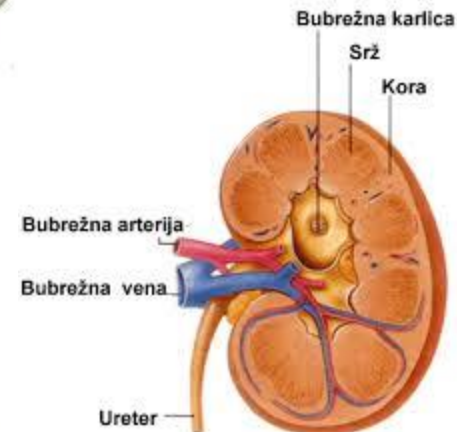
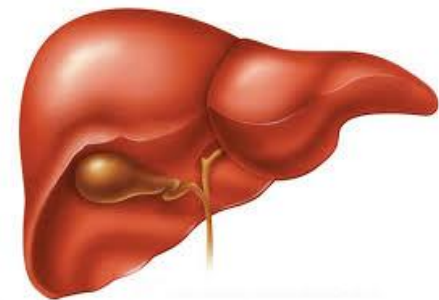
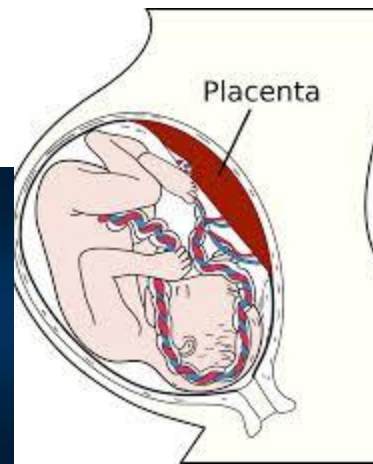
Određivanje je značajno za **ranu dijagnozu infarkta**, utvrđivanje njegove **veličine** i posebno u **ranoj detekciji re-infarkta**.

CK – akutni infarkt miokarda

- Aktivnost CK iznad 160 U/L (određena CK-NAC akt. metodom) i CK-2 koji prelazi 6% ukupne aktivnosti ukazuju da postoji sumnja na infarkt miokarda.
- Kod ostalih oboljenja koja povećavaju aktivnost CK-2 (zapaljenja mišića, neurohirurške i abdominalne operacije, oboljenja tireoideje, nakon koronarne angiografije, kateterizacije itd.) aktivnost CK-2 može biti povećana ali ne prelazi 6 % ukupne aktivnosti CK.

Alkalna fosfataza (ALP)

- Katalizuje alkalnu hidrolizu estarske veze fosforne kiseline na velikom broju prirodnih i vještačkih supstrata.
- Nalazi se u svim ćelijama u tijelu, posebno **na ili u membranama**.
- Visoku aktivnost ALP pokazuje u:
 - ▣ intestinalnom epitelu
 - ▣ kanalima bubrega
 - ▣ kostima (osteoblasti)
 - ▣ jetri
 - ▣ placenti



Alkalna fosfataza (ALP)

□ Govorimo o **5 izoenzima** alkalne fosfataze:

□ Tkivno nespecifični (bubrezi, jetra, kosti...)

□ Placentalni

□ Placentalni slični

□ Intestinalni

□ Tumorski

Iako metabolička funkcija nije u potpunosti poznata, izgleda da je enzim povezan sa:

□ transportom lipida u crijevima

□ procesom kalcifikacije u kostima

Alkalna fosfataza (ALP)

Mg^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} - aktivatori

Zn^{2+} - ulazi u sastav enzima

Potreban je adekvatan odnos Mg^{2+}/Zn^{2+}

Enzim u **serumu** je porijeklom iz:

- **Jetre** (uglavnom)
- **Kostiju** (do $\frac{1}{2}$ aktivnosti)
- **Crijeva** (vrlo mala aktivnost)

Enzim u **urinu** je porijeklom iz bubrežnog tkiva (ali nije dio serumskog enzima koji se filtrira)

Alkalna fosfataza – klinički značaj

- Fiziološki uslovi u kojima je povećana aktivnost ALP:
 - ▣ Intenzivan rast dugih kostiju (djeca)
 - ▣ Zarastanje preloma dugih kostiju
 - ▣ Trudnoća (naročito posljednji trimestar)



Alkalna fosfataza – klinički značaj

Mjerenje aktivnosti ALP ima za cilj detekciju 2 grupe oboljenja:

- ▣ Oboljenja jetre i žučnih puteva (holestaza!)
- ▣ Oboljenja kostiju povezana sa osteoblastnom aktivnosti

▣ Holestaza

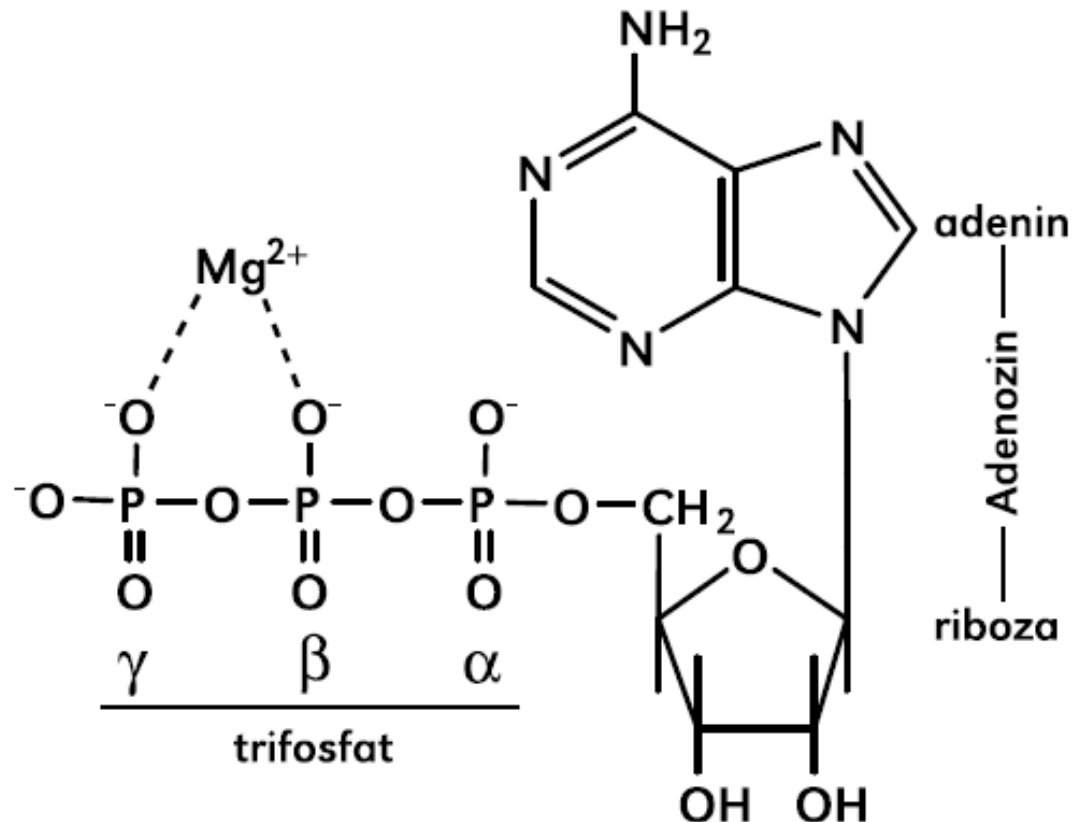
- ▣ Odgovor jetre na holestazu je indukcija sinteze ALP!
 - Intrahepatička holestaza (npr. invazija Ca)
 - Ekstrahepatička holestaza (npr. karcinom glave pankreasa)

Alkalna fosfataza – klinički značaj

- Bolesti kostiju
 - ▣ Pagetova bolest
 - ▣ Rahitis
 - ▣ Osteomalacija
 - ▣ Osteogeni tumori kostiju
 - ▣ Primarni i sekundarni hiperPTH



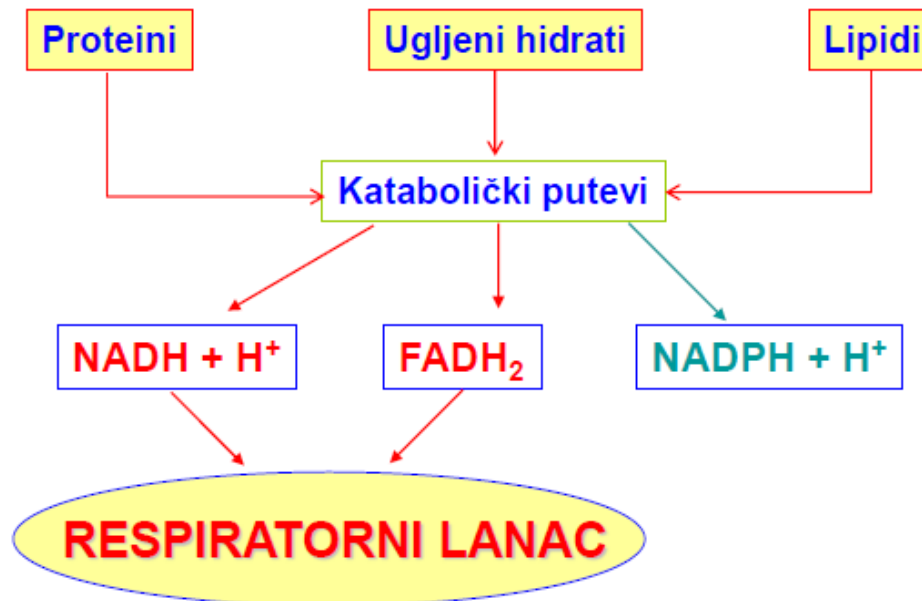
ADENOZIN-TRIFOSFAT (ATP)



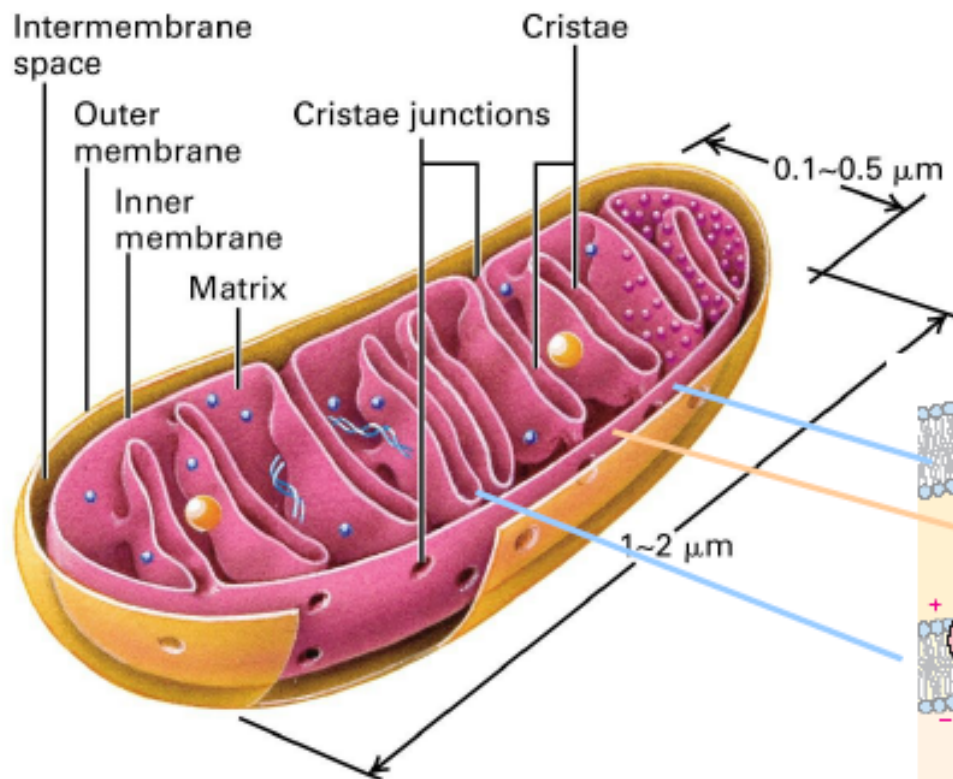
ATP je univerzalni energetska "novac" u ćeliji. Hemijska energija sadržana u njegovim visokoenergetskim vezama može se prevesti u druge oblike energije.

Kako se sintetiše ATP?

- Oksidativnom fosforilacijom – u mitohondrijama (respiratorni lanac)
 - ▣ Odigrava se redukcija O_2 do H_2O
 - ▣ Donori elektrona su $NADH$ i $FADH_2$
- Fosforilacijom na nivou supstrata

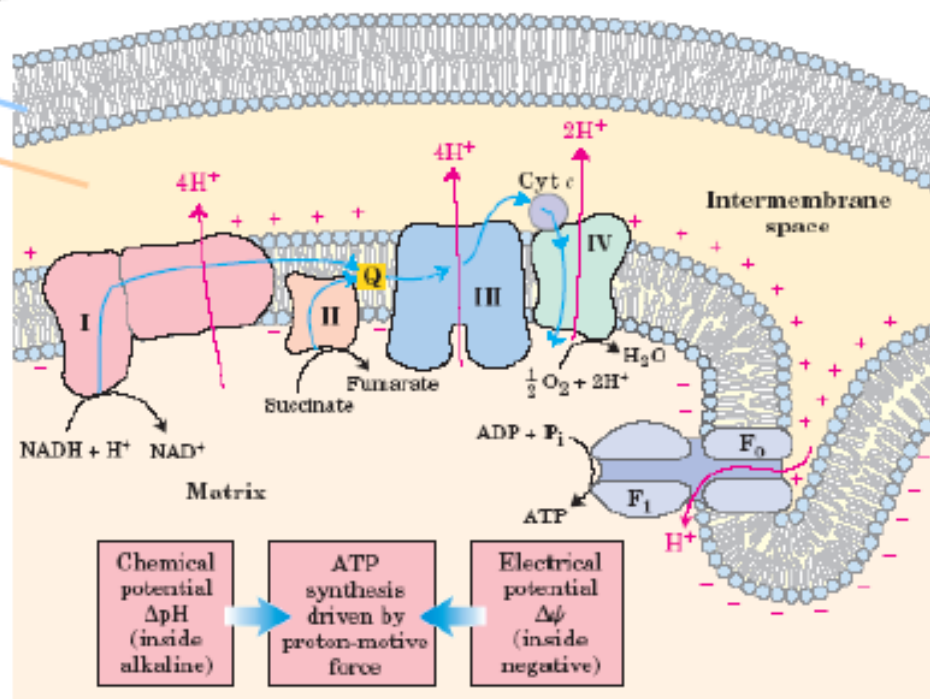


Oksidativna fosforilacija se odvija u mitohondrijama

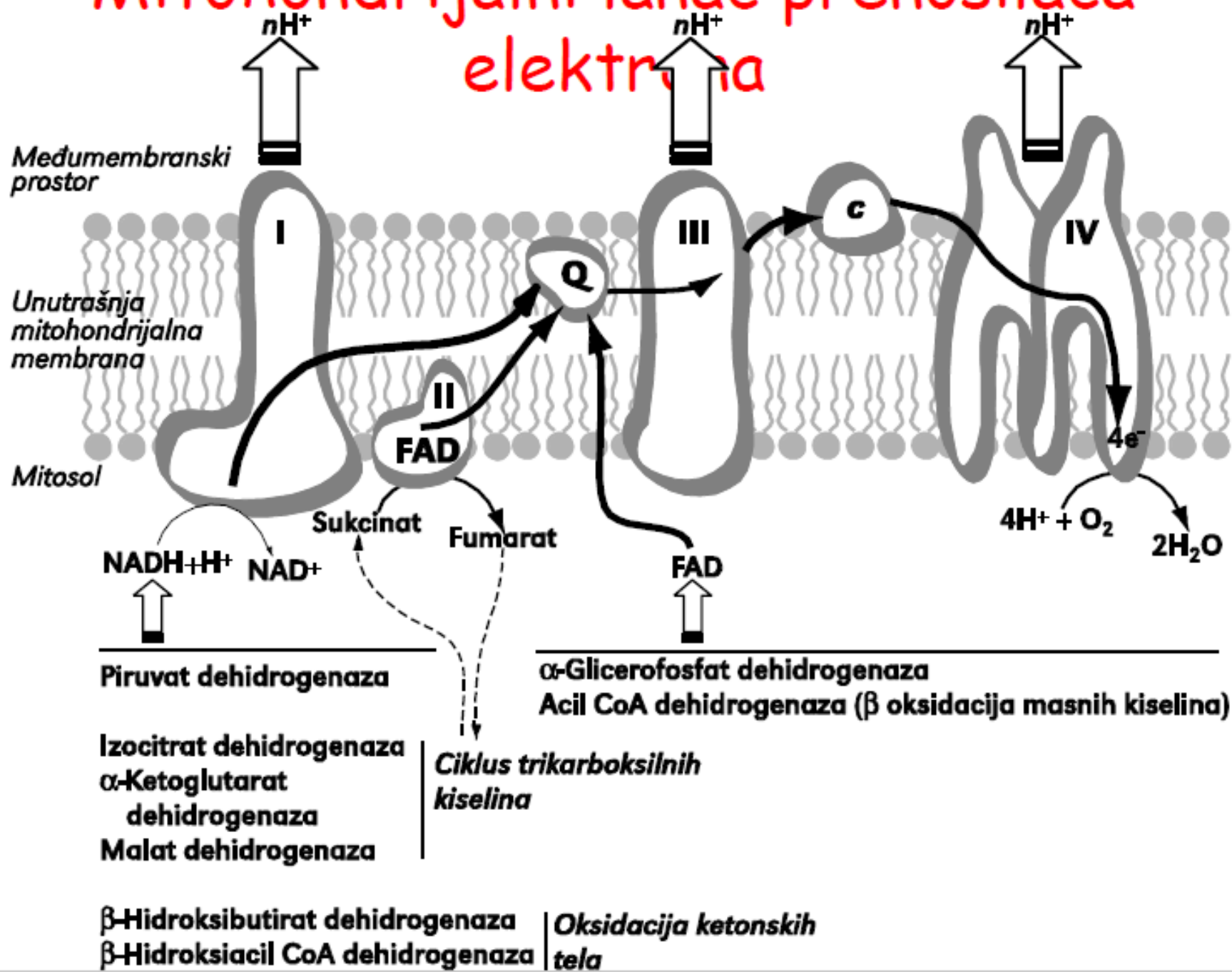


• **Respiratorni lanac** mitohondrija se sastoji od serije nosača elektrona koji deluju sekvencijalno

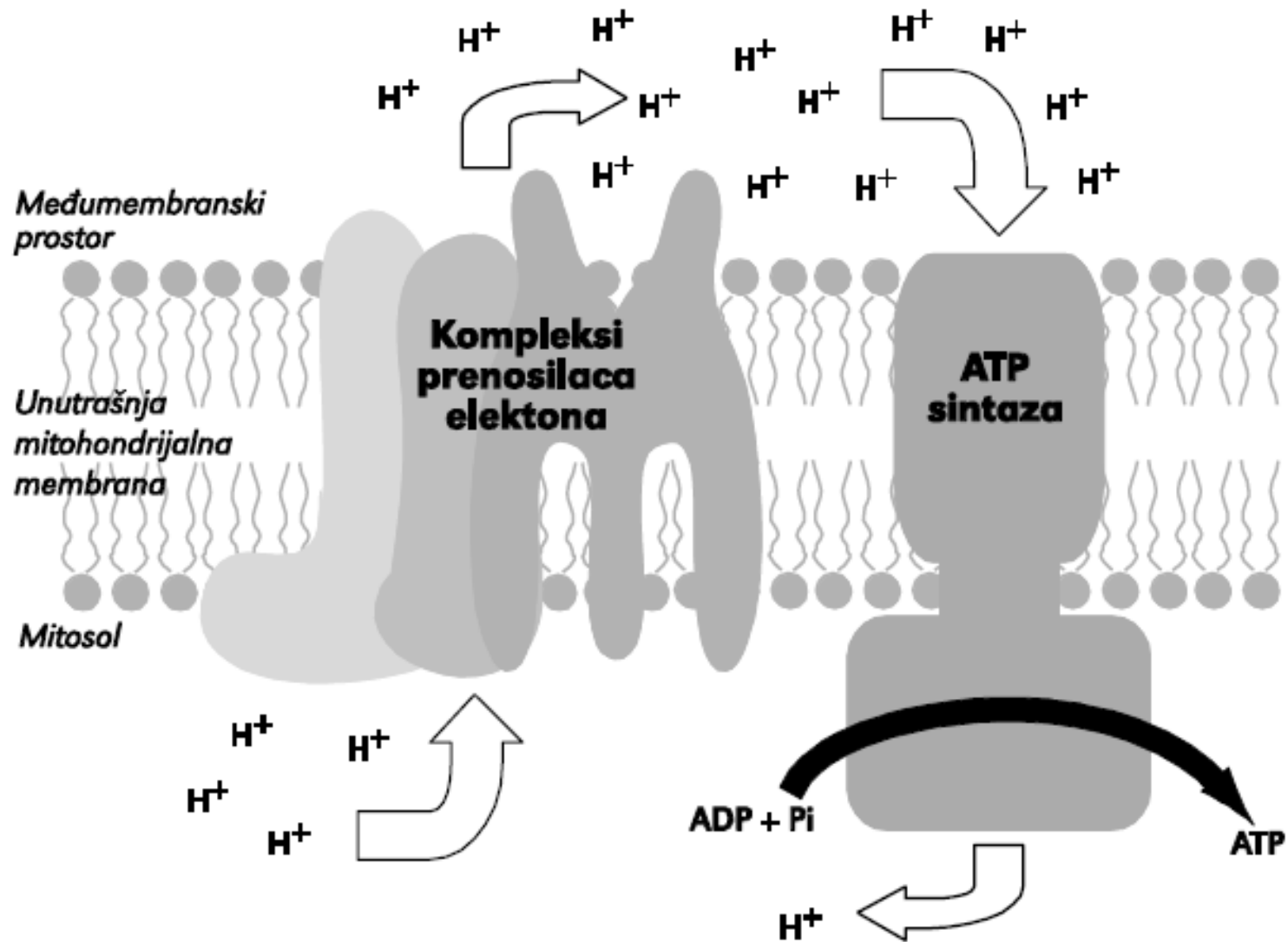
• Najveći broj ovih nosača su **integralni proteini membrane** čije prostetične grupe mogu primiti ili davati jedan ili dva elektrona



Mitohondrijalni lanac prenosilaca elektrona



Translokaciju protona vrše kompleksi respiratornog lanca, a sintezu ATP-a ATP sintaza

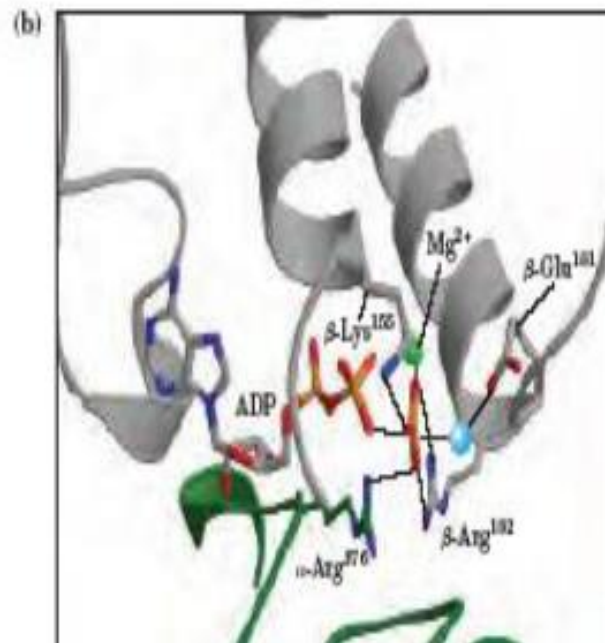


Oksidativna fosforilacija - Sinteza ATP-a

Pri prolasku para elektrona kroz respiratorni lanac dolazi do prevacivanja 10 H^+ iz matriksa u međumembranski prostor

Za sintezu jednog molekula ATP-a potrebno je da kroz protonski kanal prođe 4 H^+ .

- NADH - 10 protona 2.5 ATP
- FADH_2 - 6 protona 1.5 ATP

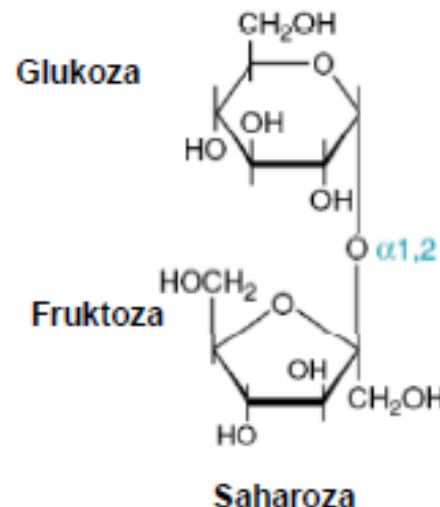
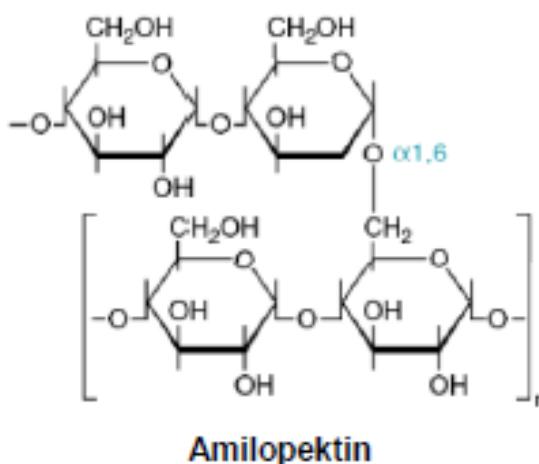
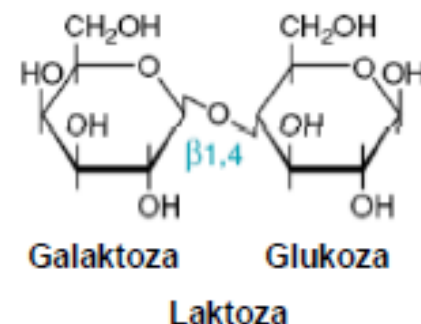
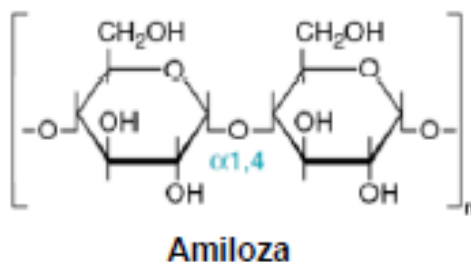


A horizontal decorative bar at the top of the slide, consisting of a red rectangular section on the left and a teal rectangular section on the right.

METABOLIZAM UGLJENIH HIDRATA

Unos materija u organizam - ugljeni hidrati

- Najzastupljenije hranljive materije u ishrani (skrob, saharoza, laktoza)
- Varenje ugljenih hidrata podrazumeva hidrolizu glikozidnih veza kojima su povezani molekuli monosaharida



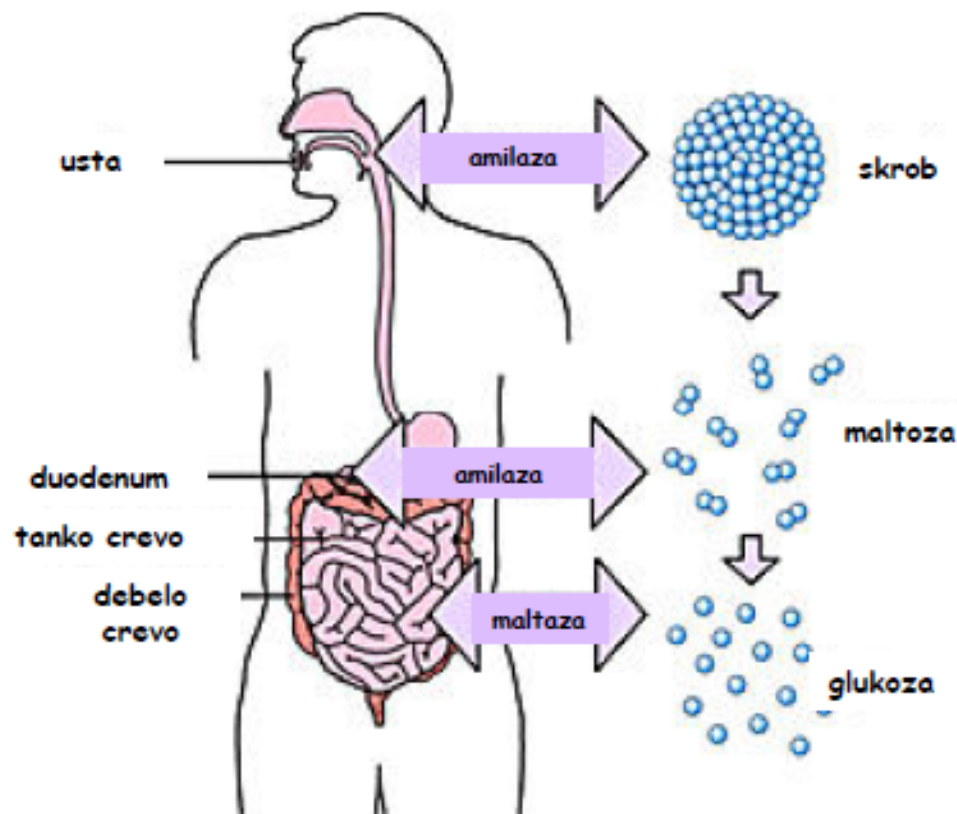
Varenje UH započinje u usnoj duplji (pljuvačna α -amilaza)

Pod dejstvom pankreasne amilaze skrob se razlaže do graničnih dekstrina, maltoze i maltotrioze

Dalja razgradnja se odvija pod dejstvom disaharidaza vezanih za površinu membrane mikrovila ćelija tankog creva.

Monosaharidi dobijeni dejstvom ovih hidrolaza se prenose u ćelije epitela tankog creva Na^+ -zavisnim aktivnom transportom i olakšanom difuzijom

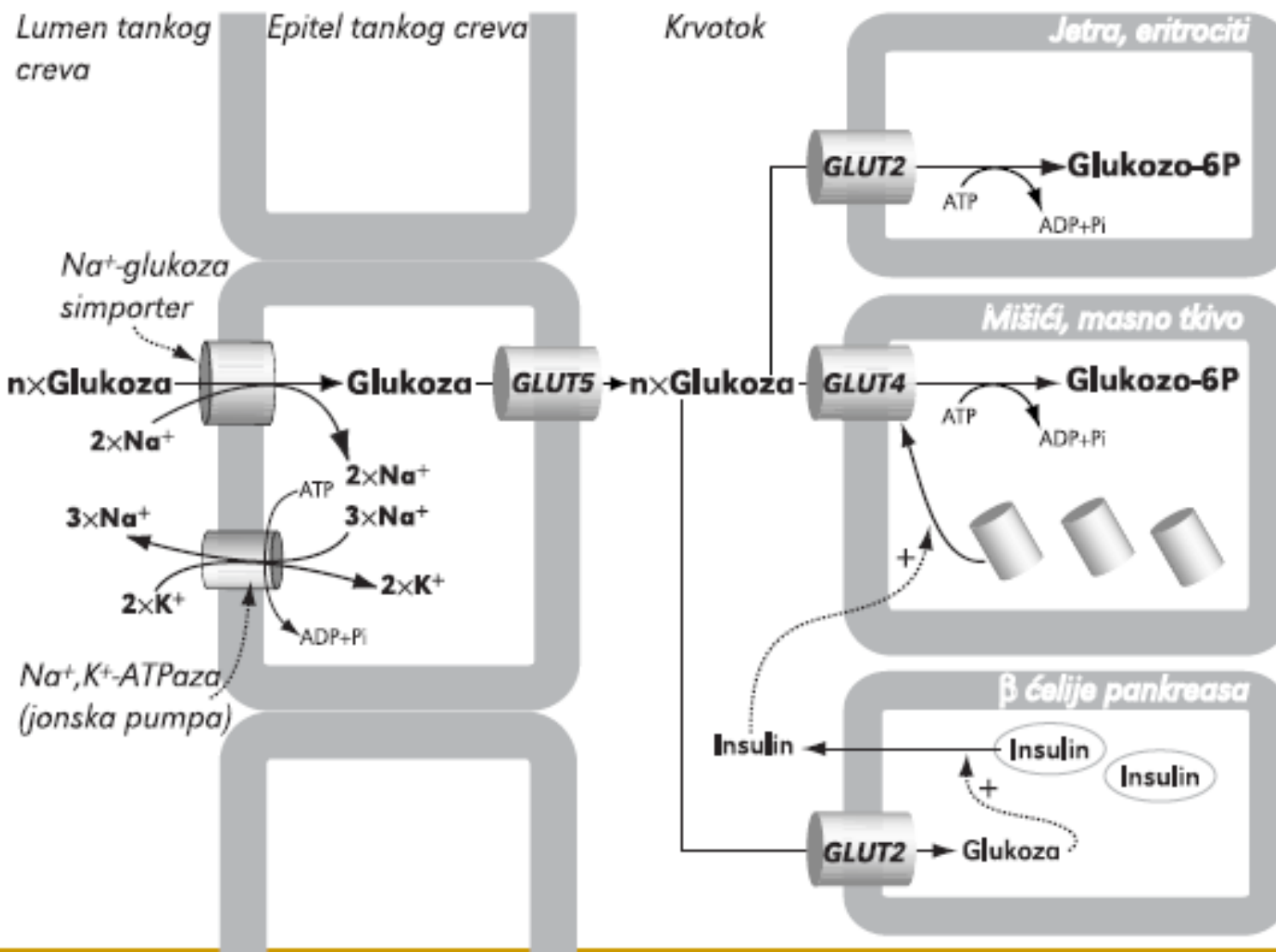
Ne postoje enzimi za varenje polisaharida u dijetnim vlaknima. Delimično ih razgrađuju bakterije u debelom crevu, pri čemu nastaju gasovi.



Apsorpcija šećera

- Nakon razgradnje do monosaharida, glukoza i ostali monosaharidi se transportuju u ćelije tankog creva, a potom u krv.
 - Da bi se prenela kroz ćelijsku membranu, glukoza se vezuje za transportne proteine (GLUT) - transmembranski proteini koji vezuju molekul glukoze na jednoj strani membrane i otpuštaju ga na suprotnoj.
 - Postoje dva tipa prenosilaca za glukozu: **Na⁺-zavisni** prenosiooci za glukozu i prenosiooci koji glukozu transportuju mehanizmom **olakšane difuzije**.
 - Na epitelnim ćelijama tankog creva Na⁺-zavisni prenosiooci za glukozu se nalaze na luminalnoj membrani, dok su na abluminalnoj smešteni transportni proteini koji obavljaju prenos glukoze mehanizmom olakšane difuzije
-

Transportni proteini za glukozu (GLUT)

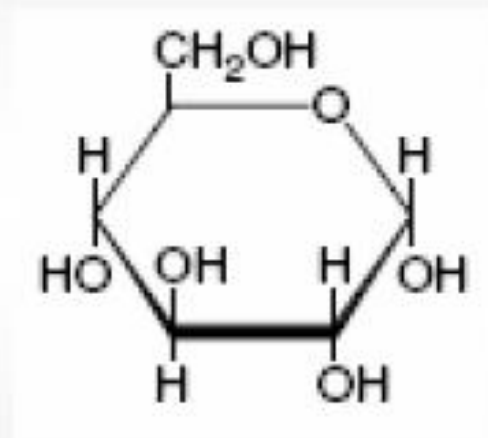


Distribucija GLUT transportera

Transporter	Distribucija u tkivima	Komentar
GLUT 1	Eritrociti Krvno-moždana barijera (i barijere prema placenti, oku i testisu)	Prisutan u ćelijama koje imaju ulogu barijere Visok afinitet
GLUT 2	Jetra Bubreg β -ćelije pankreasa Serozna strana ćelija intestinalne mukoze	Veliki kapacitet, mali afinitet U pankreasu može da deluje kao senzor za glukozu
GLUT 3	Mozak (neuroni)	Visok afinitet
GLUT 4	Masno tkivo Skeletni mišići Srčani mišić	Zavisi od insulina (u njegovom prisustvu povećava se broj GLUT 4 na površini ćelije) Visok afinitet
GLUT 5	Intestinalni epitel spermatozoa	Transporter prevashodno za fruktozu

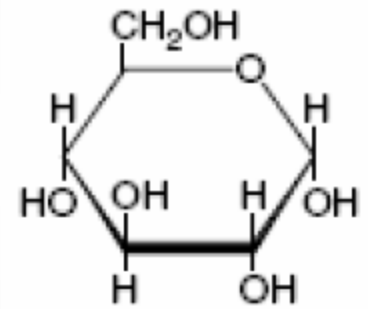
Glikoliza

- Ugljeni hidrati
 - 50% i više kalorija u ishrani
- **Glukoza** zauzima centralno mesto u metabolizmu biljaka, životinja i mnogih mikroorganizama.
- Relativno je bogata u potencijalnoj energiji, dobro je gorivo.
- Kompletna oksidacija glukoze do CO_2 i vode se odvija sa promenom standardne slobodne energije od - 2,840 kJ/mol.
- U ćelijama glukoza se skladišti u vidu **glikogena** (unutrašnja rezerva glukoze)

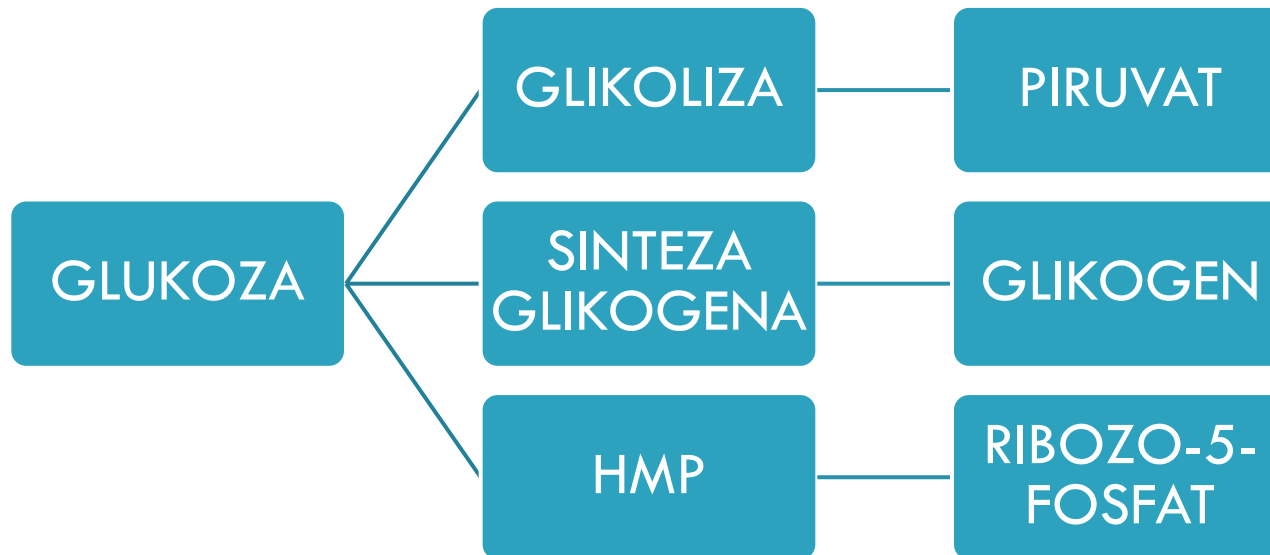


Glukoza

Glukoza

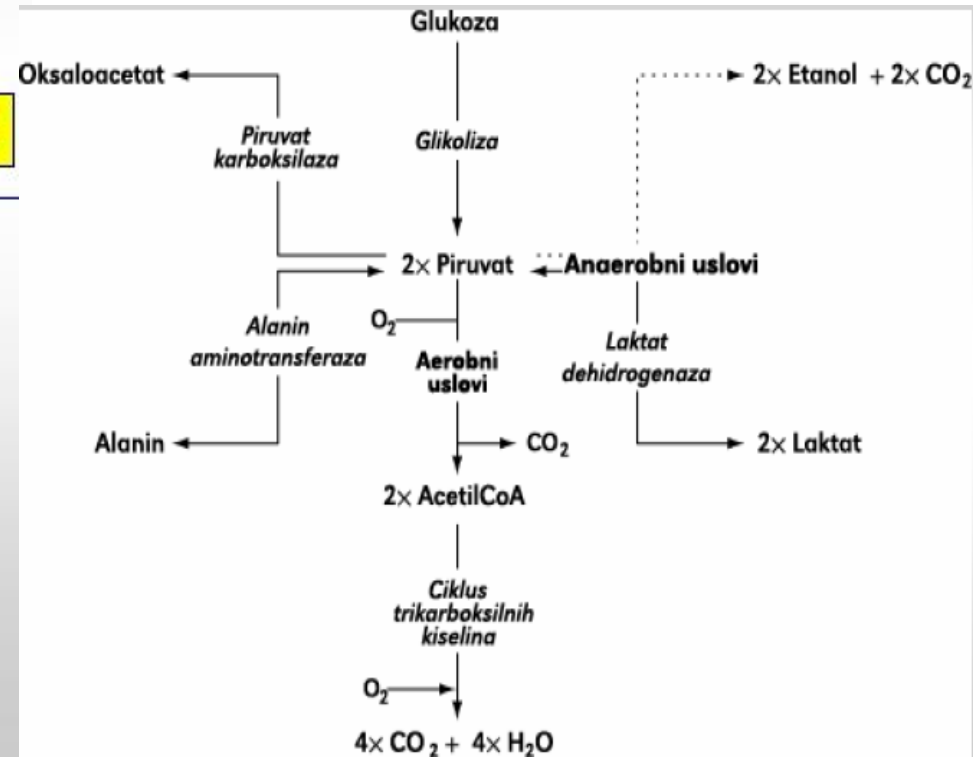
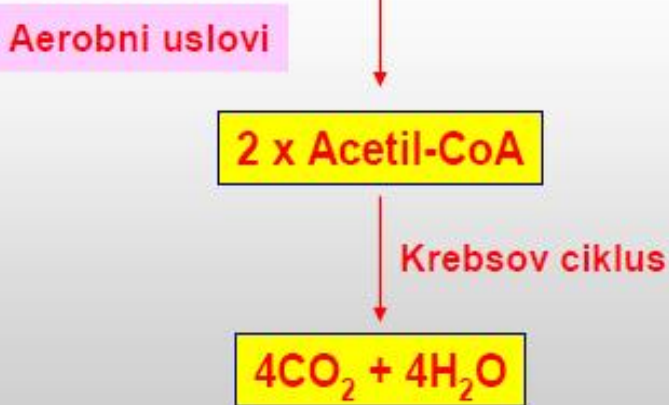


Šema metaboličkih puteva glukoze

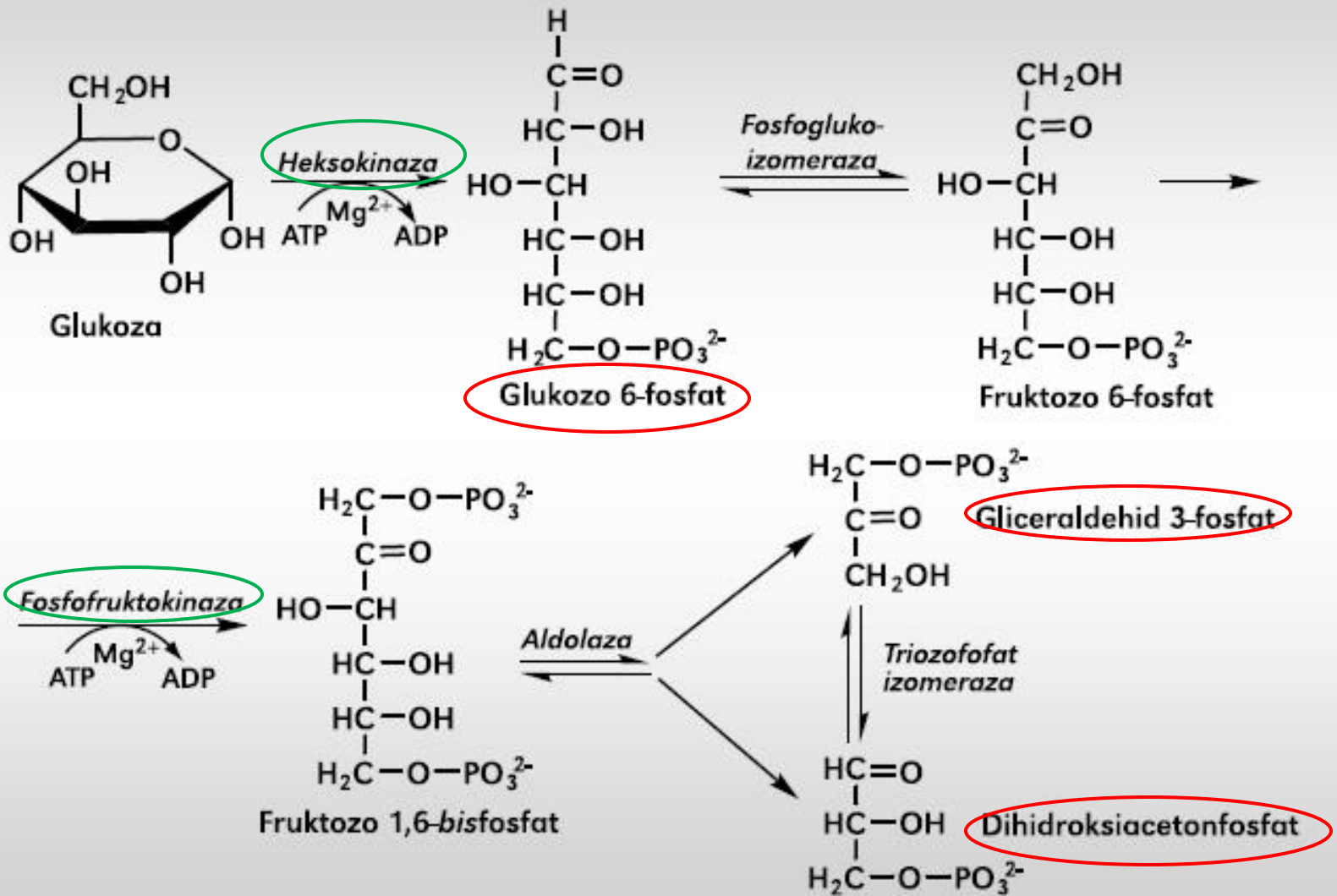


Glikoliza

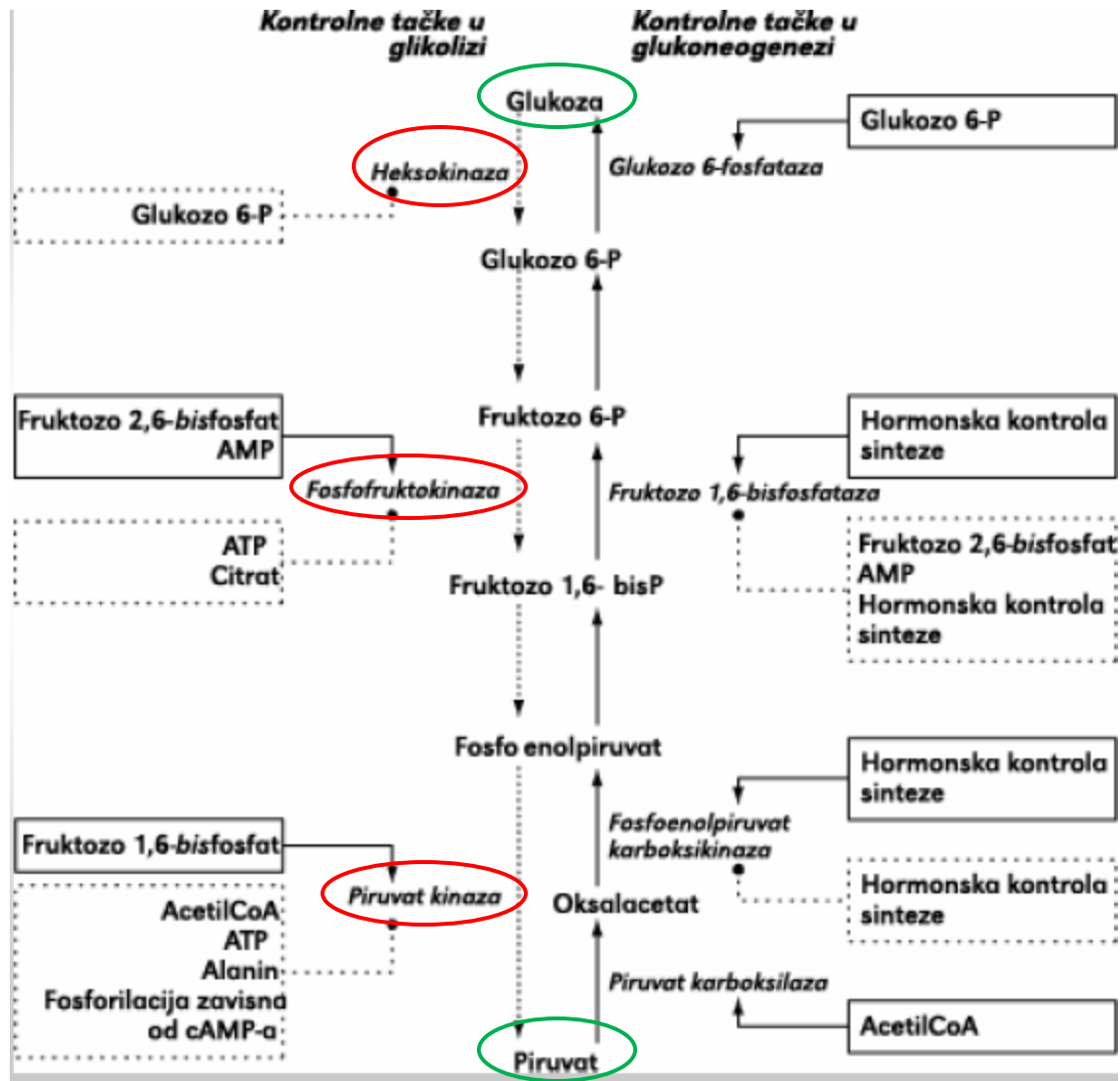
Jedan od glavnih puteva za dobijanje ATP-a.
Odvija se u svim ćelijama.
Odvija se u citosolu.
Može se odvijati i u aerobnim i u anaerobnim uslovima.



Glikoliza – pripremna faza

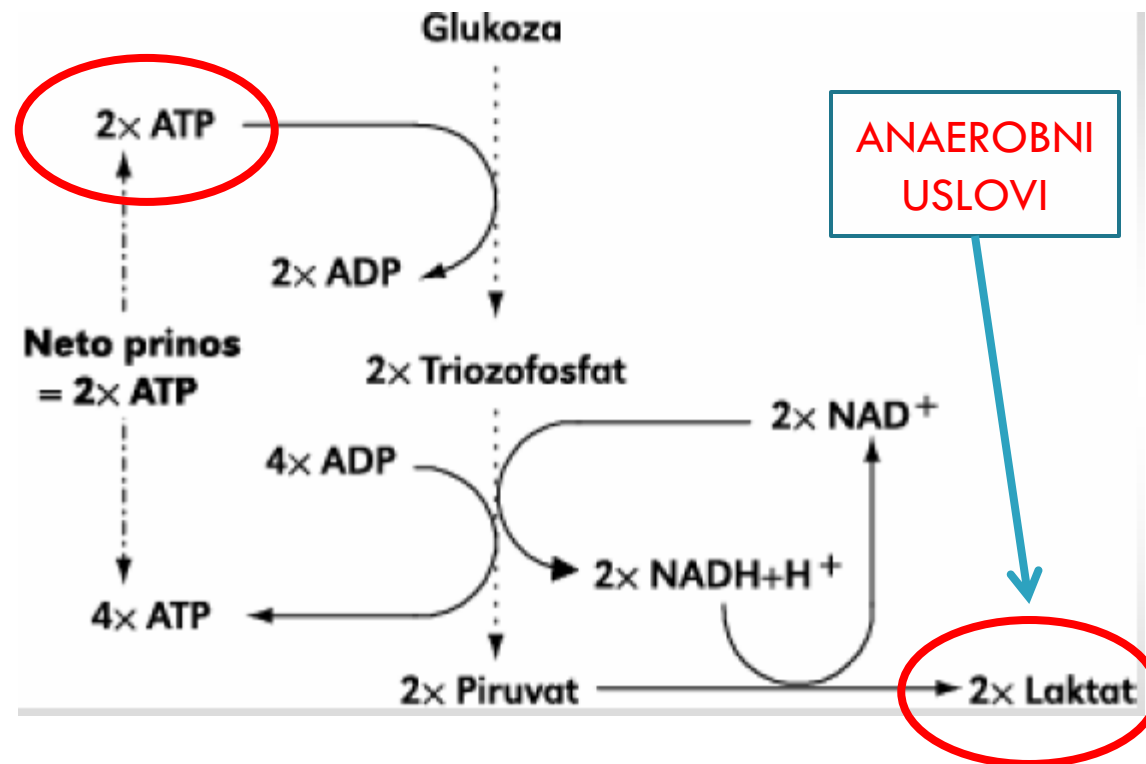


Glikoliza – regulacija



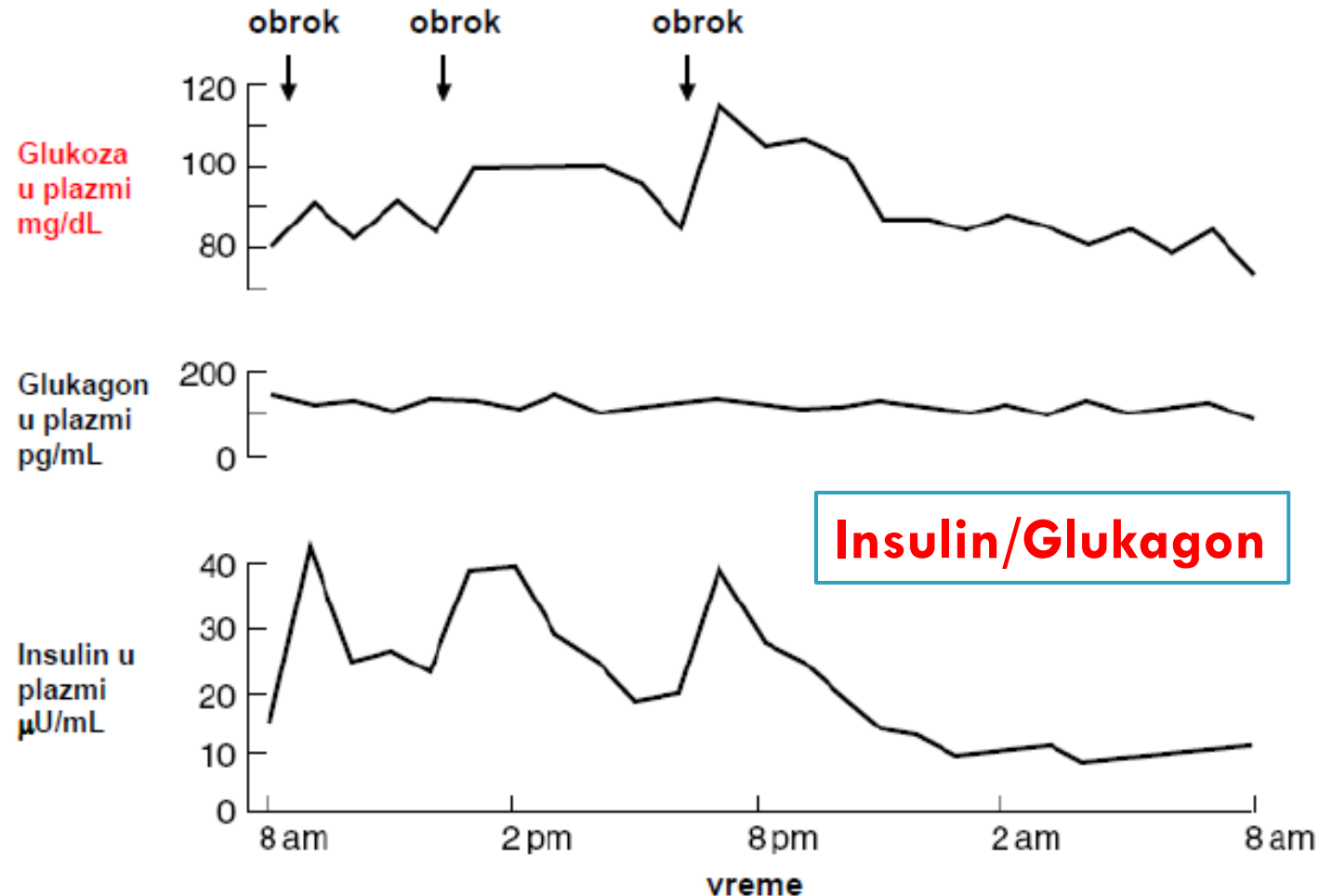
Glikoliza - regulacija

- Regulatorni enzimi glikolize
 - ▣ Heksokinaza
 - ▣ Fosfofruktokinaza-1
 - ▣ Piruvat kinaza



Glukoza – regulacija

Normoglikemija:
3,0-6,0 mmol/L



Glukoza – regulacija

Normoglikemija:
3,0-6,0 mmol/L

<3,0 mmol/L = hipoglikemija

>6,0 mmol/L = hiperglikemija

6,0-7,8 mmol/L našte = latentna hiperglikemija

>7,8 mmol/L našte = Dijabetes mellitus

>10,0 mmol/L = izlučivanje glukoze urinom

>11,0 mmol/L bilo kad u toku dana = dijabetes mellitus

Dijabetes mellitus



TOGETHER WE CAN
STOP
DIABETES

DM tip 1 = insulin zavisni

**NEDOVOLJNA KOLIČINA ILI NEDOSTATAK
INSULINA**

ETIOLOGIJA:

oštećenje pankreasa,
autoimunski procesi,
stvaranje nenormalnih produkata
 β -ćelija Langerhansovih ćelija

KLINIČKI:

POLIDIPSIJA

POLIFAGIJA

POLIURIJA

ZADAH NA ACETON

DM tip 2 = insulin nezavisni

INSULIN SE DOVOLJNO LUČI, ali:

**1) Postoji insulinska rezistencija (periferna
rezistencija na insulin) ili**

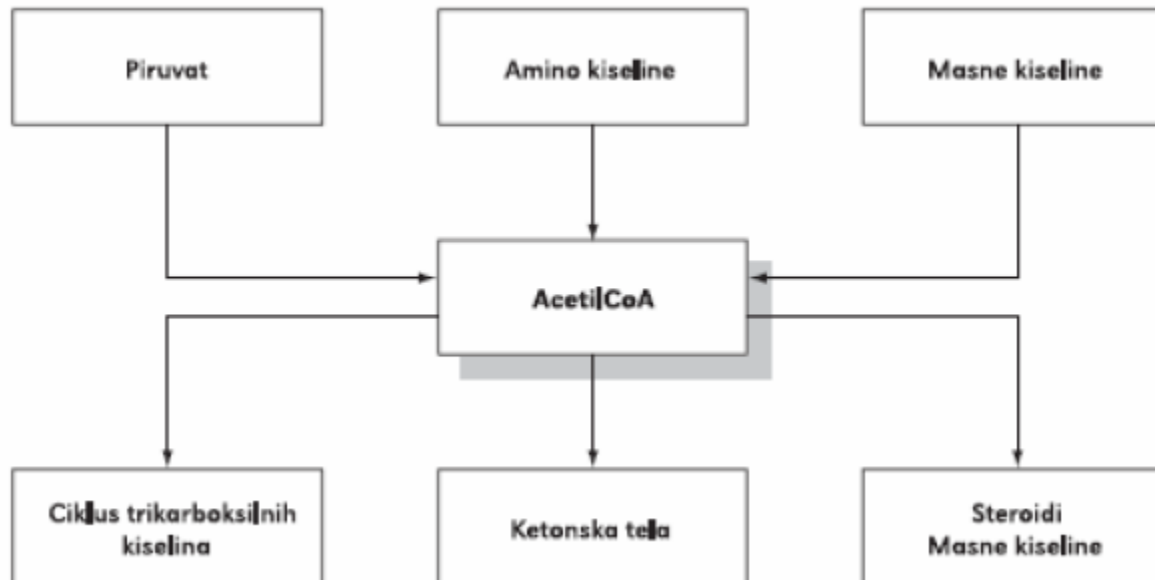
**2) Postoje u cirkulaciji antagonisti insulina
(hormon rasta, glukagon, antitijela na insulin
i sl.)**

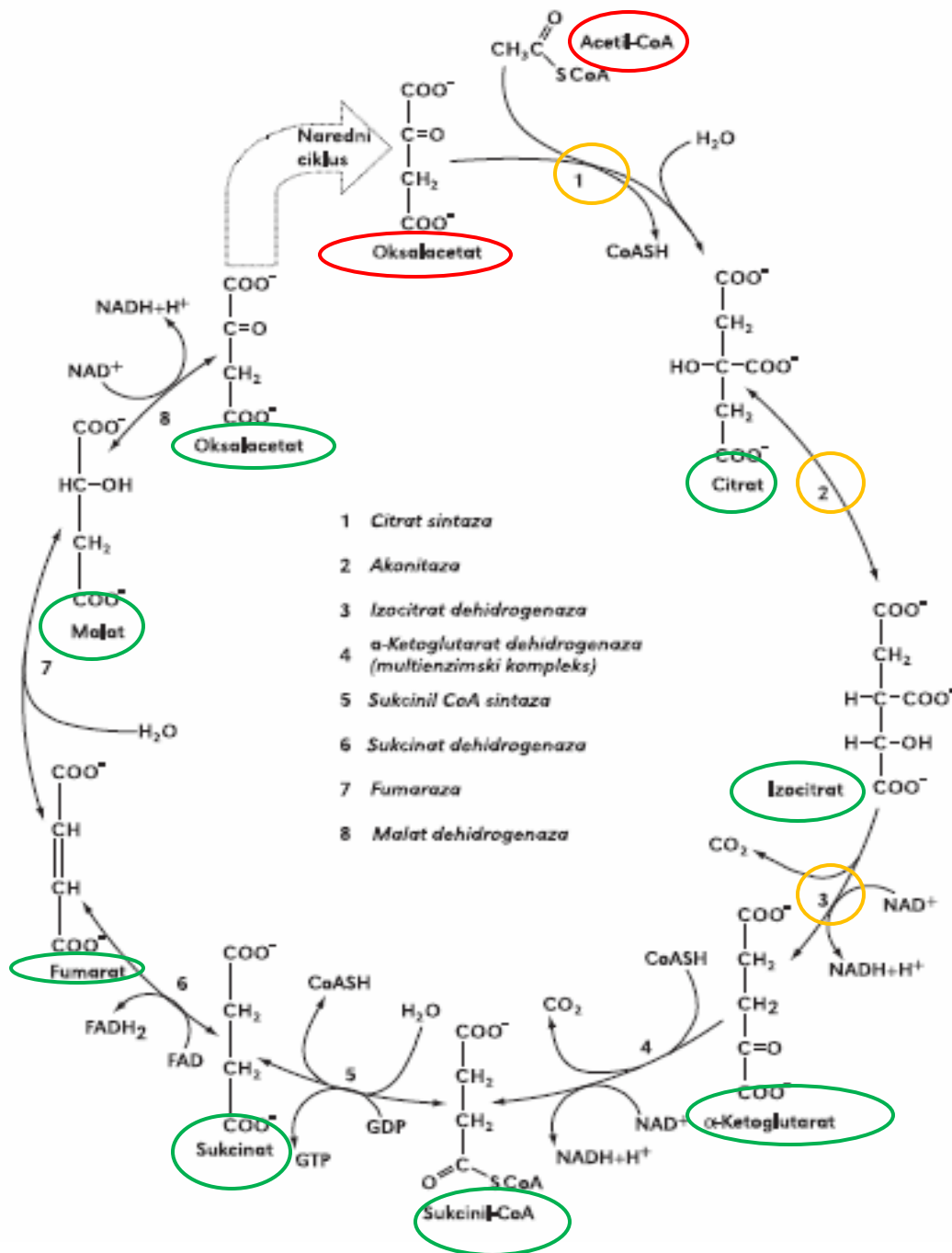
KOMPLIKACIJE:

**MAKRO I MIKRO ANGIOPATIJE;
NEENZIMSKA GLIKOZILACIJA PROTEINA
HbA_{1C}**

Ciklus trikarbonskih kiselina

- Ciklus trikarbonskih kiselina = Krebsov ciklus = Ciklus limunske kiseline
- Sav nastali piruvat se prevodi u acetil-CoA (dejstvom piruvat-dehidrogenaze) koji potom ulazi u Krebsov ciklus

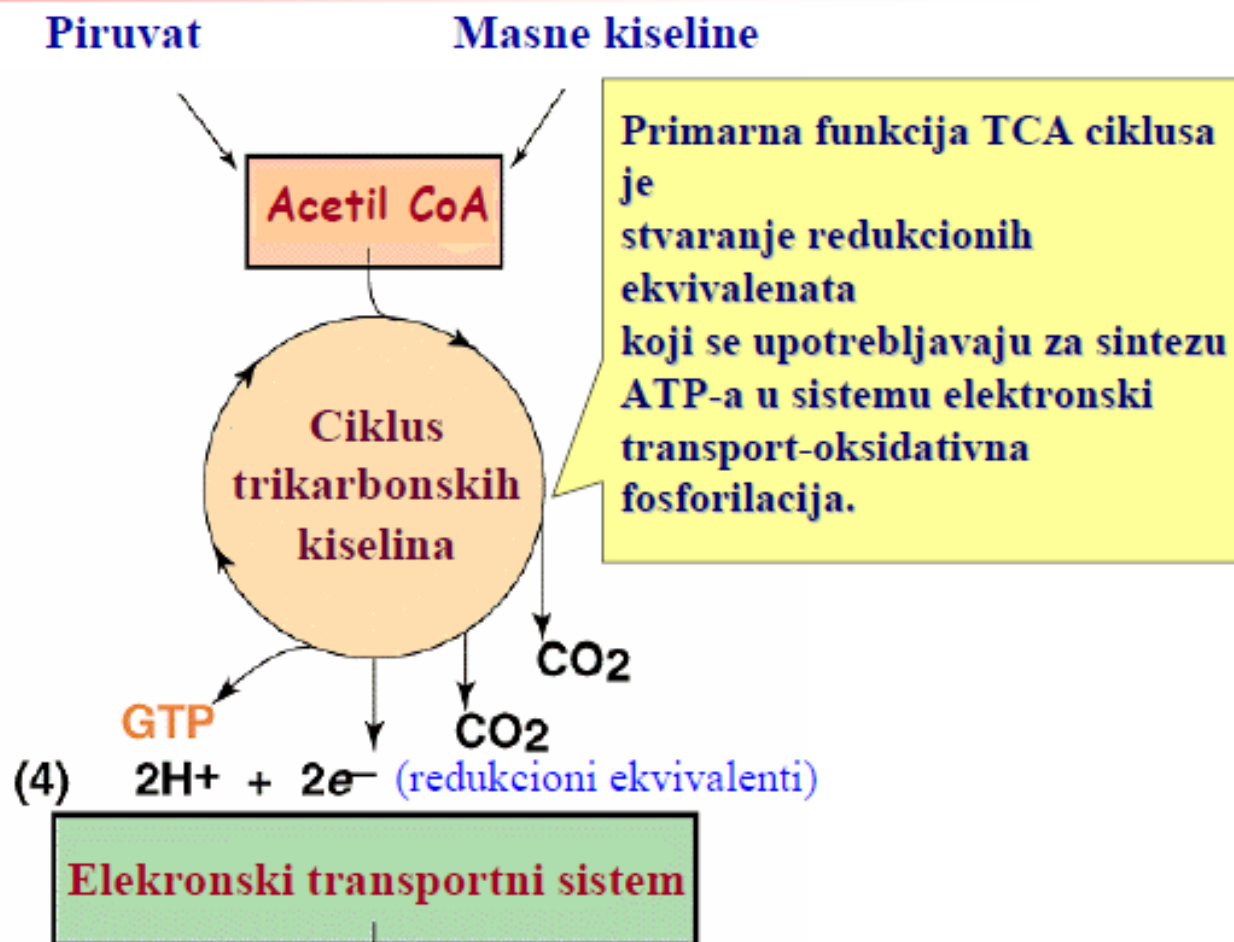




REGULATORNI ENZIMI SU:

1. CITRAT SINTAZA
2. IZOCITRAT DEHIDROGENAZA
3. α -KETOGLUTARAT DEHIDROGENAZA

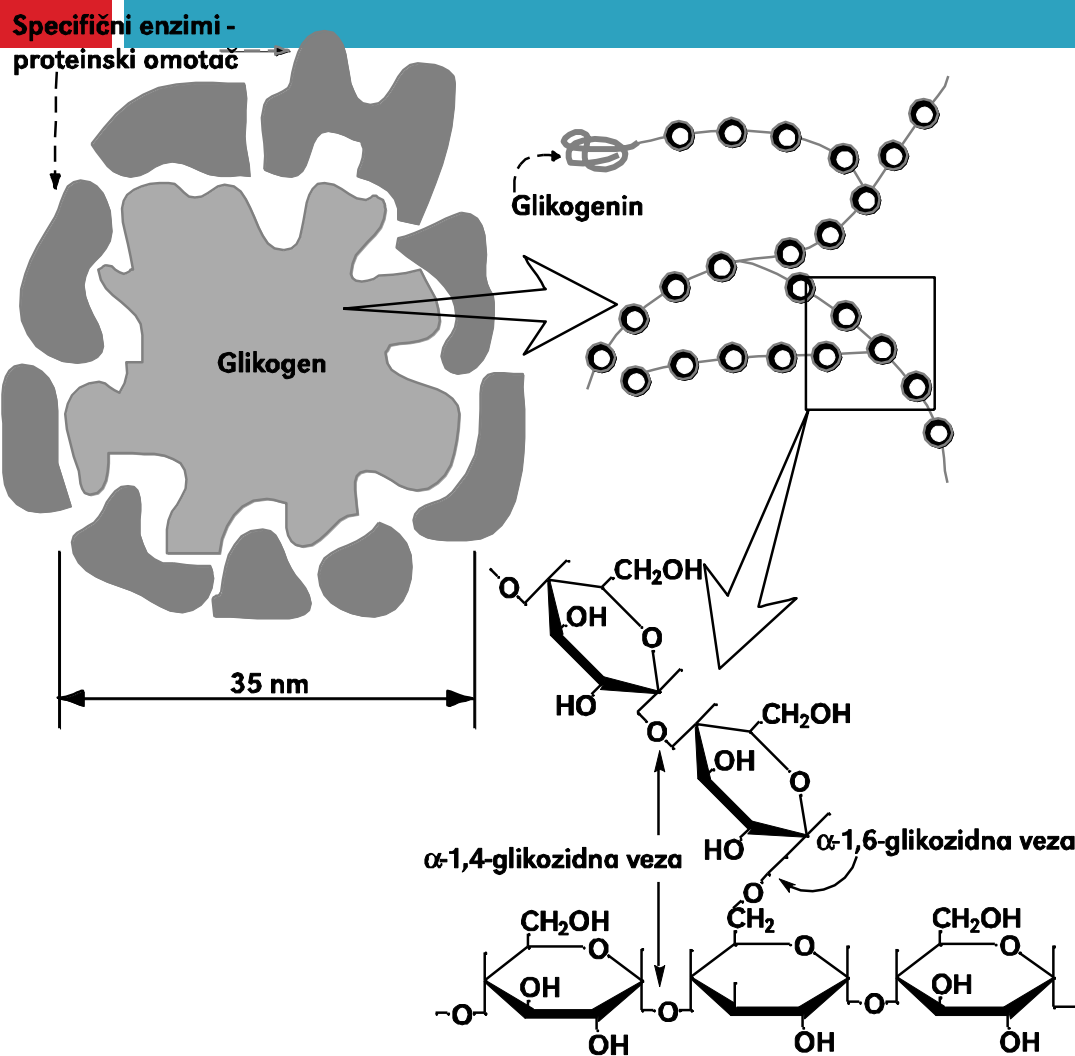
Ciklus trikarbonskih kiselina



Glikogen

- Glikogen je homopolimer glukoze, oblik u kojem se ugljeni hidrati čuvaju u životinja. Čuvanjem glukoze u obliku glikogena omogućeno je da se velike količine glukoze deponuju u ćeliji, a da se pritom ne poveća unutarćelijski osmotski pritisak.
- Prisutan je u većini tipova ćelija.
- Sastoji se od glukoznih jedinica međusobno povezanih α -1,4 glikozidnom vezama, sa α -1,6 grananjima koja se javljaju na otprilike svakih 8 do 10 glukoznih jedinica.
- Najveći deo glikogena je uskladišten u jetri i skeletnim mišićima.

Struktura glikogena

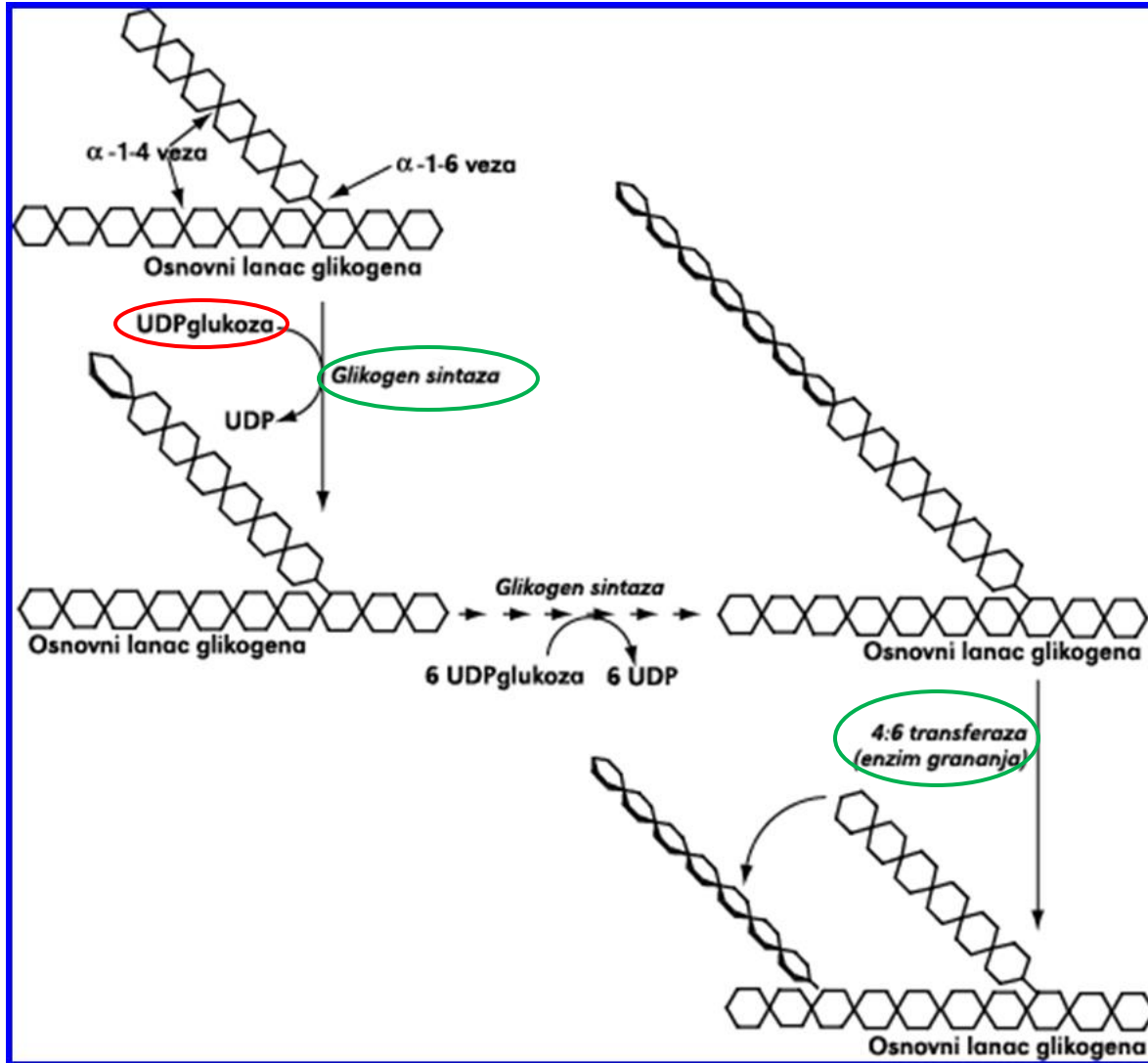


Glikogen se sastoji od glukoznih jedinica međusobno povezanih 1,4 i 1,6 glikozidnom vezama.

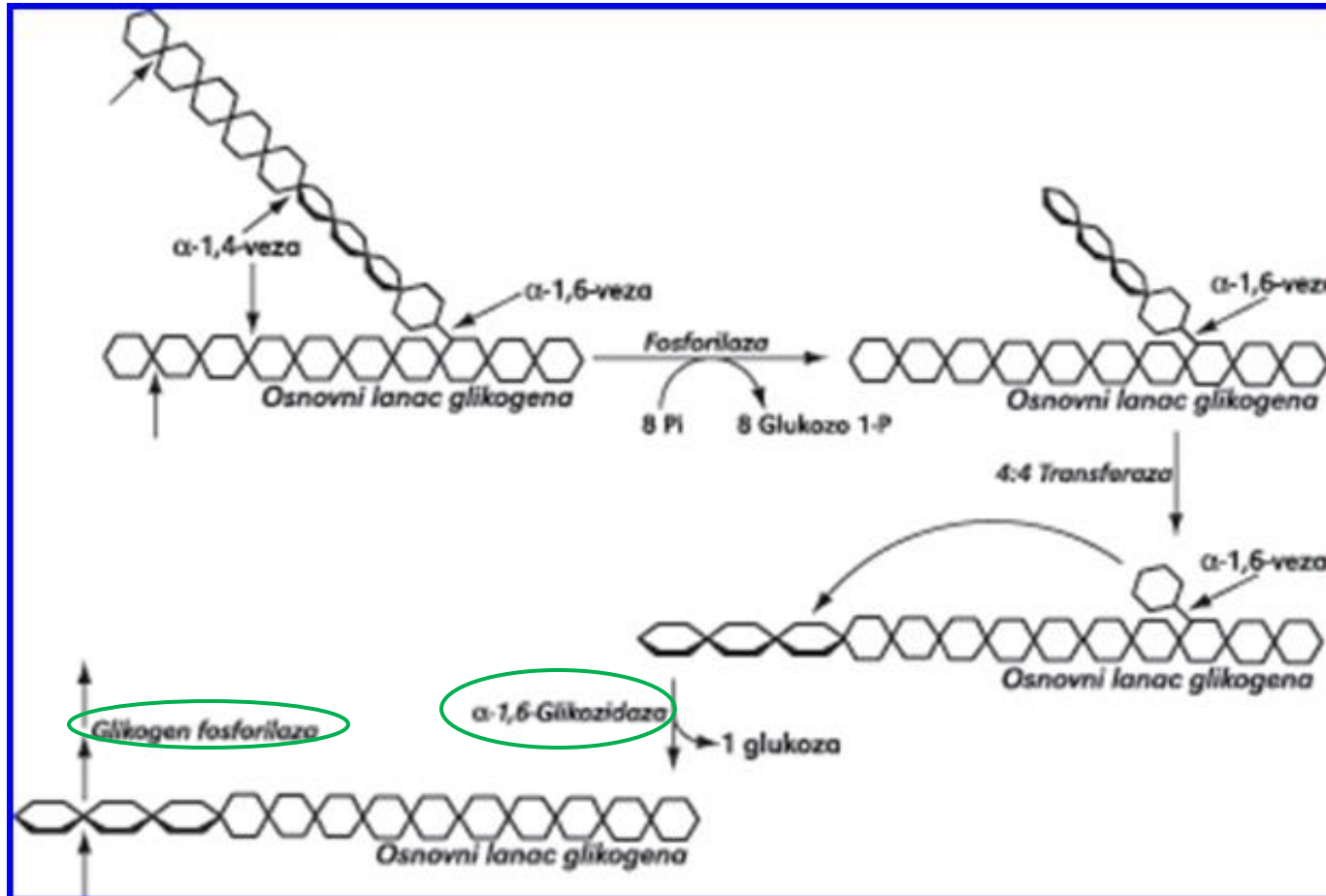
Razgranata struktura omogućava veoma brzu razgradnju i sintezu pošto enzimi mogu delovati istovremeno na više lanaca sa puno neredukujućih krajeva.

U tkivima, glikogen je prisutan u obliku čestica koje sačinjava polimer veoma velike molekulske mase (10^7 - 10^8). Enzimi odgovorni za procese sinteze i razgradnje, kao i neki od regulatornih enzima, nalaze se na površini čestica glikogena

Sinteza glikogena



Razgradnja glikogena



HVALA ZA PAŽNJU



**KEEP
CALM
AND
STUDY
BIOCHEMISTRY**

Biochemistry: The Chemistry of

3	26
Li	Fe
6.941	55.845

© 2014 Sinauer Associates, Inc.