

## ЗАНЯТИЕ 6 «ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА»

### Цель занятия

1. Знать основной механизм образования  $\text{CO}_2$  – окислительное декарбоксилирование  $\alpha$ -кетокислот (на примере ПВК);
2. Знать характеристику пируватдегидрогеназного комплекса, регуляцию процесса;
3. Знать химизм окислительного декарбоксилирования ПВК по стадиям;
4. Знать химизм ЦТК, регуляцию и его биологическую роль.

Основные понятия темы: общий путь катаболизма - окислительное декарбоксилирование пирувата, цикл трикарбоновых кислот, субстратное фосфорилирование, анаболические и анаплеротические функции ЦТК, гипоэнергетические состояния.

### ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ

1. Окислительное декарбоксилирование пирувата - общий путь образования центрального ключевого метаболита, суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования ПВК.
2. Характеристика пируватдегидрогеназного мультиферментного комплекса (состав ферментов, коферментов), катализирующего окислительное декарбоксилирование ПВК
3. Химизм окислительного декарбоксилирования ПВК (написать схему уравнений реакций по стадиям).
4. Биологическое значение окислительного декарбоксилирования ПВК. Энергетическая ценность процесса. Регуляция процесса.
5. ЦТК – цикл Кребса (лимоннокислый цикл), химизм реакций (субстраты, ферменты, коферменты, продукты реакций).
6. Взаимосвязь ЦТК с терминальной стадией биологического окисления - тканевым дыханием (ЦТЭ I и II типа).
7. Биологическое значение ЦТК - общего циклического универсального механизма катаболических превращений всех групп веществ. Регуляция ЦТК.
8. Витамин  $\text{B}_1$ -тиамин, антиневритный - строение, свойства. Механизм каталитического действия, признаки гипо- и авитаминоза.

### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ЗАНЯТИЯ

#### *Определение содержания пировиноградной кислоты в крови*

Принцип метода: пировиноградная кислота конденсируется с 2,4 - динитрофенилгидразином с образованием гидронона ПВК, который в щелочной среде дает коричнево-красный цвет раствора. Интенсивность окраски зависит от содержания ПВК. Окрашенный раствор колориметрируют на ФЭК и по величине оптической плотности рассчитывают количество пировиноградной кислоты (ПВК).

Ход работы: готовят две пробы: опытную (№ 1) и контрольную (№ 2).

Проба № 1 (опыт) - 0,3 мл крови смешивают в центрифужной пробирке с 0,7 мл дистиллированной воды. К гемолизату приливают 1 мл 10% раствора ТХУ и через 2-3 мин. центрифугируют при 1500 оборотов в минуту в течение 15 минут.

Надосадочную жидкость полностью сливают в пробирку, к ней прибавляют 0,4 мл раствора ДНФГ, перемешивают и на 20 минут помещают в темное место.

Затем приливают 1 мл 12% NaOH и через 5 минут определяют на ФЭК оптическую плотность в 5 мм кювете с синим светофильтром.

Проба № 2 (контроль) - Контрольная проба готовится таким же образом, только вместо крови используют воду.

Количество пирувиноградной кислоты рассчитывают по калибровочному графику.

В норме в крови содержится - 0,4 - 0,8 мг/100 мл ПВК (0,0456 - 0,0912 ммоль/л)

Коэффициент пересчета в систему СИ - 0,114

Результат:

Вывод:

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

Решите задачу

В эксперименте с изолированными митохондриями в качестве окисляемого субстрата использовали малат. Как изменится коэффициент Р/О, если :

- а) в инкубационную смесь добавили ингибитор НАДН-дегидрогеназы;
- б) вместе с ингибитором добавили сукцинат?