

ЛЕКЦИЯ 3

ОБЩИЕ ПУТИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ, ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ.

1. Обмен веществ. Обмен веществ (или метаболизм) - это совокупность биохимических реакций превращения химических соединений, которые происходят в живых организмах.

Обмен веществ состоит из нескольких последовательных стадий:

1. Поступление биополимеров (белков, липидов, углеводов), витаминов, минеральных элементов, воды в организм в составе продуктов питания.
2. Превращение этих веществ в пищеварительном тракте в более простые соединения (мономеры: аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты, глицерин), которые всасываются эпителием слизистой оболочки желудка и кишечника.
3. Транспорт молекул кровью и лимфой, поступление через мембраны в клетки.
4. Внутриклеточный метаболизм биомолекул.
5. Выделение (экскреция) из организма конечных продуктов обмена веществ (CO_2 , NH_3 , мочевины, воды, продуктов конъюгации)

Внутриклеточный метаболизм (промежуточный обмен) включает такие превращения:

- а) расщепление биоорганических молекул (глюкозы, аминокислот, жирных кислот, глицерина) до конечных продуктов обмена (CO_2 , H_2O , NH_3) с выделением энергии и ее аккумуляцией в виде АТФ и других макроэргических фосфатов. Совокупность процессов расщепления веществ с выделением энергии называется **катаболизмом**.
- б) синтез специфических, генетически детерминированных данному организму, биополимеров и молекул (белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и др.), необходимых для образования собственных структур. Эти процессы называют **анаболизмом**.
- в) использование энергии (в форме АТФ или иных формах) для обеспечения различных физиологических функций.

Процессы превращения одних метаболитов в другие составляют метаболические пути. Метаболические пути делятся на:

1. **катаболические**, которые включают реакции расщепления биомолекул (гидролиза, окисления и др.);
2. **анаболические**, которые состоят из реакций синтеза сложных соединений (белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот);
3. **амфиболические**; метаболиты этих процессов могут превращаться как в катаболических, так и в анаболических процессах. Примером является цикл трикарбонных кислот.

Обмен веществ связан с обменом энергии. Среди реакций метаболизма выделяют:

- **экзэргонические реакции**, которые сопровождаются выделением энергии; энергия аккумулируется в виде макроэргических соединений;
- **эндэргонические реакции**, для протекания которых необходимы затраты энергии (реакции синтеза и восстановления).

Типы обмена веществ. Различают аутоτροφный и гетеротрофный типы. Они отличаются способом получения из окружающей среды углерода и энергии, необходимых для их жизнедеятельности и построения биоструктур.

Аутотрофные организмы необходимый им углерод получают из CO_2 атмосферы, из которого строят все углеродсодержащие компоненты. Источником энергии служит солнечный свет, который улавливается в процессе фотосинтеза, поглощается специальными светочувствительными белками (хлорофилл зелёных растений). К аутотрофным организмам относятся: зелёные растения, сине-зелёные водоросли, зелёные и пурпурные бактерии.

Гетеротрофные организмы получают углерод в виде сложных соединений (белков, углеводов, липидов и др.), которые содержатся в пищевых продуктах. Энергию гетеротрофы получают в экзэргонических реакциях, которые происходят в митохондриях. К гетеротрофным организмам относятся животные организмы.

Стадии катаболизма биомолекул. При расщеплении биомолекул в организме выделяют 3 стадии, которые являются общими для катаболизма различных биомолекул.

В **первой стадии** все сложные биомолекулы (полимеры) расщепляются до простых компонентов (мономеров): 1) полисахариды расщепляются до моносахаридов; 2) липиды (триацилглицеролы) – до жирных кислот и глицерина; 3) белки – до аминокислот; 4) нуклеиновые кислоты – до мононуклеотидов. Реакции этой стадии катализируются гидролазами желудка, и кишечника. На этой стадии высвобождается около 1% химической энергии, которая рассеивается в виде тепла.

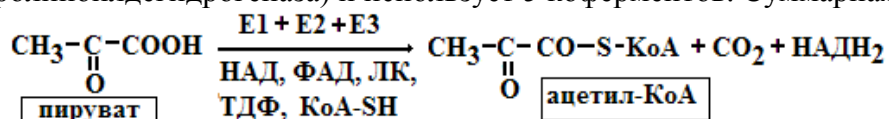
Во **второй стадии** мономеры, образовавшиеся в первой стадии, внутриклеточно подвергаются превращениям с выделением энергии (20-30%). Основные реакции катаболизма:

- 1) для моносахаридов – **гликолиз**, конечным метаболитом которого является пировиноградная кислота, которая далее подвергается окислительному декарбоксилированию и превращается в активную форму уксусной кислоты – ацетил-КоА;
- 2) для жирных кислот – β -окисление, конечным продуктом которого является ацетил-КоА; для глицерина – расщепление до пирувата, который далее превращается в ацетил-КоА;
- 3) для аминокислот и нуклеотидов – дезаминирование и расщепление безазотистых молекул до ди- и трехуглеродных карбоновых кислот и их производных. Большинство этих метаболитов превращается в ацетил-КоА.

Таким образом, общим конечным продуктом второй стадии внутриклеточного катаболизма углеводов, липидов и аминокислот является ацетил-КоА.

В **третьей стадии** катаболизма в митохондриях происходит окисление ацетил-КоА до CO_2 и H_2O и окислительное фосфорилирование с образованием АТФ. Окисление ацетил-КоА до CO_2 происходит в цикле трикарбоновых кислот, при участии коферментов НАД и ФАД и цитохромов. Атомы водорода поступают в дыхательную цепь (электронно-транспортная цепь митохондрий) и переносятся на кислород, образуя H_2O . Полученная энергия (на этой стадии образуется 70-80% энергии) используется для осуществления окислительного фосфорилирования, главного источника АТФ в организме.

Пируватдегидрогеназная реакция. Важнейшим источником ацетил-КоА является реакция окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты, которая катализируется мультиферментным пируватдегидрогеназным комплексом, который включает включает 3 фермента (Е1- пируватдегидрогеназа; Е2 – дигидролипоилацетилтрансфераза; Е3 - дигидролипоилдегидрогеназа) и использует 5 коферментов. Суммарная реакция:

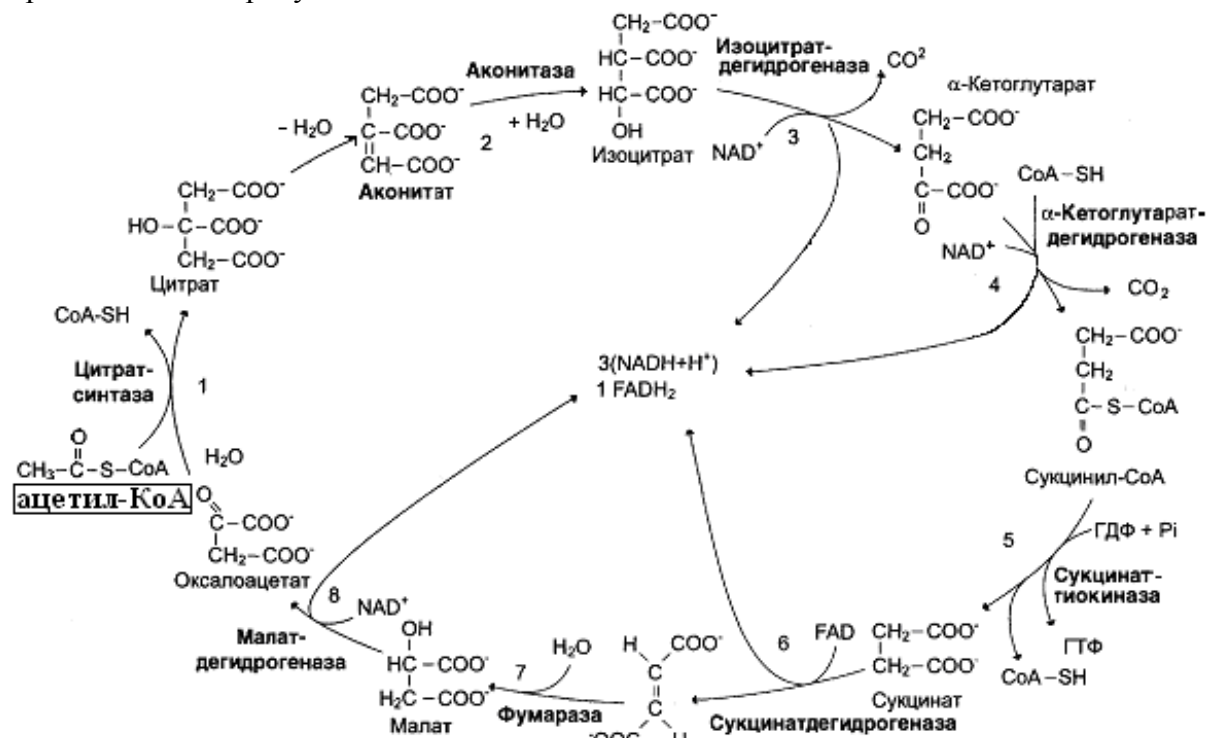


Первый фермент (пируватдегидрогеназа) катализирует декарбоксилирование пирувата с образованием CO_2 и гидроксиэтильного производного тиаминдифосфата (ТДФ). Вторым ферментом (дигидролипоилацетилтрансфераза) переносит гидроксиэтильную группу от ТДФ сначала на окисленную форму липоевой кислоты, а далее на КоА с образованием ацетил-КоА. Третий фермент (ФАД-содержащая дигидролипоилдегидрогеназа) катализирует окисление восстановленной формы липоевой кислоты с образованием ФАДН_2 , от которого атомы водорода переносятся на НАД с образованием в конечном итоге НАДН_2 , который и окисляется в дыхательной цепи митохондрий с выделением 3-х молекул АТФ.

Отметим, что в случае нарушения деятельности пируватдегидрогеназного комплекса замедляется метаболизм пировиноградной кислоты и ее концентрация резко возрастает в крови и моче. Это происходит, например, при дефиците тиаминдифосфата (ТДФ), который является источником кофермента – тиаминдифосфата, или при наследственном дефиците пируватдегидрогеназы или дигидролипоилдегидрогеназы.

2. Цикл трикарбоновых кислот. Цикл трикарбоновых кислот (цикл лимонной кислоты, цикл Кребса) – аэробный метаболический цикл, в котором ацетил-КоА (ключевой метаболит обмена углеводов, белков, жиров) окисляется до CO_2 с образованием атомов водорода, которые используются в дыхательной цепи митохондрий для получения АТФ в процессе окисли-

тельного фосфорилирования. Ферментативные реакции цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) представлены на рисунке.



1. **Образование цитрата (лимонной кислоты)** происходит при взаимодействии ацетил-КоА с оксалоацетатом и идет при участии цитратсинтазы.

2. **Превращение цитрата в изоцитрат** катализируется ферментом **аконитазой** и состоит из двух этапов. Вначале происходит дегидратация лимонной кислоты с образованием цис-аконитовой кислоты, а потом к цис-аконитовой кислоте вновь присоединяется молекула воды с образованием уже изолимонной кислоты.

3. **Окисление изоцитрата до α-кетоглутарата** происходит при участии НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы, которая является регуляторным ферментом, положительным модулятором которого является АТФ, отрицательным – NADH_2 . Образовавшийся NADH_2 далее окисляется в дыхательной цепи митохондрий с генерацией 3 молекул АТФ. В митохондриях имеется еще и НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа, так что при окислении изоцитрата образуется не только NADH_2 а и NADFH_2 .

4. **Окисление α-кетоглутарата до сукцинил-КоА** происходит путем **окислительного декарбоксилирования** при участии мультиэнзимного α-кетоглутаратного комплекса, который подобен пируватдегидрогеназному комплексу. В результате образуется сукцинил-КоА и NADH_2 (последний окисляется в дыхательной цепи с генерацией 3 молекул АТФ).

5. **Деацилирование сукцинил-КоА** идет под влиянием сукцинил-тиокиназы. За счет энергии расщепления макроэргической тиоэфирной связи сукцинил-КоА образуется ГТФ (гуанозинтрифосфат) макроэргическое соединение, подобное АТФ. Далее ГТФ в нуклеозидфосфокиназной реакции способен превратится в АТФ.

6. **Окисление сукцината в фумарат** происходит при участии ФАД-зависимой сукцинатдегидрогеназы. Образовавшийся FADH_2 окисляется в дыхательной цепи с генерацией 2 молекул АТФ.

7. **Превращение фумаровой кислоты в яблочную (малат)** осуществляется под влиянием фермента фумаратгидратазы.

8. **Окисление малата до оксалоацетата** (щавелевоуксусной кислоты) происходит под влиянием НАД-зависимой малатдегидрогеназы. Образовавшийся NADH_2 окисляется в дыхательной цепи с генерацией 3 молекул АТФ. В митохондриях имеется еще и НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа, которая продуцирует NADFH_2 . Оксалоацетат - конечный продукт ЦТК может вступить во взаимодействие с новыми молекулами ацетил-КоА.

Энергетический баланс ЦТК. В ЦТК образуется 2 молекулы CO_2 (в изоцитратдегидрогеназной и α -кетоглутаратдегидрогеназной реакциях) и 3 молекулы НАДН₂ и одна молекула ФАДН₂. Окисление НАДН₂ в дыхательной цепи митохондрий дает по 3 молекулы АТФ на каждую молекулу НАДН₂ и по 2 молекулы АТФ на каждую молекулу ФАДН₂. Одна молекула АТФ образуется за счет субстратного фосфорилирования на этапе превращения сукцинил-КоА в сукцинат. Таким образом, при полном окислении 1 молекулы ацетил-КоА до CO_2 и H_2O генерируется 12 молекул АТФ.

ЦТК регулируется через изменение активности аллостерических ферментов цитратсинтетазы; изоцитратдегидрогеназы; альфа-кетоглутаратдегидрогеназы. Они активируются АДФ, но ингибируются АТФ, НАДН₂, сукцинил-КоА, длинноцепочечными ацил-КоА.

Значение ЦТК. 1. Интегративное – цикл Кребса объединяет пути катаболизма углеводов, белков и жиров, т.к. в нем утилизируется молекулы ацетил-КоА, образующиеся при расщеплении этих веществ.

2. Энергетическое. При расщеплении 1 молекулы ацетил-КоА до конечных продуктов (CO_2 и H_2O) генерируется 12 молекул АТФ.

3. Амфиболическое (двойственное). В ЦТК происходит не только катаболические процессы – окисление ацетил-КоА. Субстраты ЦТК используются и для реакций синтеза (анаболические процессы). Так, из оксалоацетата синтезируется аспарагиновая кислота; из α -кетоглутаровой кислоты – глутаминовая; из оксалоацетата - фосфоэнолпируват.

4. Гидрогендонорное. Реакции дегидрирования происходящие в ЦТК служат источником атомов водорода (НАДН₂) для дыхательной цепи. В ЦТК образуется и НАДФН₂ (НАДФ-зависимые изоцитрат- и малатдегидрогеназы), который далее используется как восстановитель при синтезе жирных кислот, стероидных гормонов, окислении ксенобиотиков.

Анаплеротические реакции – это реакции клеточного метаболизма, повышающие концентрацию субстратов ЦТК, образуя их в других метаболических путях. Например: 1. Образование α -кетоглутарата и оксалоацетата в реакциях трансаминирования аминокислот; 2. Образование α -кетоглутарата в глутаматдегидрогеназной реакции; 3. Образование оксалоацетата из пирувата в пируваткарбоксилазной реакции.

3. Биологическое окисление

Биологическое окисление это процесс окисления биологических веществ с выделением энергии.

Тканевое дыхание – процесс поглощения кислорода (O_2) тканями при окислении органического субстрата с выделением углекислого газа (CO_2) и воды (H_2O). **Окислительное фосфорилирование** это синтез АТФ сопряженный с тканевым дыханием.

Основным топливом при биологическом окислении является водород. Известно, что реакция окисления водорода кислородом в газовой среде сопровождается выделением большого количества энергии, сопровождаемым взрывом и пламенем. Эволюция живых организмов привела к тому, что реакция окисления водорода до воды оказалась разделенной на отдельные этапы, что обеспечивает постепенное высвобождение энергии в процессе биологического окисления. При этом часть полученной энергии рассеивается в виде тепла (около 60%) а другая часть (**около 40%**) аккумулируется в молекулах АТФ.

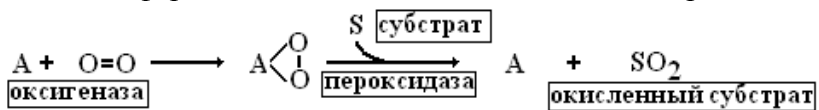
Макроэргические соединения – это вещества, содержащие богатые энергией связи. Макроэргическая связь обозначается символом ~ (знак «тильда»). Понятие макроэргическая связь довольно условно и применяется для обозначения тех связей, которые гидролизуются в **водной среде** с выделением значительной энергии. Так, гидролиз концевой фосфоангидридной связи АТФ ($\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АДФ} + \text{Фн}$), ведет к освобождению 34,5 кДж/моль энергии). Однако, если реакция протекает в неводной среде (например, в липидном слое мембран), то образование и разрушение АТФ протекает без больших затрат энергии.

Вещества гидролиз которых, приводит к высвобождению более 21 кДж/моль энергии относят к высокоэнергетическим (**макроэргам**), а вещества освобождающие меньшие количества энергии - к низкоэнергетическим. К макроэргам относят: АТФ, другие трифосфаты нуклеозидов (ГТФ, ЦТФ, УТФ, ТТФ), аргининфосфат, креатинфосфат, ацетилфосфат, 1,3-дифосфоглицерат, фосфоэнолпируват и др. К низкоэнергетическим - глюкозо-6-фосфат,

глюкозо-1-фосфат, глицерофосфат и другие. Уникальная роль АТФ состоит в том, что она имеет промежуточное значение энергии гидролиза и выполняет роль связующего звена (разменной монеты) между высоко- и низкоэнергетическими соединениями.

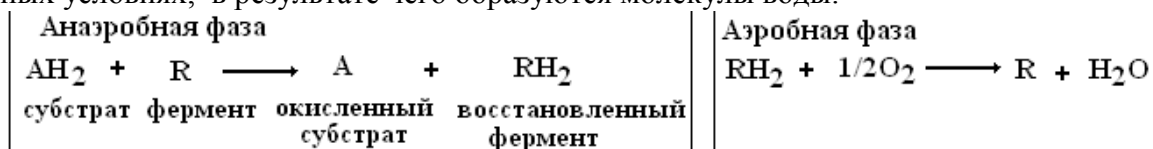
1. История развития учения о биологическом окислении

1. **Теория активации кислорода (А.Н.Бах).** Согласно этой теории непосредственным агентом, окисляющим субстрат является активированный кислород. Активация молекулярного кислорода осуществляется особыми ферментами оксигеназами и ведет к образованию реакционноспособных пероксидов, которые при участии ферментов пероксидаз и взаимодействуют с субстратом.



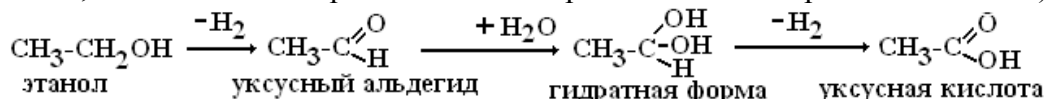
В дальнейшем оказалось, что действительно в клетках существуют ферменты, способные активировать молекулярный кислород и использовать его для окисления ряда веществ. Существуют ферменты **монооксигеназы**, которые присоединяют к субстрату один атом кислорода ($SH + 1/2 O_2 \rightarrow SOH$) и **диоксигеназы**, которые присоединяют к субстрату 2 атома кислорода ($S + O_2 \rightarrow SO_2$). Монооксигеназы и диоксигеназы катализируют реакции гидроксилирования стероидов, ксенобиотиков, образование простагландинов и лейкотриенов, но не принимают участия в процессах биологического окисления в митохондриях.

2. **Теория активации водорода (Палладин, Украина).** По этой теории, биологическое окисление может происходить путем дегидрирования субстрата и без участия кислорода, но при помощи коферментов – акцепторов водорода, т.е. окисление на первых этапах может происходить и в анаэробных условиях, а затем может идти при участии кислорода в аэробных условиях, в результате чего образуются молекулы воды.



Предполагалось, что акцептором атомов водорода являются соединения хинонной природы (подобные, убихинону). Сейчас установлено, что в процессе биологического окисления атомы водорода от субстрата отщепляются коферментами – НАД, НАДФ, ФАД и ФМН.

3. **Виланд** подтвердил теорию Палладина, и показал, что окисление спиртов и гидратных форм альдегидов принципиально возможно и в отсутствие свободного кислорода (до этого считалось, что только кислород способен оторвать атомы водорода от вещества).



4. Немецкий биохимик **Варбург** показал, что биологическое окисление идет с участием ферментов содержащих железо (цитохромов) и ферментов содержащих флавиновые коферменты.

5. В 30-х годах **Энгельгардт** наблюдал, что при тканевом дыхании синтезируются молекулы АТФ, а **Белицер и Цыбакова (Украина)** показали, что тканевое дыхание связано с транспортом электронов и ввели коэффициент Р/О, который показывает число молекул АТФ, которое образуется на каждый поглощенный атом кислорода.

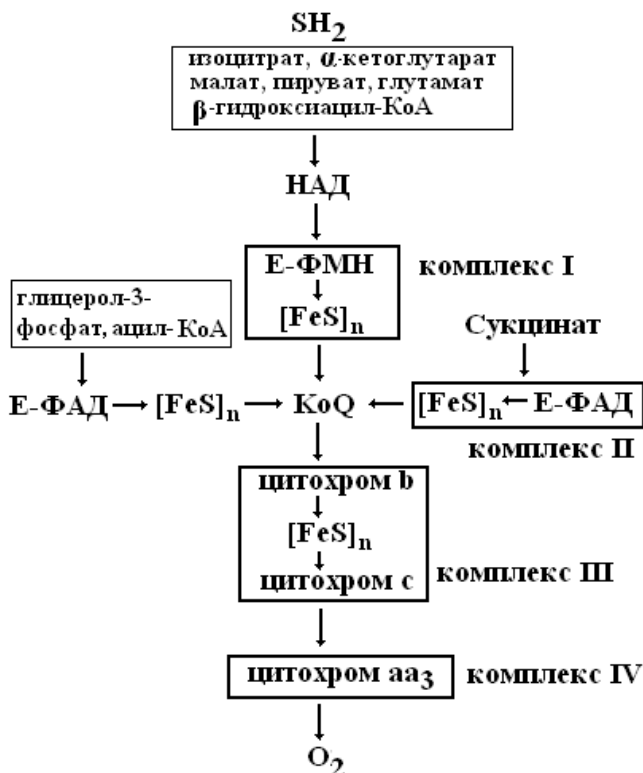
6. В 1961–1966г.г. английский биохимик **Митчел** создал хемиосмотическую теорию окислительного фосфорилирования, в которой связал синтез молекул АТФ в митохондриях с транспортом протонов через мембрану митохондрий (Нобелевская премия, 1978 года).

2.Строение митохондрий. *Внешняя мембрана митохондрий* – играет разграничительную роль, в ней содержатся ферменты удлинения насыщенных жирных кислот, кинуренин-гидроксилаза, МАО (маркерный фермент) и др. *Межмембранное пространство (ММП)* – содержит аденилатциклазу и нуклеозиддифосфаткиназу). *Внутренняя мембрана* содержит ферменты тканевого дыхания. Маркерный фермент цитохромоксидаза. *Матрикс (М)* содержит ферменты ЦТК, β-окисления жирных кислот, декарбоксилирования альфа-кетокислот.

Дыхательная цепь – это система ферментов и коферментов, которые принимают участие в транспорте электронов и протонов от окисляемого субстрата к кислороду. Дыхатель-

ная цепь включает: а) ферменты: НАД- или ФМН(ФАД)-зависимые дегидрогеназы; цитохромы (гемопротеины, содержащие простетическую группу гем); б) коферменты: НАД, ФМН, КоQ, гем. в) электронотранспортные белки (железосерные белки).

Все участники этой цепи разделены на четыре окислительно-восстановительные системы (**комплексы**), связанные между собой убихиноном (КоQ) и цитохромом с. Процесс начинается с переноса протонов и электронов от окисляемого субстрата на коферменты НАД или ФАД. Последнее определяется тем, является ли дегидрогеназа, катализирующая первую стадию, НАД-зависимой или ФАД-зависимой. Но каким бы ни был исходный субстрат, электроны и протоны от флавинов переносятся к коферменту Q, после которого пути электронов и протонов расходятся: электроны далее транспортируются по цепи цитохромов, а протоны переносятся из матрикса в межмембранное пространство.



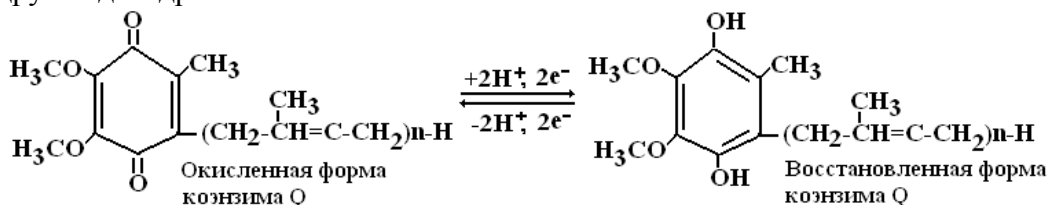
Состав комплексов дыхательной цепи:

I комплекс – НАД.Н-коэнзим Q-оксидоредуктаза. Включает ключевой фермент НАДН-дегидрогеназа и 5 железосерных кластеров (железосерные белки). Благодаря НАДН-дегидрогеназе (кофермент ФМН) и железосерным белкам комплекс I катализирует перенос атомов водорода и электронов к коэнзиму Q.

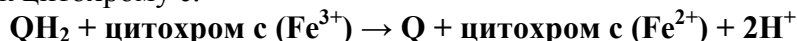
II комплекс (сукцинатдегидрогеназный (СДГ)). Включает ФАД-зависимую сукцинатдегидрогеназу, железосерные белки и катализирует перенос электронов от сукцината на коэнзим Q.

Коэнзим Q является коллектором электронов и атомов водорода не только от I и II

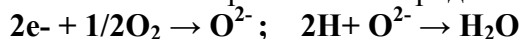
комплексов, но также и от ФАД-зависимых ферментов бета-окисления жирных кислот и других дегидрогеназ.



III комплекс – КоQ.Н₂-цитохром-С-оксидоредуктаза. Включает цитохромы b и c и один железосерный белок. Комплекс осуществляет перенос электронов от восстановленной формы коэнзима Q к цитохрому c.

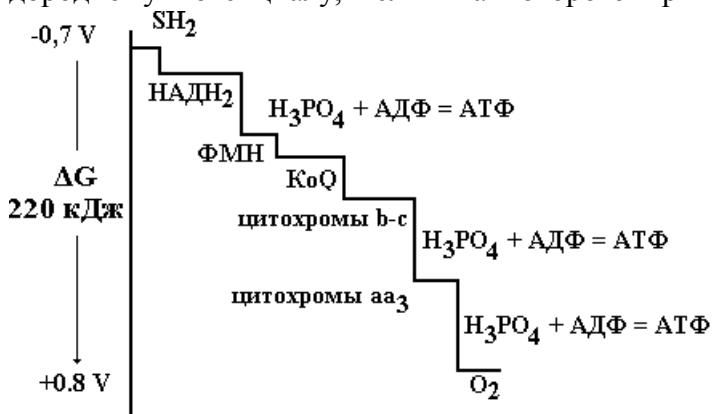


IV комплекс – (цитохромоксидаза). Включает 2 цитохрома (a и a₃), (которые обозначаются как цитохромоксидаза), которые содержат 2 атома меди (медь также способна переносит электроны $\text{Cu}^{1+} \rightarrow \text{Cu}^{2+}$). Цитохромоксидаза катализирует конечную реакцию биологического окисления – восстановление 2 электронами кислорода и образование воды.



Таким образом, комплексы I, III и IV обеспечивают постепенный перенос электронов и протонов от субстрата к кислороду. Энергия, которая высвобождается при движении электронов используется для переноса протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство, где создается градиент концентраций ионов H^+ , а этот градиент используется АТФ-синтазой для образования АТФ. Поэтому иногда выделяют еще **комплекс V**, который представлен H^+ -транспортирующей АТФ-синтаза, хотя она и не переносит электроны.

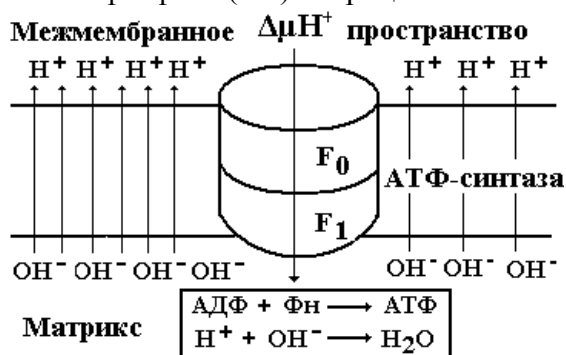
4.Редокс-потенциал (РОП) – это величина электрического заряда, которая создается между платиновыми электродами, помещенными в раствор, содержащий окисленную и восстановленную форму вещества. Редокс-потенциалы различных веществ приравнивают к водородному потенциалу, величина которого принята за 0. Величины редокс-потенциалов



компонентов дыхательной цепи показывают порядок движения электронов, начиная с окисляемого субстрата (SH_2), имеющего редокс-потенциал $-0,7\text{V}$ и заканчивая кислородом с редокс-потенциалом $+0,8\text{V}$. Таким образом, электроны движутся по направлению от субстрата к кислороду, т.е. от соединений с меньшим редокс-потенциалом к большему. При пересчете РОП в энергию (уравнение $\Delta G = nF \cdot \Delta E_0$) общий перепад энергии в дыхательной цепи равен

220 кДж В дыхательной цепи имеются пункты где перепады РОП особенно велики. Так, на участке НАДН₂ –коэнзим Q (комплекс I) изменение РОП составляет $0,27\text{V}$, на участке цитохром b – цитохром c (комплекс III) – $0,22\text{V}$, и на участке цитохром а₃ – O₂ (комплекс IV) – $0,53\text{V}$, что соответствует энергии, соответственно, 51,0, 41,4 и 99,6 кДж. Этой энергии достаточно для синтеза 3-х молекул АТФ (синтез 1 молекулы АТФ требует затрат 30,5 кДж

5.Окислительное фосфорилирование – это процесс образования АТФ из АДФ и неорганического фосфата (Фн) в процессе тканевого дыхания. Согласно **хемиосмотической теории**



Митчела синтез АТФ осуществляется за счет электрохимического потенциала, который создается градиентом концентраций ионов водорода. Комплексы I, III и IV расположены асимметрично во внутренней мембране митохондрий и образуют 3 петли, которые обеспечивают перекачивание протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. То есть комплексы I, III и IV по сути служат протонными насосами. С каждой парой электронов, которые пере-

даются от субстрата к кислороду, эти три петли транспортируют в межмембранное пространство 8-10 протонов (H^+). Источником протонов является диссоциация эндогенной воды: $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^-$, а энергия необходимая для транспорта ионов H^+ черпается за счет движения электронов. В матриксе накапливаются гидроксид-анионы OH^- , а в межмембранном пространстве ионы H^+ - т.е. формируется трансмембранный электрохимический градиент концентрации ионов H^+ – $\Delta\mu\text{H}^+$. Внешняя поверхность внутренней мембраны, обращенная в межмембранное пространство, заряжается положительно (+), а внутренняя отрицательно (-). Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ионов H^+ однако, они могут проходить назад в матрикс через **протонный канал (фрагмент F₀)** H^+ -АТФ-синтазы. **Второй фрагмент F₁** фермента является **каталитическим** и осуществляет синтез АТФ. Каталитическая часть АТФ-синтазы катализирует три последовательные стадии синтеза АТФ. Вначале идет связывание АДФ и неорганического фосфата (1 стадия), затем образуется фосфоангидридная связь (2 стадия) и, наконец, освобождается конечный продукт реакции (3 стадия).

F₁ фрагмент АТФ-синтазы функционирует как молекулярная машина и состоит из неподвижной части – статора и вращающейся части - ротора. Статор закреплен в липидном слое мембраны и осуществляет синтез АТФ из АДФ и фосфата. Ротор работает как подвижный клапан протонного канала. Протонный канал (фрагмент F₀) состоит из двух половинок (полуканалов), смещенных одна относительно другой. Протон попадает в первый полуканал из межмембранного пространства, но сразу попасть в матрикс не может, поскольку проход закрыт белком-ротатором. Ион H^+ связывается с аминокруппами белка-ротатора, на нем появляется дополнительный положительный заряд, что заставляет ротор поворачиваться к той час-

ти статора, которая содержит отрицательно заряженные остатки аминокислот. После поворота связавшая протон часть ротора попадает во вторую половинку канала, ведущую в матрикс. В матриксе протон поджидают отрицательно заряженные гидроксид-анионы, ротор освобождается от H^+ и образуется вода. Таким образом, цикл протонирования–депротонирования ротора обеспечивает его поворот. Энергия и заряд протона используется для высвобождения в водную фазу молекулы АТФ, образованной в каталитической части АТФ-синтазы (считается, что образование самой АТФ не требует больших затрат энергии, поскольку происходит в липидной фазе мембраны).

Коэффициент окислительного фосфорилирования (P/O) это число молекул неорганического фосфата (Фн), которое перешло в органическую форму (в форму АТФ) в расчете на каждый поглощенный атом кислорода. Он равняется числу молекул АТФ, которые образуются при перенесении 2-х электронов по дыхательной цепи на один атом кислорода (максимальное значение P/O – 3). При окисления субстратов через НАДН-КоQ-редуктазу (через I, III, IV комплексы), образуется 3 молекулы АТФ (P/O = 3). При окислении субстратов через сукцинат-КоQ-редуктазу (II, III, IV комплексы) образуется 2 молекулы АТФ (P/O = 2).

Уровень АТФ является главным регулятором энергетического обмена в организме. Если в клетке идут процессы с потреблением АТФ, то это автоматически приводит к повышению скорости гидролиза АТФ и накоплению АДФ, а это ведет к усилению окислительного фосфорилирования. Наоборот повышение концентрации АТФ является сигналом для уменьшения потребности клетки в АТФ и ведет к торможению окислительного фосфорилирования.

6. Патология тканевого дыхания. Различают ингибиторы электронного транспорта, ингибиторы и разобщители окислительного фосфорилирования в митохондриях.

а) ингибиторы электронного транспорта – это вещества, которые взаимодействуют с компонентами дыхательной цепи и нарушают транспорт электронов по ней. Они являются клеточными токсинами, вызывают тканевую гипоксию. К ним относятся: 1) **Ротенон** (инсектицид), снотворные препараты **амобарбитал** (амитал) и **секобарбитал** – тормозит транспорт электронов через НАДН-КоQ-редуктазу; 2) **Пиерицидин А** (антибиотик), блокирует НАД Н-КоQ-редуктазу; 3) **Антимицин А** (антибиотик), блокирует дыхательную цепь на уровне III комплекса (цитохром b–цитохром c); 4) **Цианиды** (ионы CN^-) – образуют комплексы с Fe^{3+} цитохромоксидазы, тормозят восстановление до Fe^{2+} в ЦХО; 5) **Монооксид углерода (СО)** – блокирует ЦХО, связываясь с гемом тормозит его взаимодействие с кислородом.

Тканевое дыхание угнетается также в том случае, если в организм с пищей поступает недостаточное количество витаминов РР и В₂ (эти витамины являются предшественниками НАД и ФМН), а также микроэлементов железа и меди (Fe и Cu входят в состав цитохромов).

б) ингибиторы окислительного фосфорилирования

Олигомицин (антибиотик), ингибитор H^+ АТФ-синтазы (ее F₀-фрагмента).

в) разобщители окислительного фосфорилирования – это вещества, нарушающие образование электрохимического потенциала. Они, с одной стороны, усиливают поглощение митохондриями кислорода, а с другой стороны, снижается скорость (или прекращается) генерация АТФ. Развивается феномен неконтролируемого дыхания митохондрий.

К разобщителям относятся липофильные вещества имеющие подвижный атом водорода. Они легко встраиваются в митохондриальную мембрану и функционируют там, как переносчики ионов водорода, снижая тем самым трансмембранный градиент ионов водорода и синтез АТФ. К разобщителям относят: тироксин, динитрофенол, салициловая кислота, дикумарин и др. Так, при гиперфункции щитовидной железы у людей усиливается продукция тироксина и повышается температура тела. Тироксин, будучи разобщителем уменьшает образование АТФ в митохондриях и одновременно усиливая окисление субстратов в дыхательной цепи и продукцию тепла. Этот эффект может иметь и положительное значение: при пребывании в холодной воде усиление продукции тироксина способствует согреванию человека.

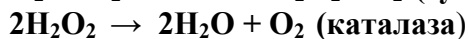
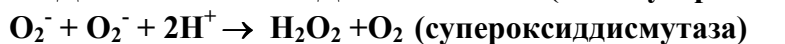
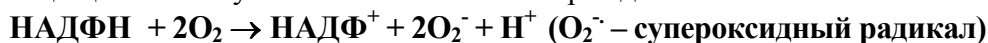
7. Дополнительные ферменты тканевого дыхания. Образование H₂O₂ и CO₂.

Напомним, что **тканевое дыхание** это процесс поглощения кислорода (O₂) тканями при окислении органического субстрата с выделением углекислого газа и воды. Выше мы уже показали, как из атомов водорода в дыхательной цепи образуются молекулы воды. Однако процесс дегидрирования субстрата НАД- и ФАД-зависимыми дегидрогеназами одновремен-

но ведет и к отщеплению концевой карбоксильной группы, которая выделяется в виде CO_2 . Главными источниками CO_2 является реакции декарбоксилирования пировиноградной и альфа-кетоглутаровой кислот (см. выше). Еще один источник – это процесс декарбоксилирование аминокислот, который катализируется пиридоксаль-зависимыми ферментами.

Поглощенный клеткой кислород в основном (до 80-90%) используется для производства энергии в митохондриях. Однако, кислород используется и на другие цели – для синтеза стероидов, простагландинов, лейкотриенов, тирозина, катехоламинов, для метаболизма чужеродных веществ и т.д.. При этом часть поглощенного тканями кислорода неферментативным путем или при участии монооксигеназ способна превращаться в активные формы (супероксидный, гидроксильный, пероксильный радикалы, синглетный кислород, пероксид водорода, органические пероксиды)

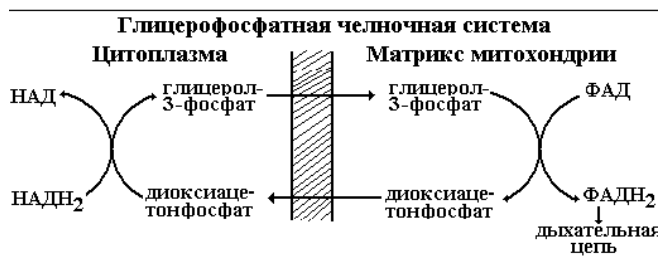
Например, в митохондриях около 8% кислорода может превращаться в активные формы, поскольку ФМНН₂ способен отдавать электроны не только на убихинон, но и непосредственно на молекулу кислорода, превращая его в супероксидный радикал. Супероксидный радикал и пероксид водорода, образуется также и под влиянием ксантиноксидазы, моноаминоксидазы, НАДФН-оксидазы, цитохрома P450 и т.д. Супероксидный радикал при участии фермента супероксиддисмутазы превращается в пероксид водорода (H_2O_2), а последний разрушается до воды каталазой и пероксидазой, глутатионпероксидазой). Ферменты обезвреживающие активные формы кислорода называются антиоксидантными, поскольку они защищают клетку от окислительного повреждения.



10. Челночный механизм транспорта протонов из цитоплазмы в митохондрии.

Процессы дегидрирования в наибольших масштабах происходят в митохондриях, где сосредоточены дегидрогеназы цикла Кребса, цикла окисления жирных кислот и др. Однако большие количества водорода (и соответственно НАДН₂) образуется в цитоплазме (в процессе гликолиза). Мембрана митохондрий непроницаема для НАДН₂, поэтому непосредственный перенос атомов водорода из цитоплазмы в дыхательную цепь невозможен. Однако существуют механизмы переноса атомов водорода из цитоплазмы в митохондрию.

Глицеролфосфатная челночная система. Образованный в цитоплазме НАДН₂ сначала используется для синтеза глицеролфосфата из диоксиацетонфосфата, который проникает через мембрану в митохондрию. В митохондрии глицеролфосфат отдает НАДН₂, после чего превращается в диоксиацетонфосфат, который возвращается в цитоплазму за новой порцией атомов водорода.



Малат-аспартатная челночная система. Образованный в цитоплазме НАДН₂ сначала используется для превращения оксалоацетат в малат, который далее транспортируется в митохондрию. В митохондрии малат окисляется до оксалоацетата с освобождением НАДН₂. Обратный транспорт оксалоацетата из митохондрии в цитоплазму возможен после его превращения в аспартат. Аспартат в цитоплазме превращается снова в оксалоацетат, который используется для превращения новой порции НАДН₂ в малат.