

**Дыхательная цепь:
строение и функции.
Окислительное
фосфорилирование.**

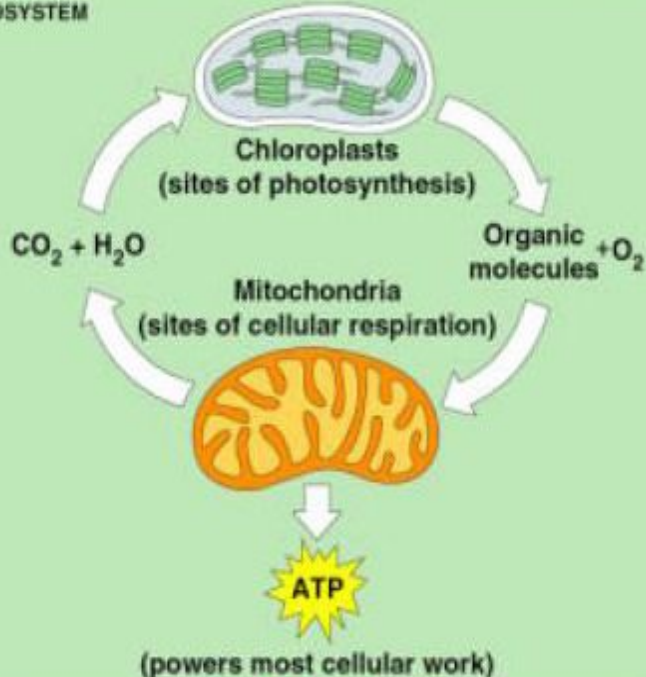
Разнообразие метаболизма



Light energy



ECOSYSTEM



Heat energy

Энергию солнечного света способны улавливать зеленые растения и некоторые бактерии, которые преобразуют её в процессе фотосинтеза в химическую энергию, используемую для образования химических связей между атомами углерода, водорода и кислорода.

Световая энергия запасается фотосинтезирующими организмами в виде энергии химических связей во вновь образующихся молекулах углевода и др. органических соединениях, которая, однако, не может использоваться для совершения работы до тех пор, пока эти химические связи не будут разорваны. Поэтому углеводы и др. соединения можно рассматривать как формы запасания поглощенной энергии Солнца, т.е. как биологическое топливо.

2-ой закон Термодинамики

системы стремятся к
неупорядоченности

- при необратимых процессах энтропия
системы и окружающей среды
увеличивается

ЭНТРОПИЯ (s) от греч. entropia -- поворот,
превращение



Энтропия

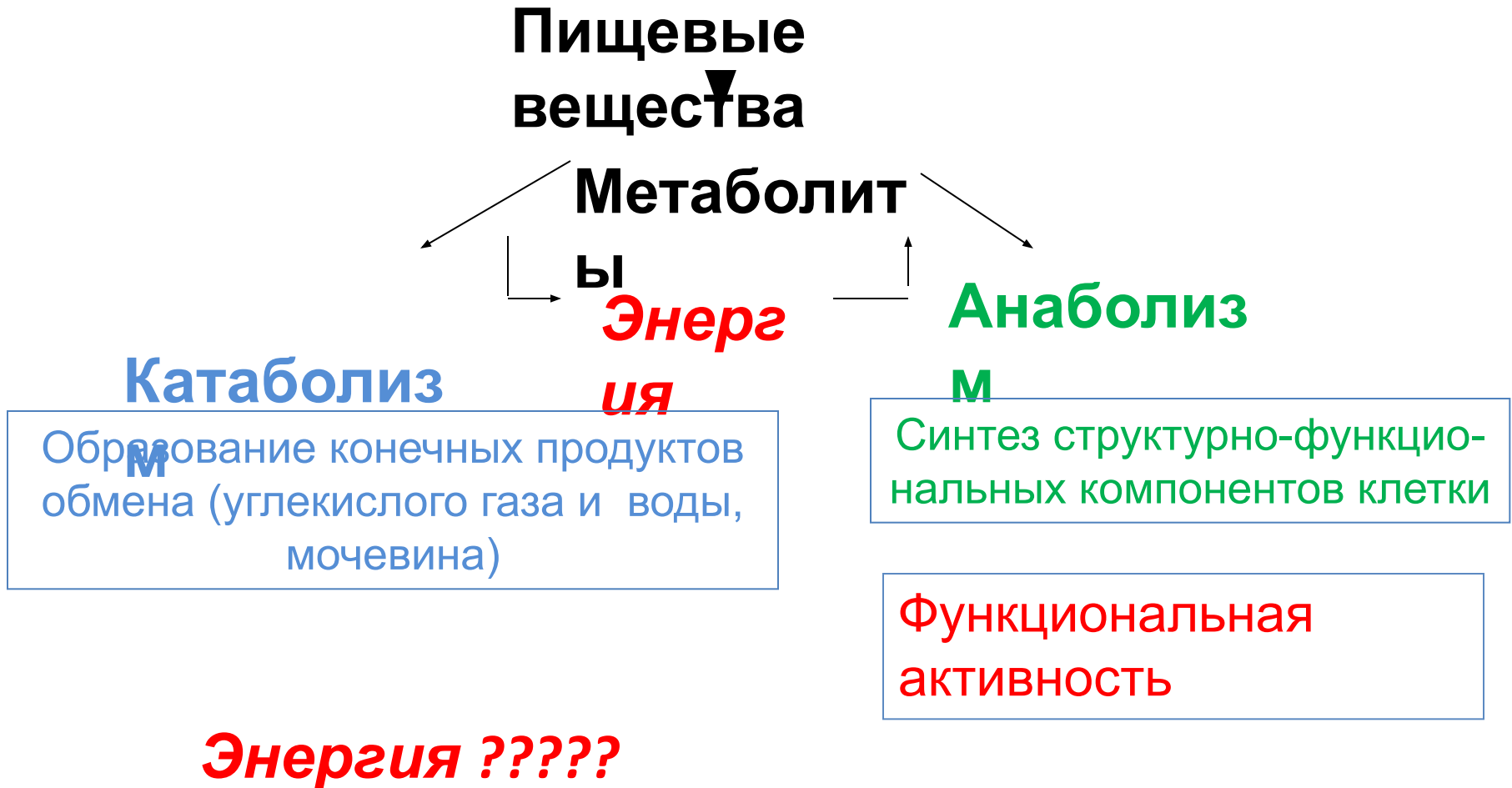
мера беспорядка (случайности) в системе
(S)



Энтропи
я
растет!



ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ.



АТФ



Fritz Albert Lipmann (1899-1986)

**“ATP is energy-transferring molecule
in the cell” (1941)**



Karl Lohmann (1898-1978) –

the discoverer of ATP (1929)

В организме АТФ синтезируется путём фосфорилирования АДФ:

$\text{АДФ} + \text{НЗРО}_4 + \text{энергия} \rightarrow \text{АТФ} + \text{Н}_2\text{О}$.

Фосфорилирование АДФ возможно тремя способами:

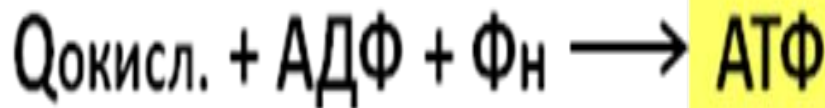
1-субстратное фосфорилирование,
2-окислительное фосфорилирование,
3- фотофосфорилирование в процессе фотосинтеза у растений.

Цикл $\text{АТФ} \leftrightarrow \text{АДФ} + \text{Ф}$

Реакция фосфорилирования



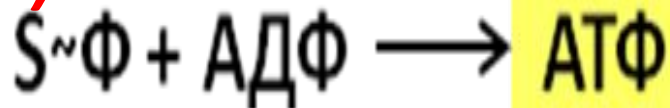
клетке двумя путями: - **окислительное фосфорилирование:** синтез АТФ с использованием энергии выделяемой при **окислении** **S:**



Q – это энергия окисления

субстрата

- **субстратное фосфорилирование:** синтез АТФ с использованием энергии **S (макроэрга)**

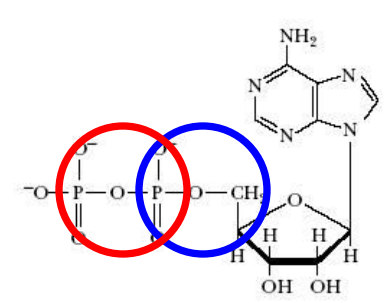
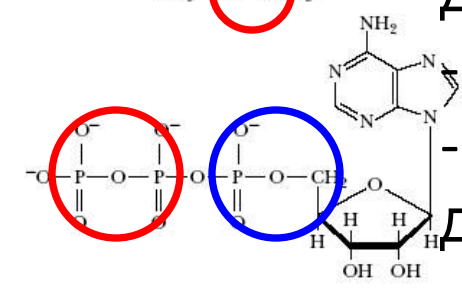
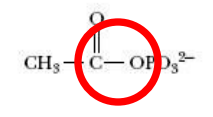
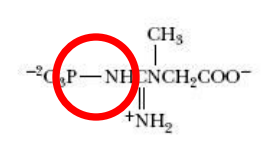
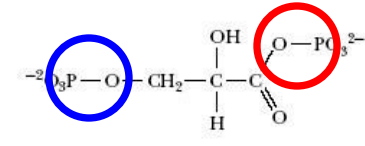
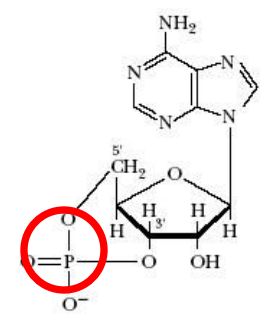
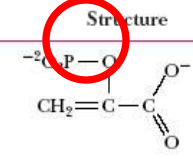


Макроэргические соединения имеют макроэргические связи, т. е. связи, при гидролитическом расщеплении которых высвобождается более 30 кДж/моль (или 7 ккал/моль)

Три способа анаэробного синтеза АТФ

1. Субстратное фосфорилирование- в процессе гликолиза в ходе фосфоглицераткиназной реакции и пируваткиназной реакции, в ЦТК в реакции катализируемой сукцинил-КоА-синтазой с участием нуклеозиддифосфаткиназы(реакции идут без участия кислорода).
2. Получение АТФ из фосфокреатина (это аварийный запас, который можно быстро использовать для получения АТФ и спасти жизнь), но запасы фосфокреатина расходуются очень быстро – за несколько секунд.
3. Образование АТФ из АДФ под действием аденилаткиназы.

| Compound (and Hydrolysis Product) | (kJ/mol) |
|--|--------------------|
| Phosphoenolpyruvate (pyruvate + P _i) | -62.2 |
| 3',5'-Cyclic adenosine monophosphate (5'-AMP) | -50.4 |
| 1,3-Bisphosphoglycerate (3-phosphoglycerate + P _i) | -49.6 |
| Creatine phosphate (creatine + P _i) | -43.3 |
| Acetyl phosphate (acetate + P _i) | -43.3 |
| Adenosine-5'-triphosphate (ADP + P _i) | -35.7 [†] |
| Adenosine-5'-triphosphate (ADP + P _i), excess Mg ²⁺ | -30.5 |
| Adenosine-5'-diphosphate (AMP + P _i) | -35.7 |

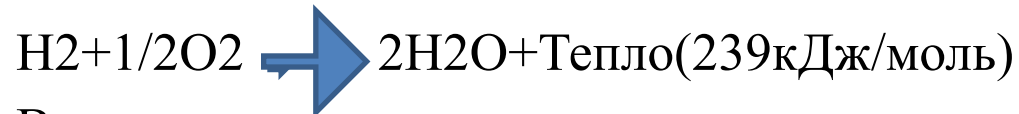


Макроэрг и

- нуклеозидтрифосфаты,
- нуклеозиддифосфаты,
- креатинфосфат,
- 1,3-дифосфоглицерат,
- ацетил-КоА
- фосфоенолпируват и др.

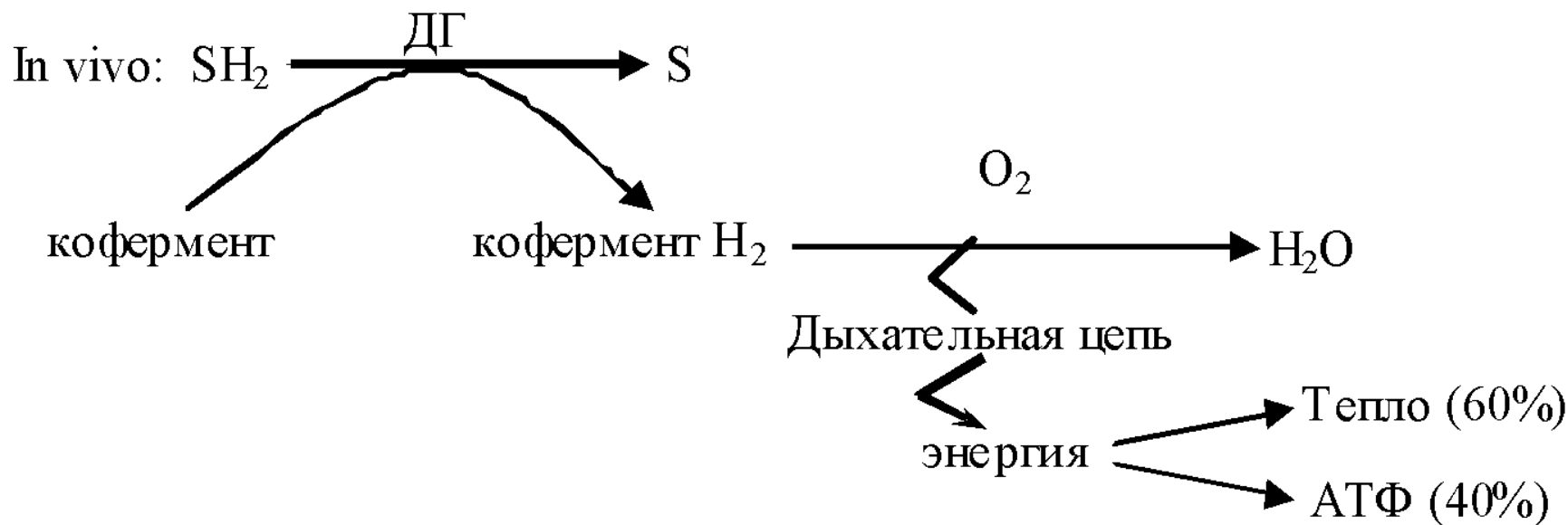
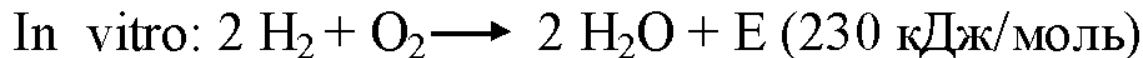
Тканевое дыхание- это последовательность окислительно-восстановительных реакций

Они катализируются оксидоредуктазами и протекают при участии внутренней мембраны митохондрий. В митохондриях поток электронов устремляется от субстрата, содержащего водород, к молекулярному кислороду. Реакция соединения водорода с кислородом сопровождается выделением большого количества тепла:



В клетке такая реакция протекать не может и отличием биологического окисления является , во первых постепенное, поэтапное выделение энергии, во вторых, окисляется не молекулярный водород, а в составе субстратов (SH₂), в третьих энергия высвобождается не только в виде тепла, но и аккумулируется в виде электрохимического потенциала.

Синтез АТФ в организме сопряжен с реакцией образования воды

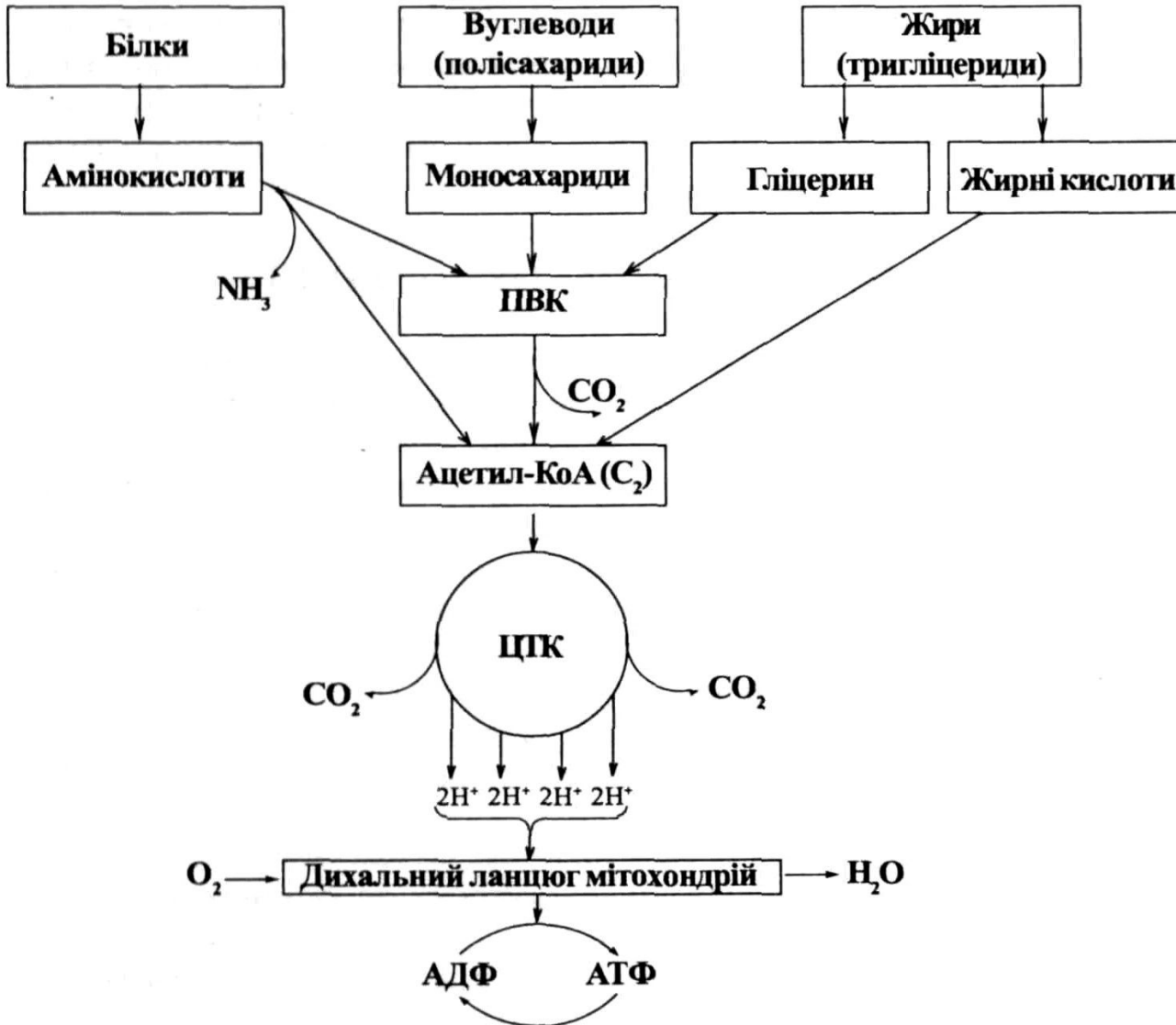


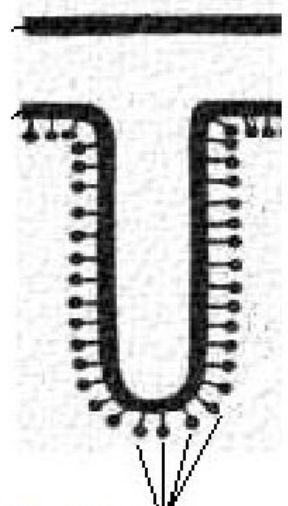
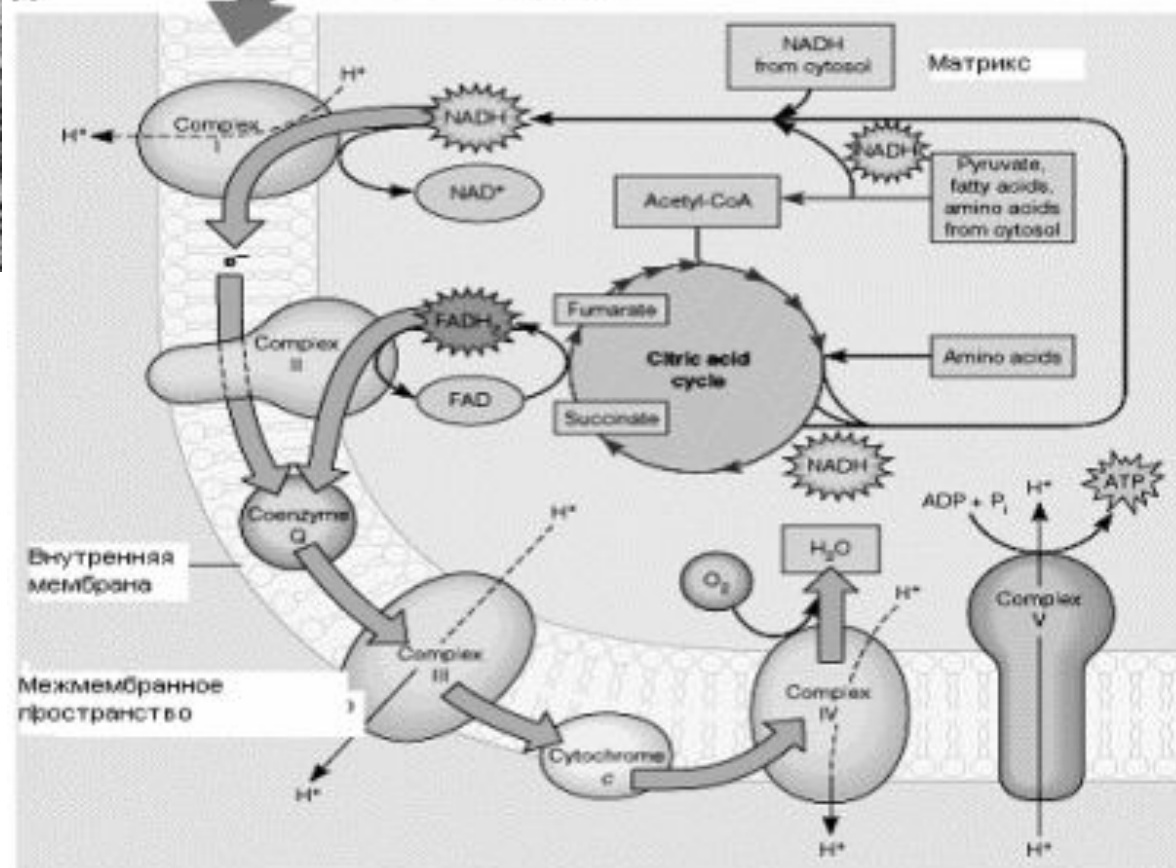
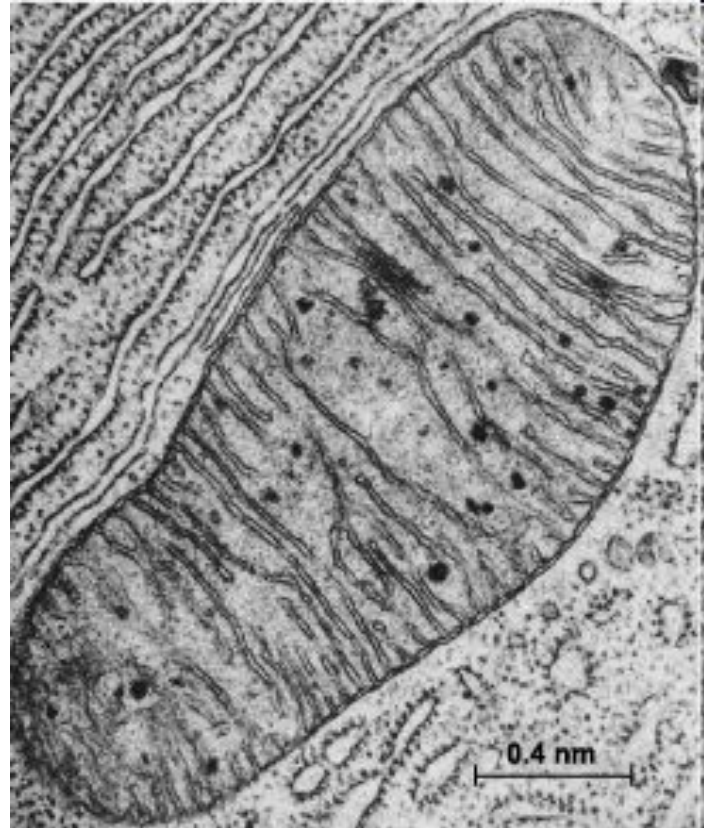
Этот процесс происходит многостадийно с помощью многих

участников, которые называются **дыхательной цепью (ДЦ)**.

Тканевое дыхание – окисление S кислородом воздуха до

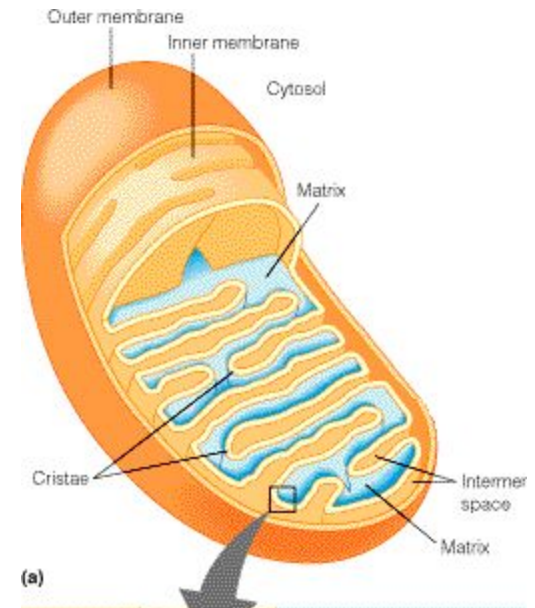
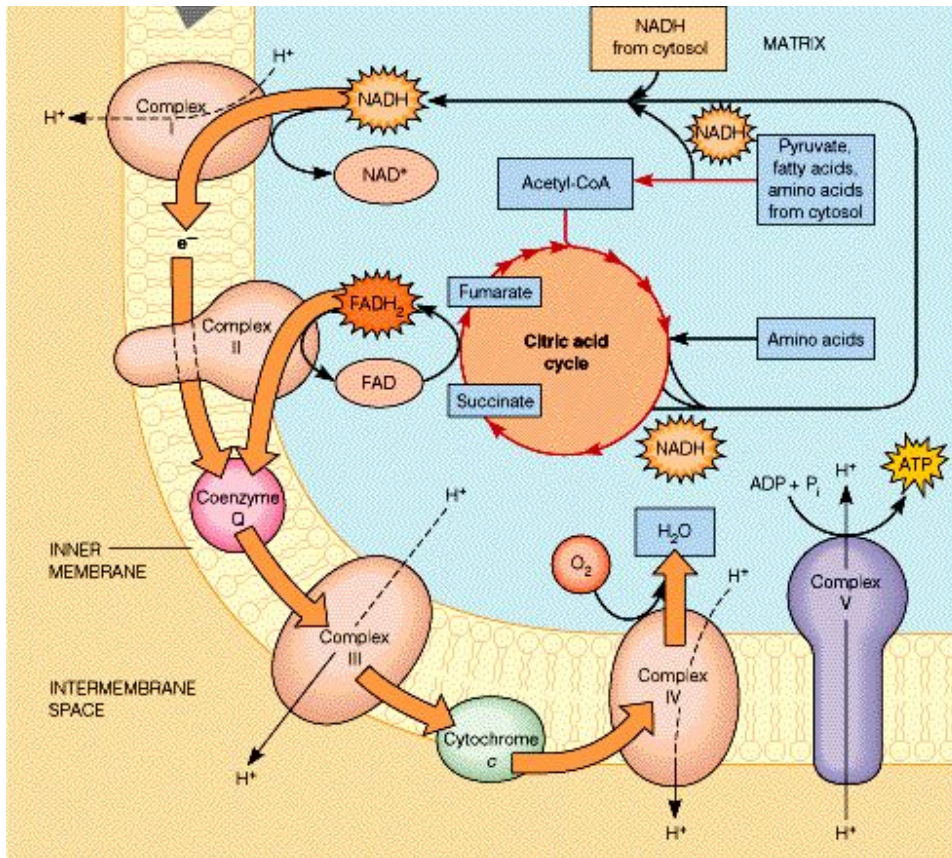
Общий путь катаболизма



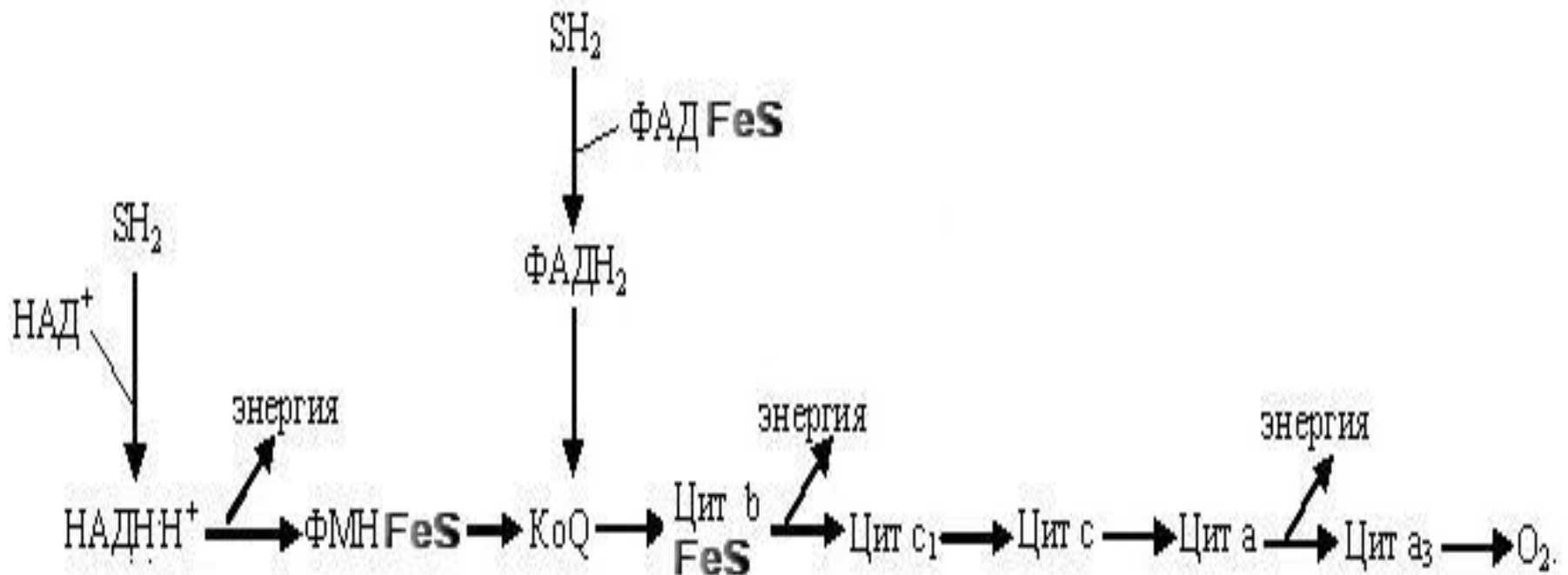


АТФ-синтаза

Ферменты дыхательной цепи локализованы на внутренней мембране митохондрий-оксидоредуктазы.



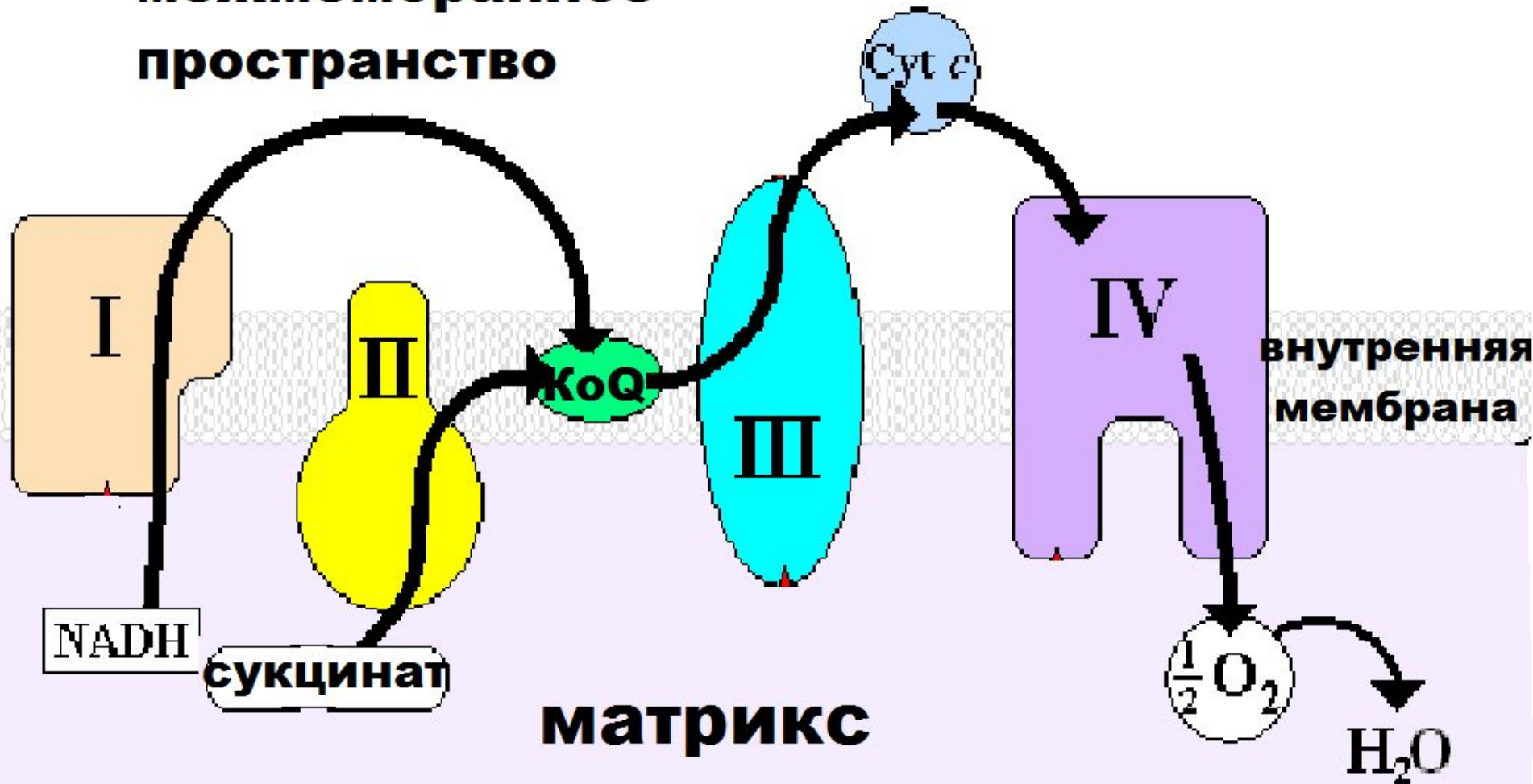
Дыхательная цепь Цепь переноса электронов (ЦПЭ)



Выделение энергии происходит постепенно, порциями.

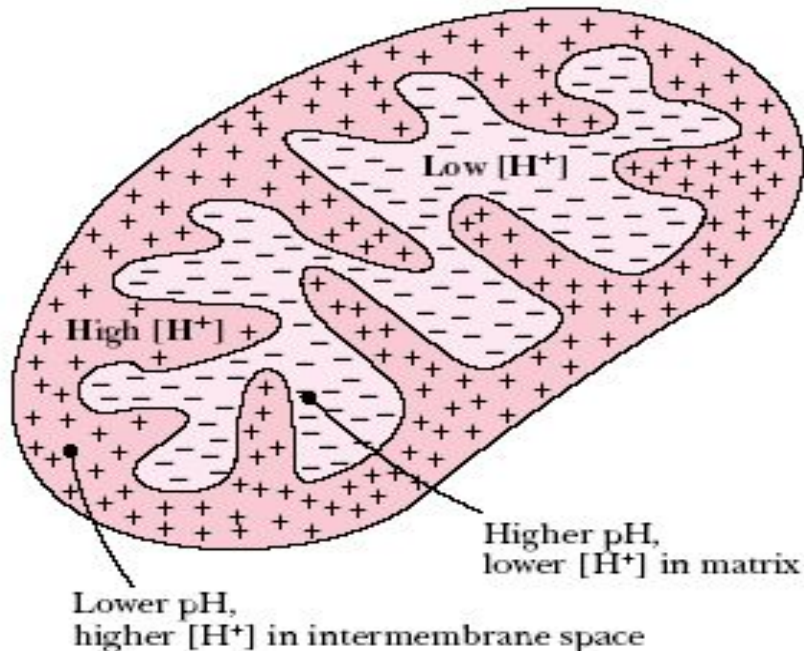
Митохондриальная цепь переноса электронов

межмембранное пространство

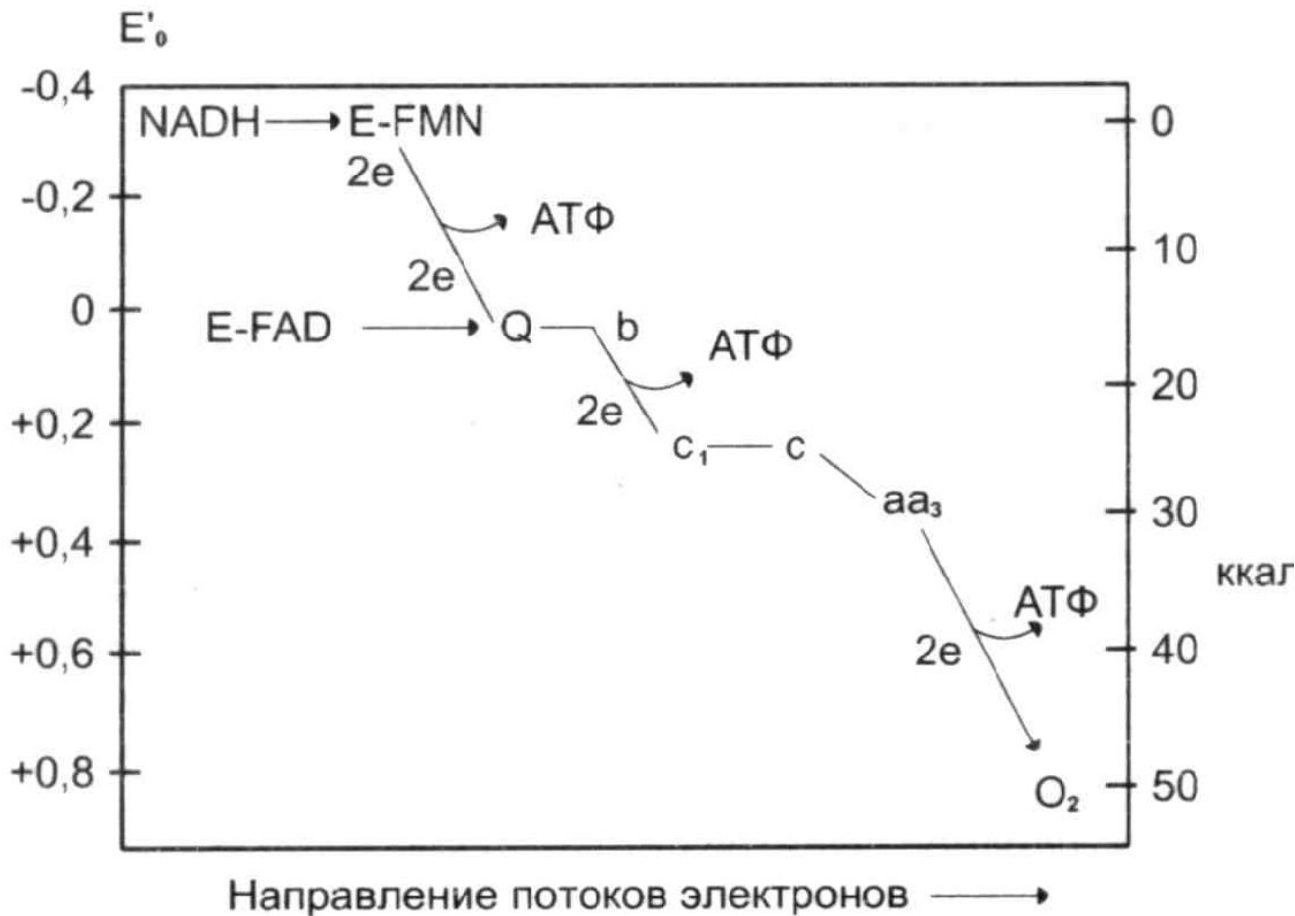


Принцип работы дыхательной цепи: разделение потоков протонов и электронов, поступающих из матрикса. Электроны передаются на конечный акцептор — кислород; протоны выбрасываются в митохондриальное межмембранное пространство (ММП).

Electron transport drives H^+ out and creates an electrochemical gradient



Место того или иного переносчика в ДЦ определяется величиной редокс-потенциала



| $E'_0, \text{ в}$ |
|-------------------|
| - 0,32 |
| - 0,19 |
| + 0,03 |
| + 0,10 |
| + 0,12 |
| + 0,21 |
| + 0,25 |
| + 0,29 |
| + 0,55 |
| + 0,82 |

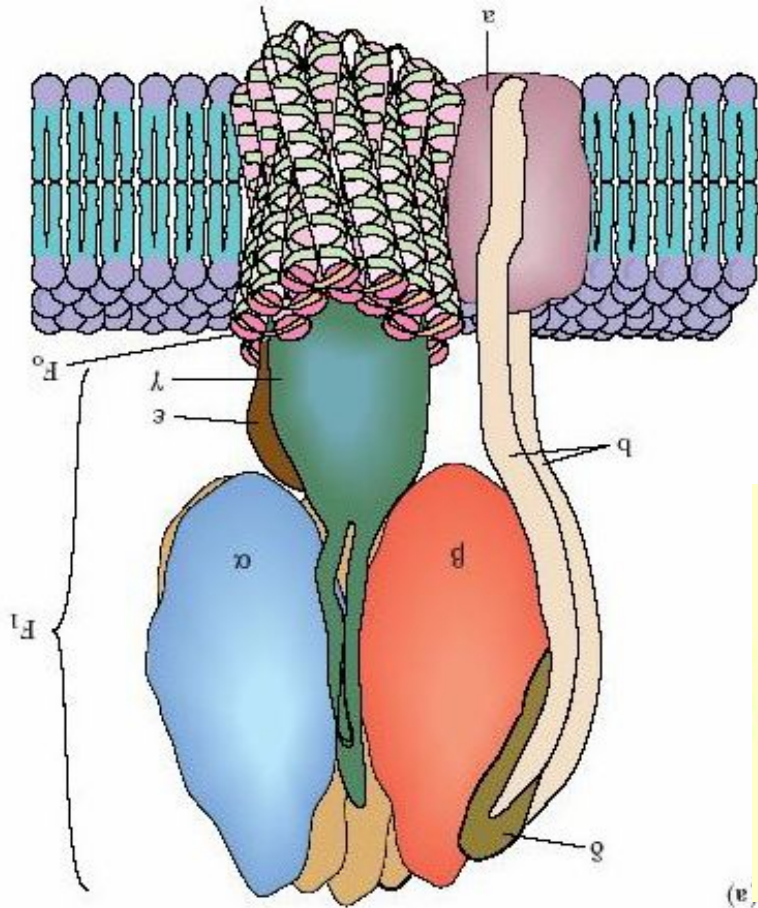
Дыхательные ферменты расположены в порядке
 ↑ величины редокс - потенциала

Редокс-потенциал (E_o')

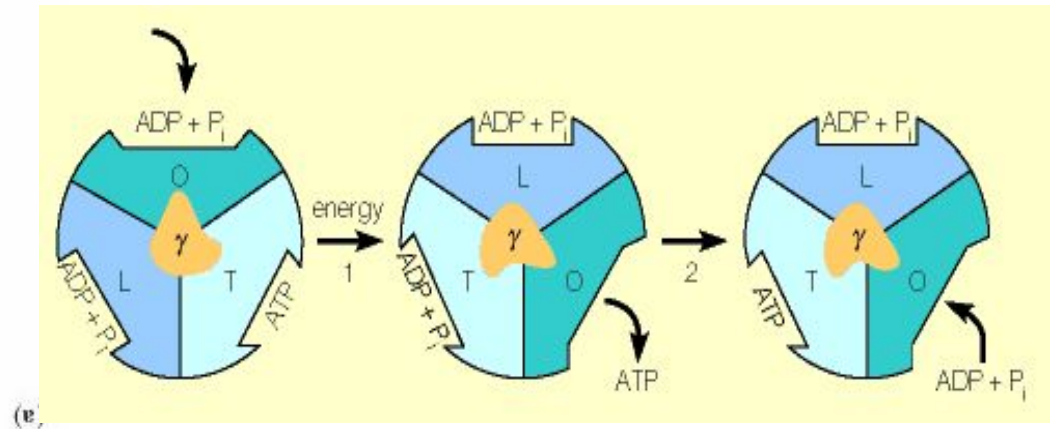
численно равен электродвижущей силе в Вольтах, возникающей между растворами окислителя и восстановителя (*концентрации 1М, рН = 7,0, температура 25°C*).

Чем отрицательнее E_o системы, тем выше ее способность отдавать электроны (*восстановители*). Чем положительнее редокс-потенциал, тем выше способность вещества присоединять электроны (*окислители*).

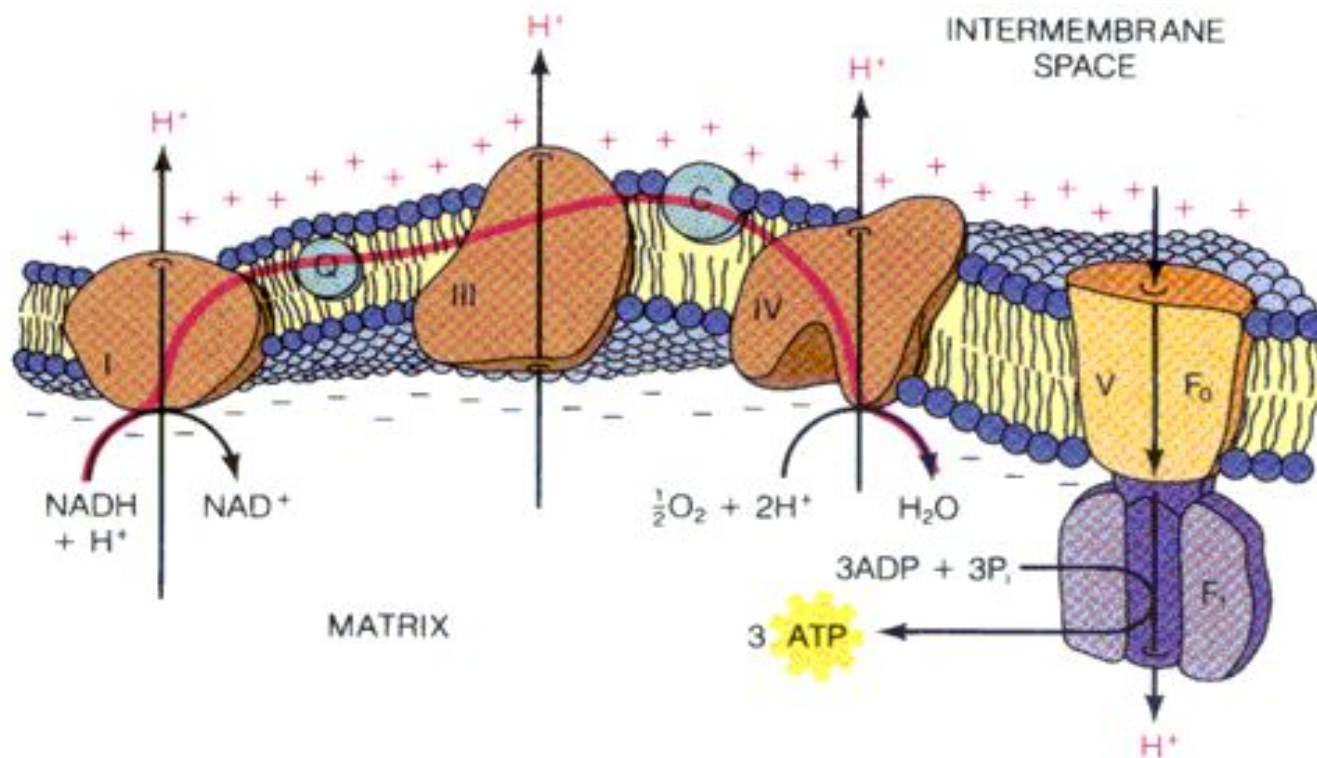
Связь между транспортом электронов в ДЦ и синтезом АТФ: протонная АТФ-синтаза



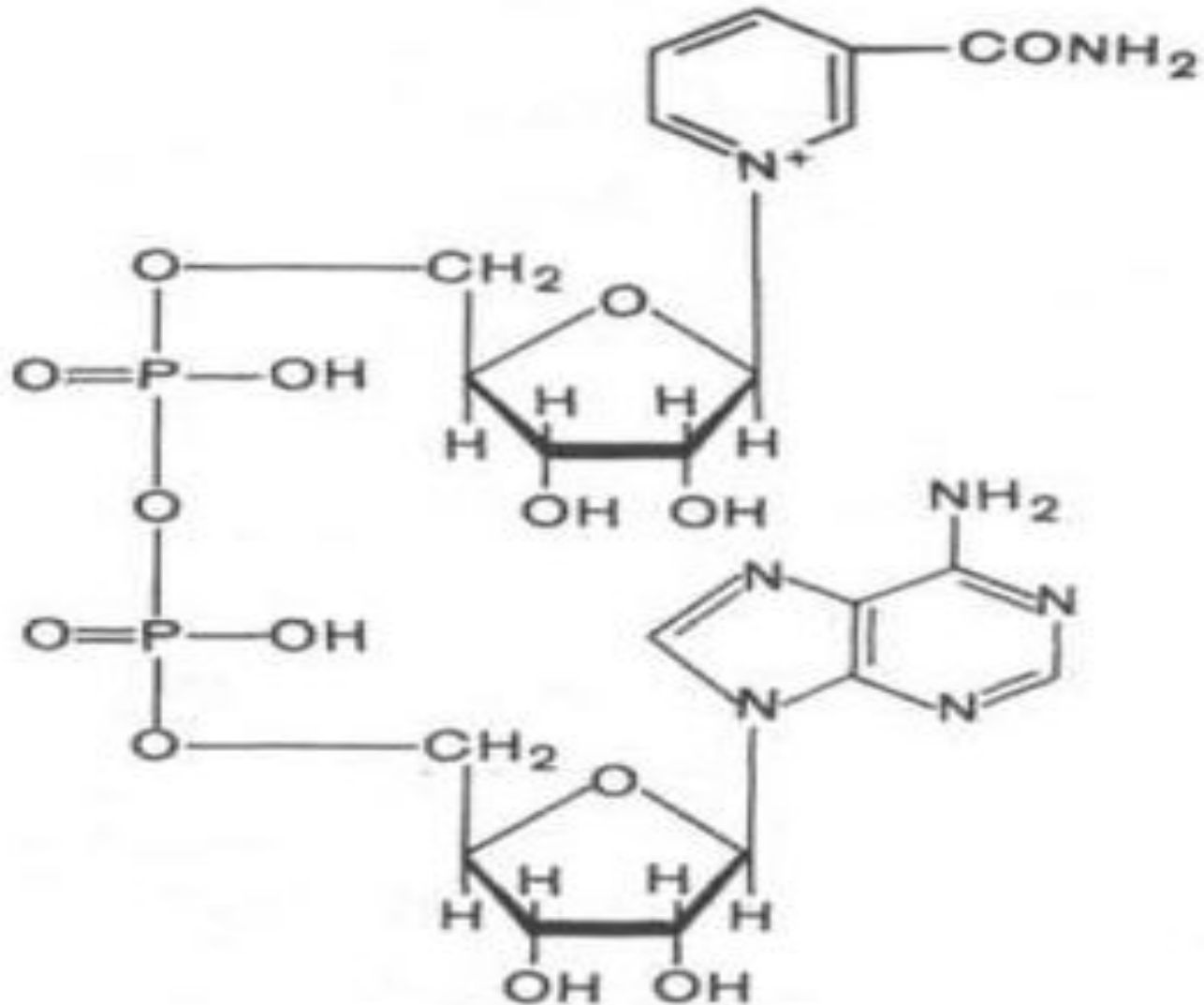
Дальнейшие исследования (Дж. Уокер, П. Бойер, Нобелевская премия 1997 г.) подтвердили предположения Митчелла.



- 1) НАДН - КоQ-редуктаза (**НАДН-дегидрогеназа**);
 - 2) сукцинат – КоQ-редуктаза (**сукцинатдегидрогеназа**);
 - 3) КоQ-цитохром с-редуктаза (**QH₂-дегидрогеназа**);
 - 4) цитохром а –оксидаза;
 - 5) **АТФ-синтаза (или протонная АТФ-аза (H⁺- АТФ-аза))**
- и 2 подвижных переносчиков: убихинона и цит.С

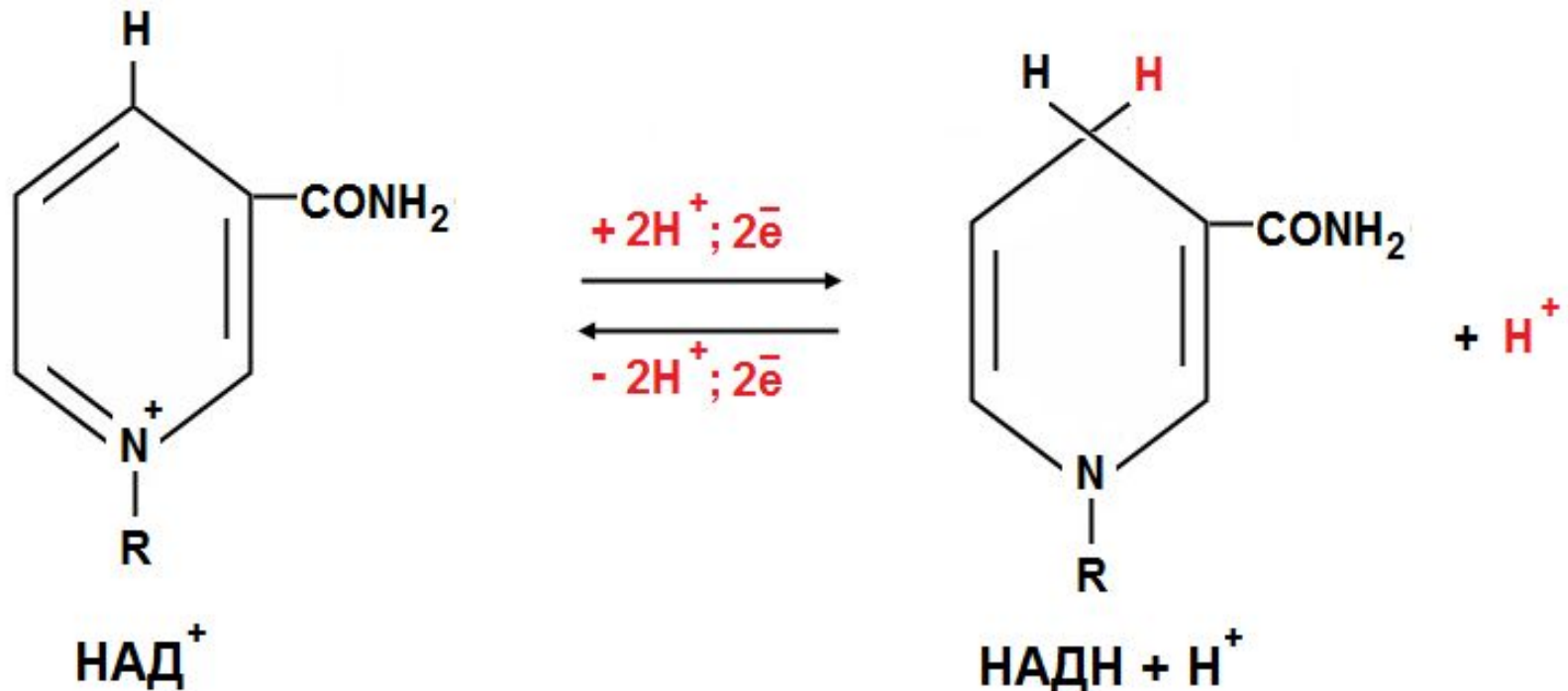


НАД - никотинамидадениндинуклеотид

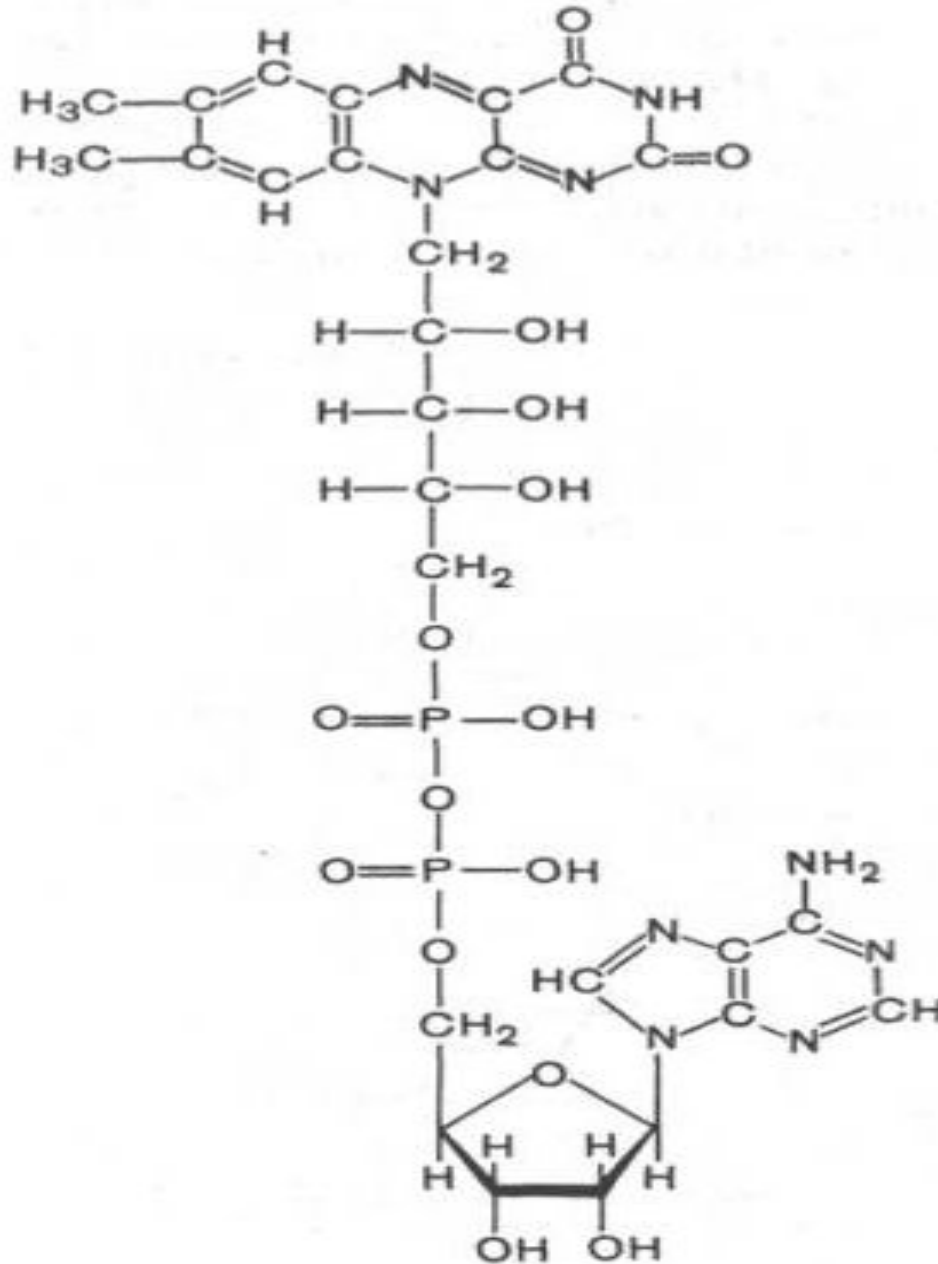


Роль НАД

- Перенос протонов и электронов от субстратов на ФАД (ФМН):
- Связана с наличием в структуре НАД витамина В₅ (РР)

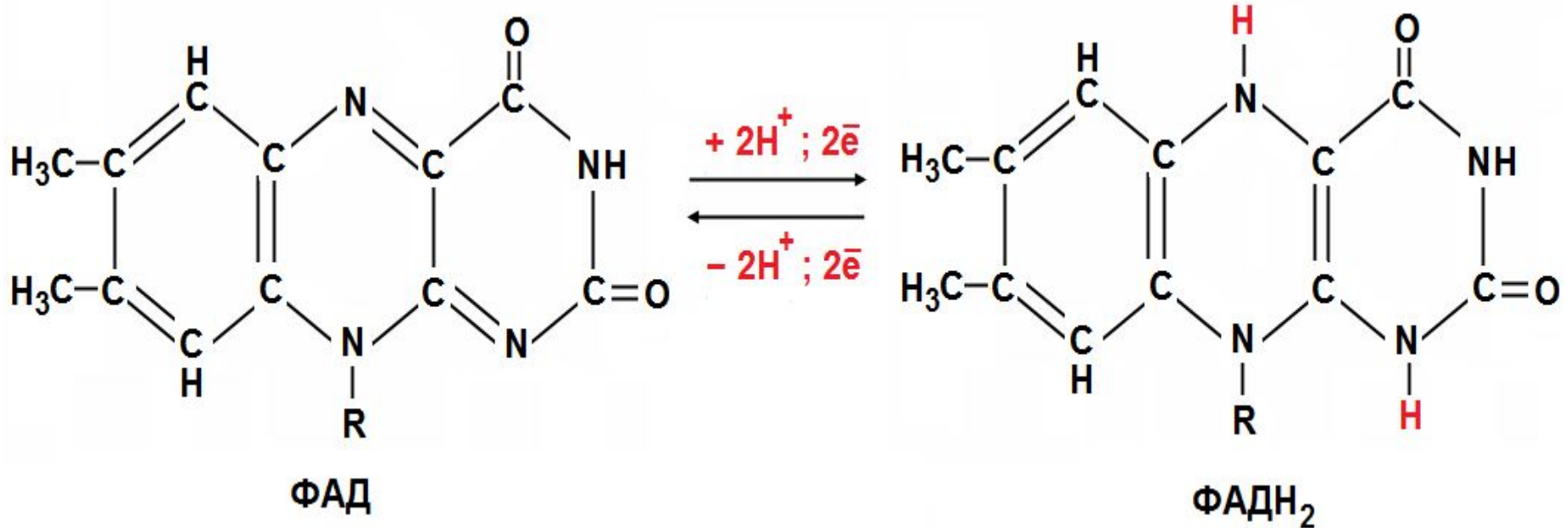


ФАД - флавинадениндинуклеотид



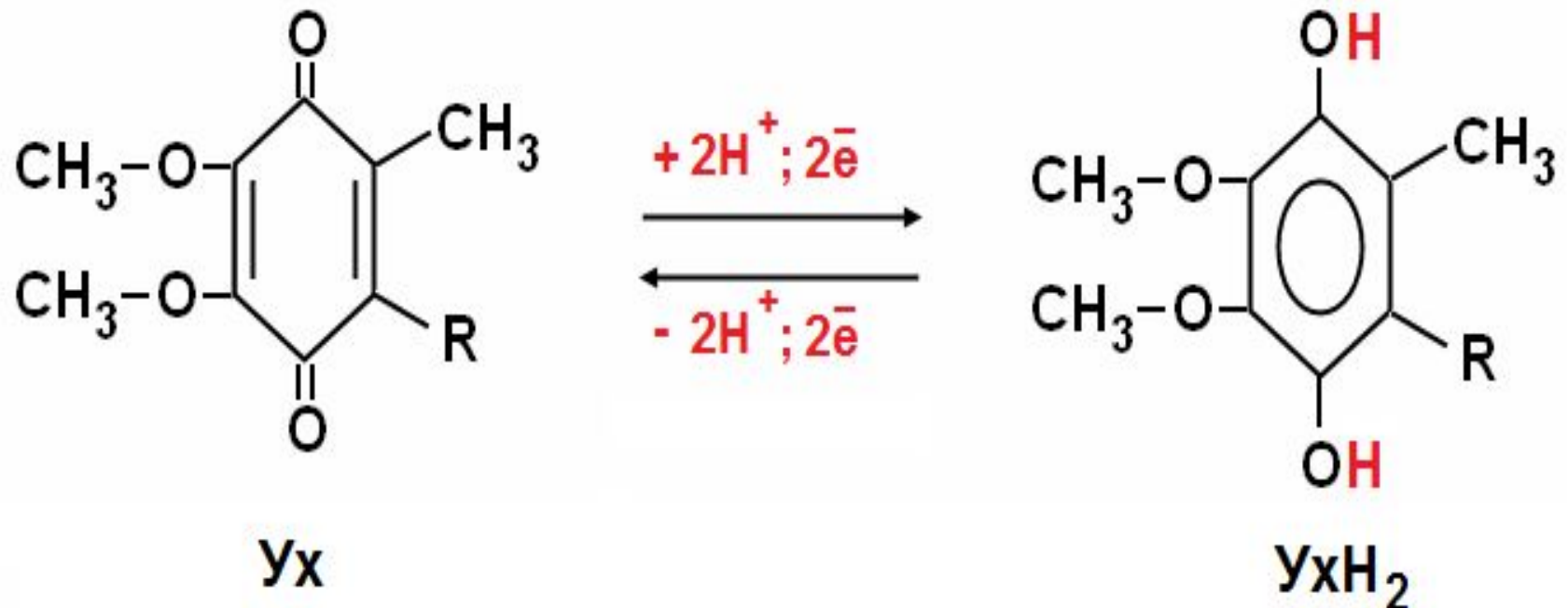
Роль ФАД (ФМН)

- Перенос протонов и электронов от НАДН₂ на убихинон
- Связана с наличием в структуре ФАД (ФМН) витамина В₂



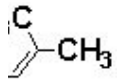
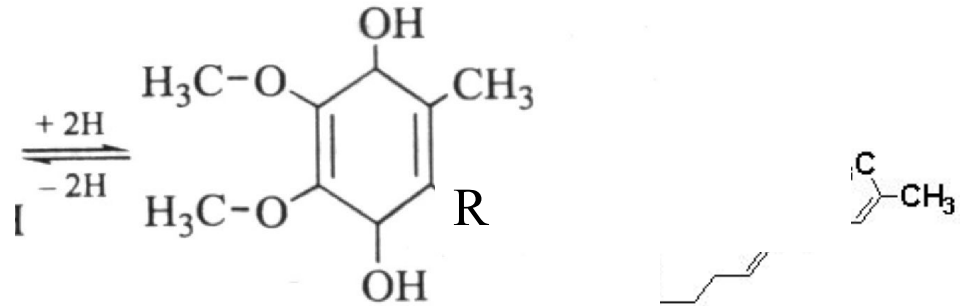
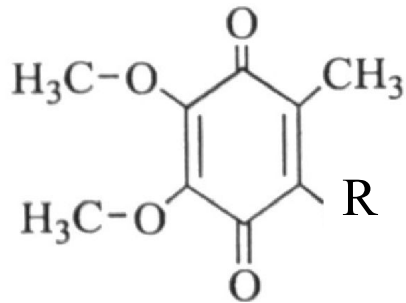
Роль убихинона

- Перенос электронов от ФАДН₂ на цитохромы, а протонов – в межмембранное пространство.

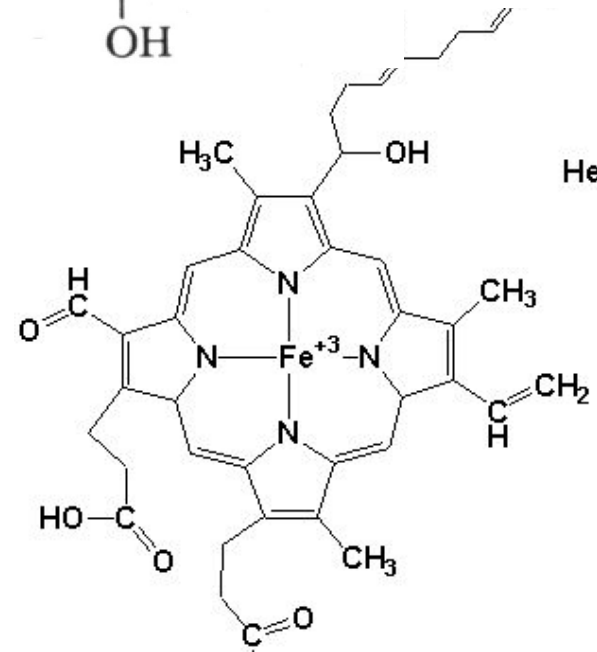


Компоненты ДЦ

- Коензим Q (убихинон)



Heme A



- Цитохромы b, c₁, c, a, a₃



- железосерные белки (FeS-белки)**; цитохромы и железосерные белки переносят только электроны. Железосерные белки ассоциированы с ФМН, ФАД и цитохромом b.

Цитохромы (Цх)

- гемсодержащие ферменты, осуществляют перенос электронов за счет изменения степени окисления атома железа в составе гема.

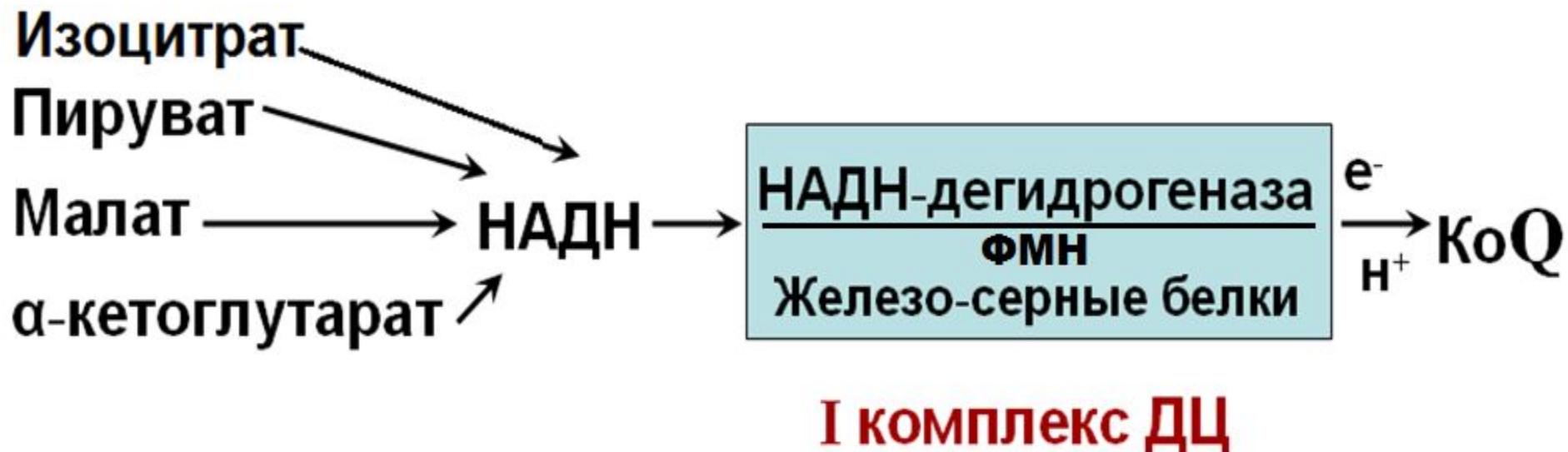


- **Аутооксидабельность** – способность передавать электроны непосредственно на кислород.
- Единственным аутооксидабельным является цитохром aa_3 – цитохромоксидаза.
- **Цитохромоксидаза** состоит из 6 субъединиц, каждая из которых содержит гем и атом меди.
- Ионы меди также могут переносить электроны:



I комплекс дыхательной цепи – **НАДН-дегидрогеназа** – ФМН-содержащий фермент. В комплекс входит также группа железо-серных белков.

Субстрат: НАДН+H⁺



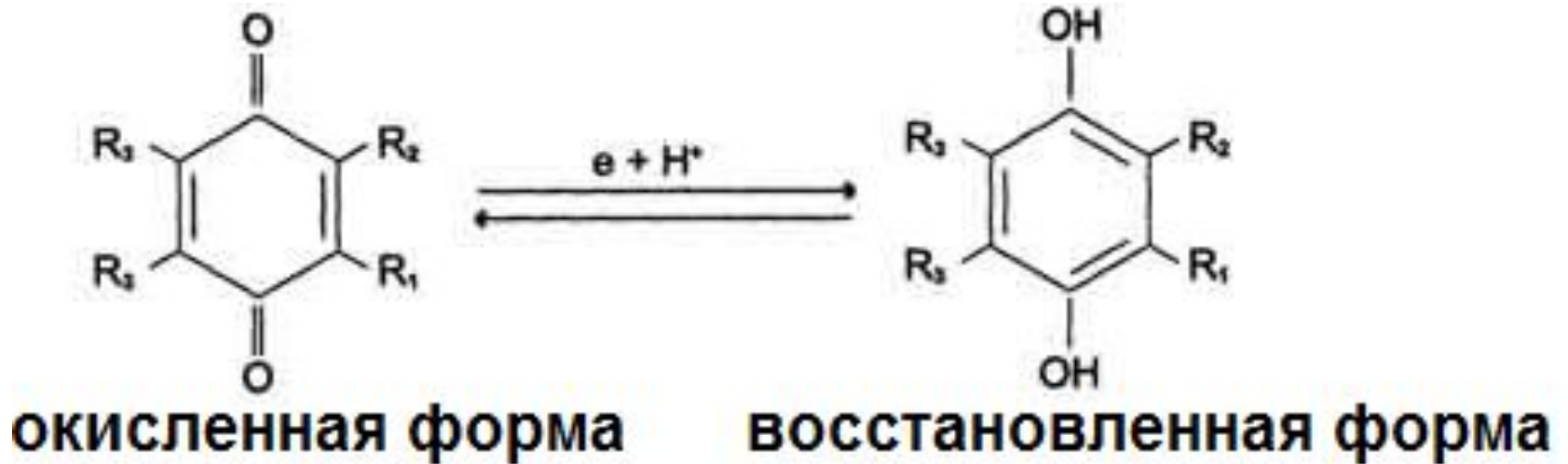
II комплекс дых. цепи – ФАД-содержащий фермент -сукцинатдегидрогеназа

Субстрат: сукцинат (янтарная кислота)



II комплекс ДЦ

УБИХИНОН (Коэнзим Q)

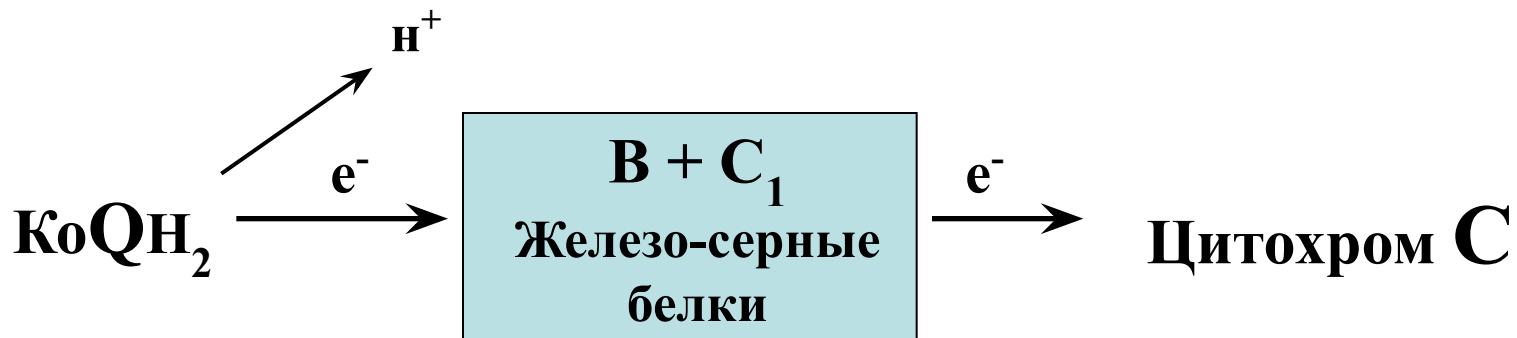


Убихинон, принимая электроны и протоны, переходит в восстановленное состояние (КоQH₂)

После КоQ в дыхательной цепи расположена группа цитохромов – гем-содержащих ферментов, обеспечивающих транспорт электронов.

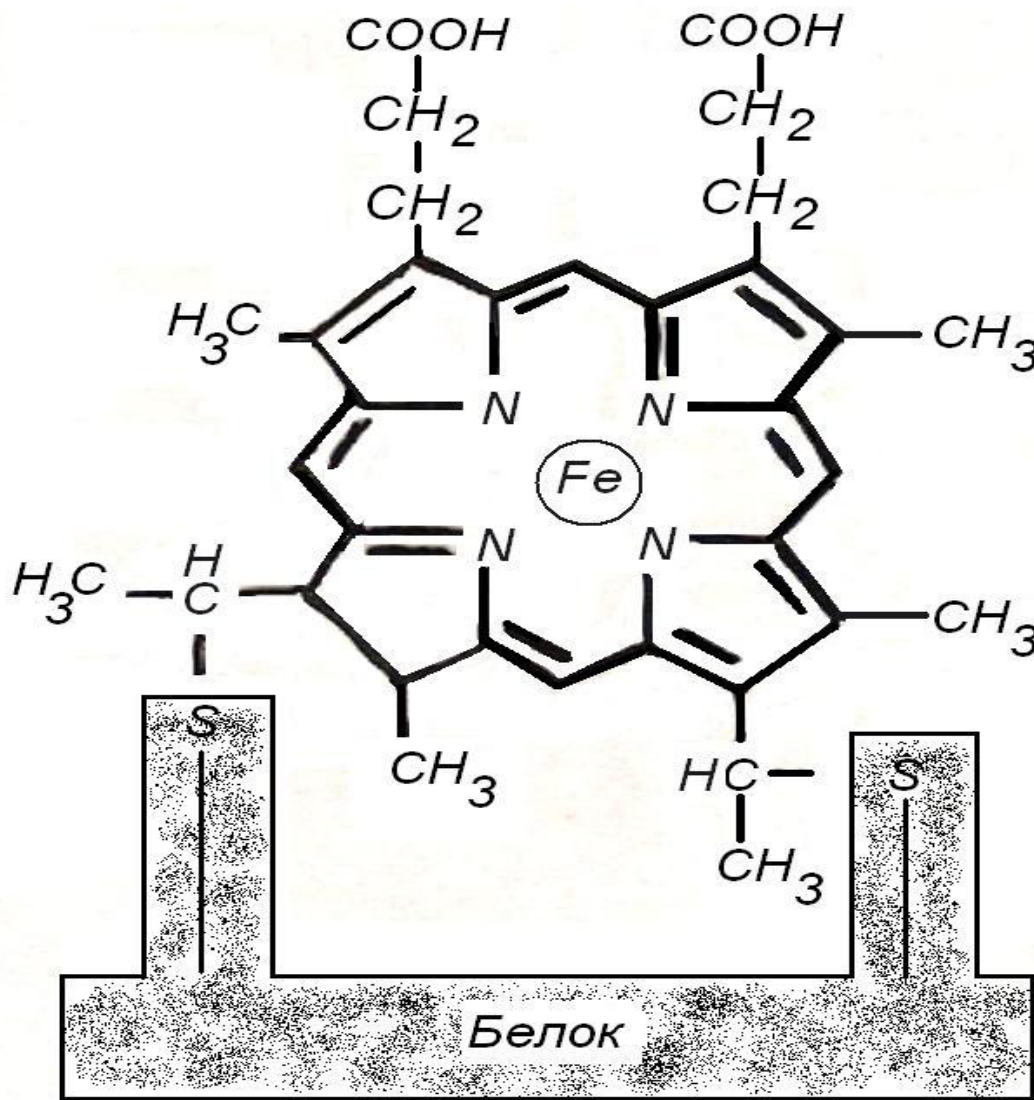
Различают несколько классов цитохромов: А, В, С, образующих организованные комплексы.

III комплекс дыхательной цепи – **цитохромС-редуктаза**. В состав комплекса входит цитохромы **В + С₁**, а так же группа железосерных белков.



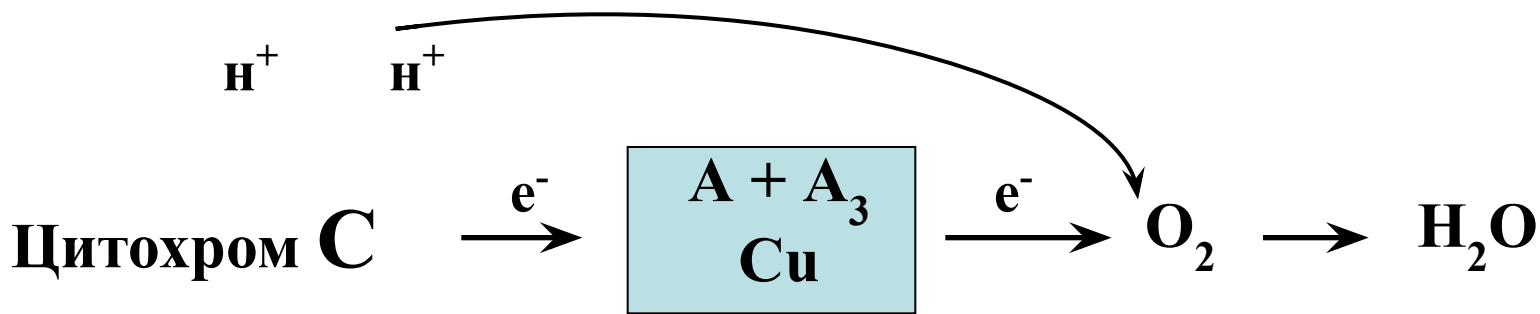
III комплекс ДЦ

Цитохром С

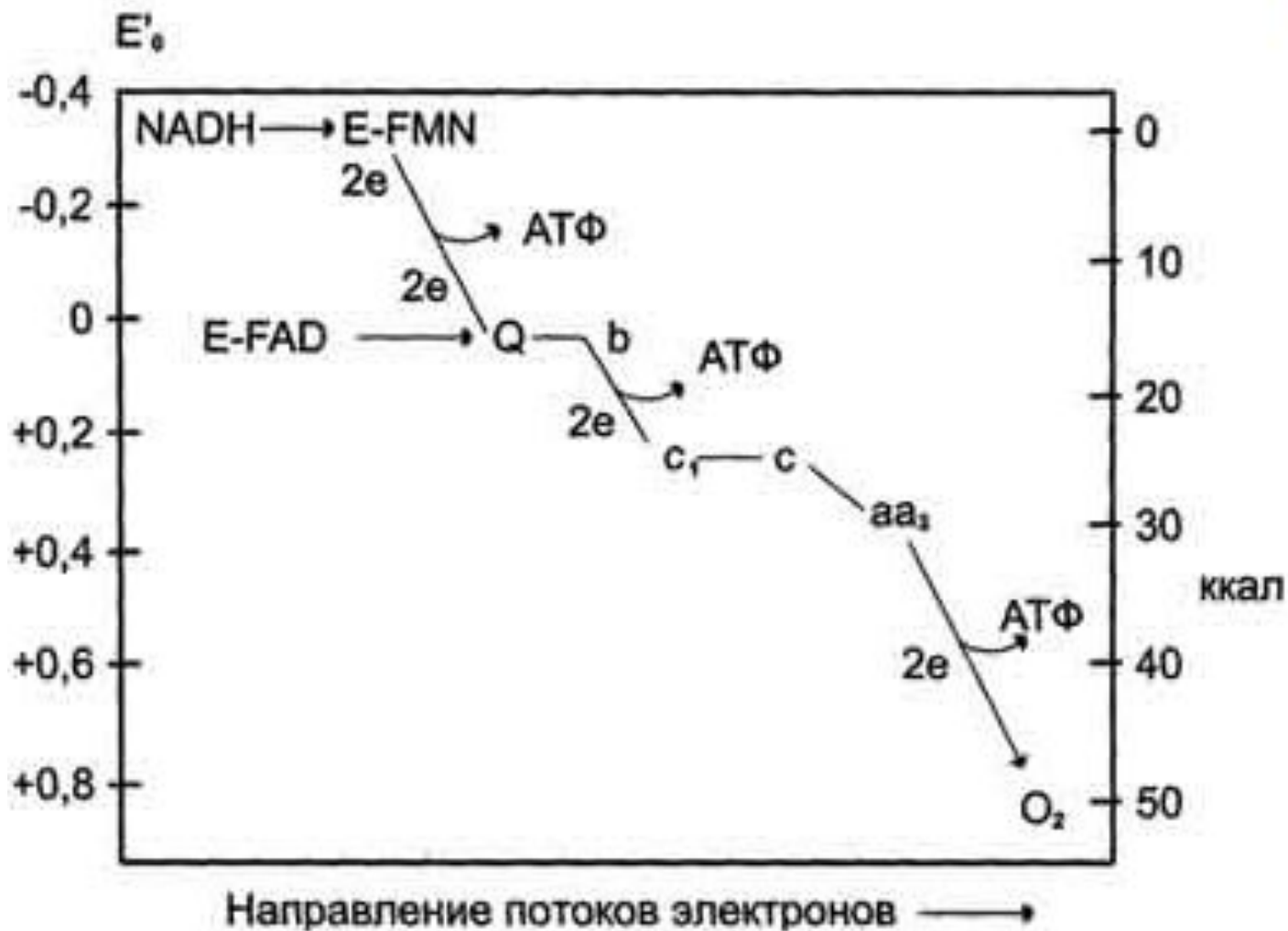


IV комплекс дыхательной цепи –
цитохромоксидаза (ЦХО).

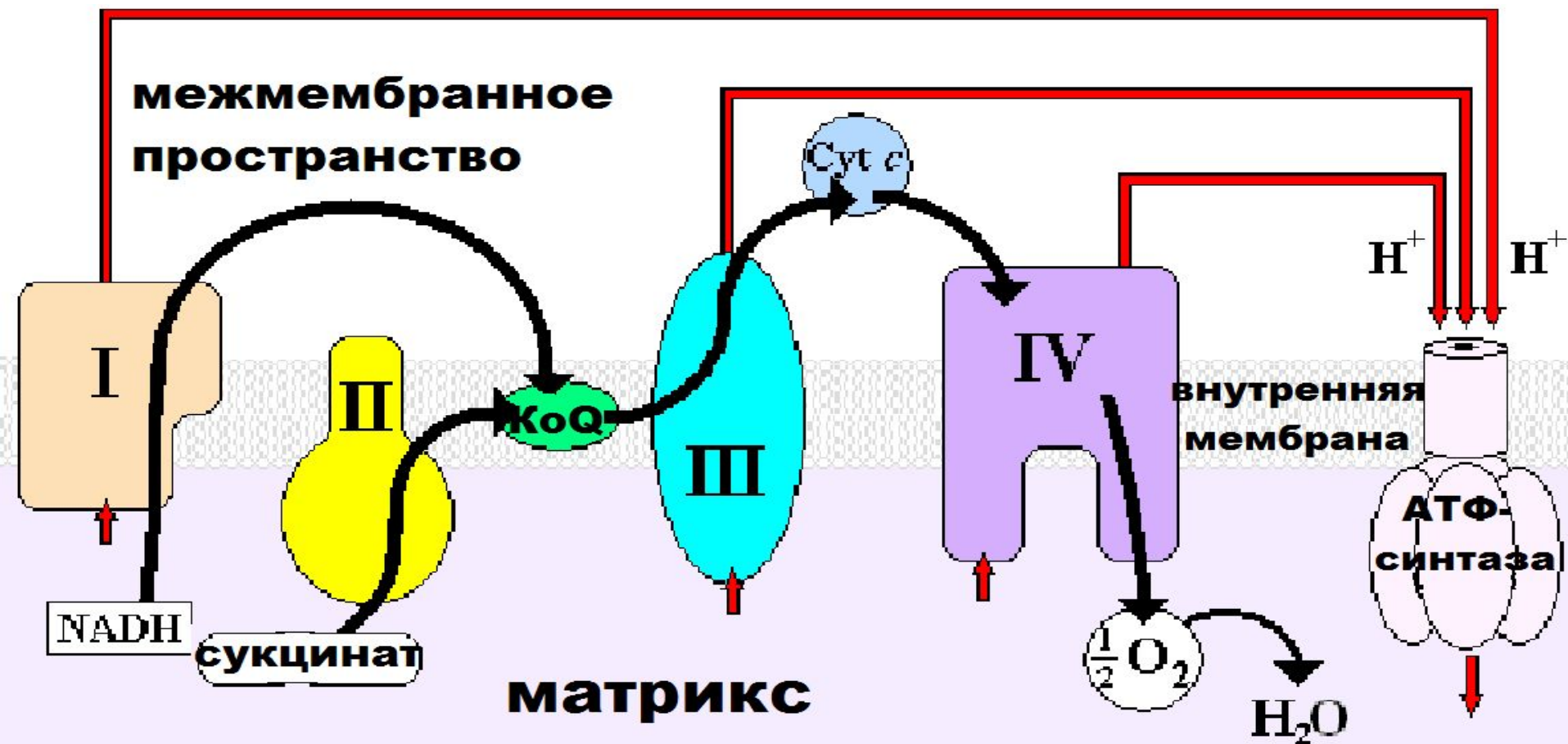
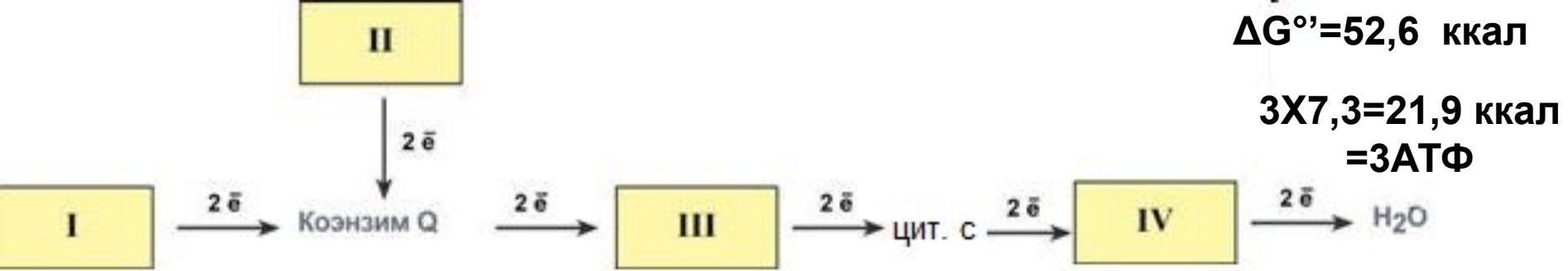
Цитохромоксидаза представляет комплекс
цитохрома A + A₃, содержащий в своем составе
Cu.

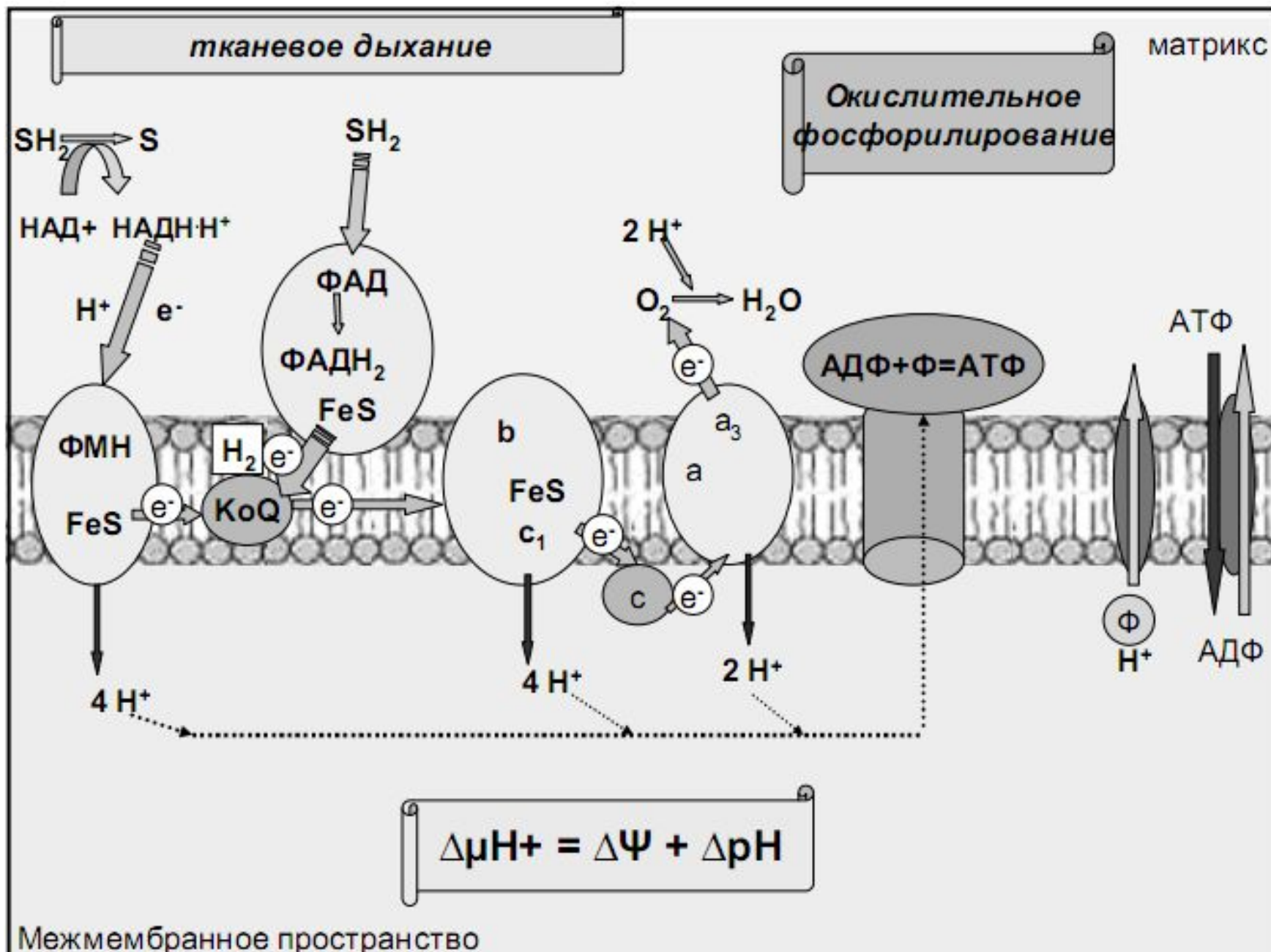


IV комплекс ДЦ



Изменение свободной энергии при переносе электронов по ЦПЭ. **E-FMN** - комплекс **I**;
E-FAD - комплекс **II**; **b-c1** - комплекс **III**; **aa3** - комплекс **IV**





Хемиоосмотическая теория окислительного фосфорилирования (Нобелевская премия 1978 г.)



The Nobel Prize in Chemistry 1978

"for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory"



Peter D. Mitchell

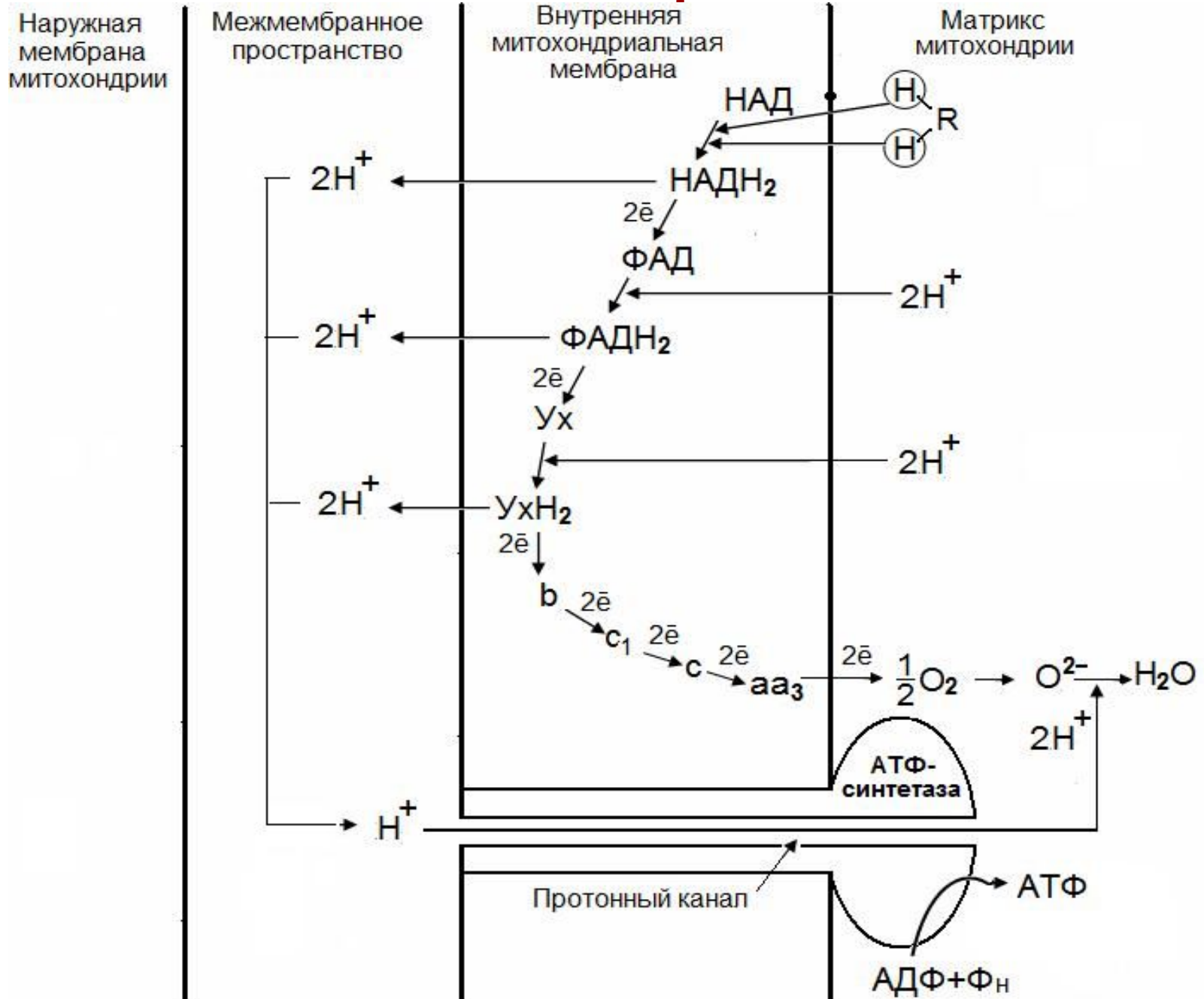
United Kingdom

Glynn Research Laboratories
Bodmin, United Kingdom

b. 1920

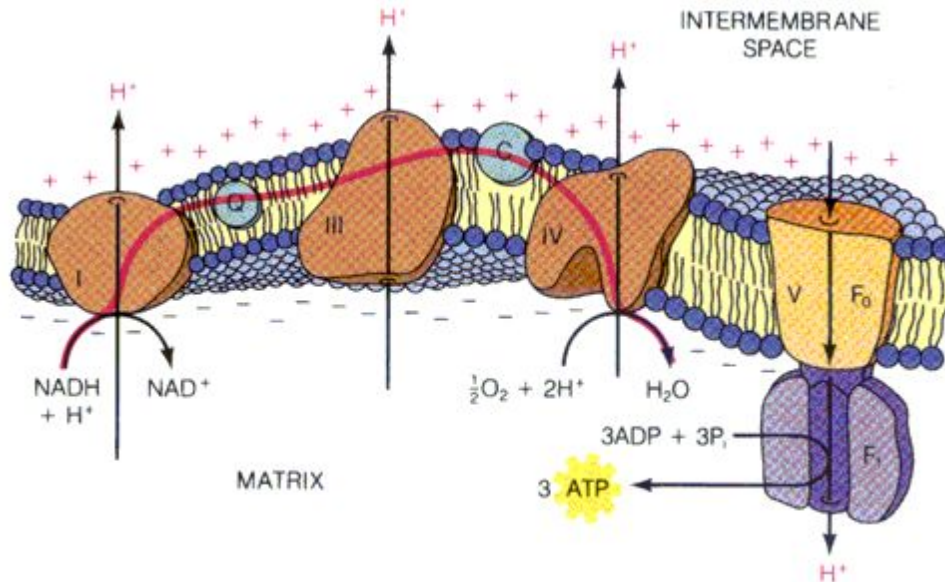
d. 1992

Хемиосмотическая теория П. Митчелла



Основные постулаты хемиосмотической теории:

- внутренняя митохондриальная мембрана (ВММ) непроницаема для ионов
- за счет энергии транспорта электронов через I, III и IV комплексы ДЦ из матрикса «выкачиваются» протоны;
- возникающий на мембране *электрохимический потенциал (ЭХП)* и есть промежуточная форма запасания энергии;
- возвращение (транслокация) протонов в матрикс митохондрии через протонный канал V комплекса за счет ЭХП является движущей силой синтеза АТФ.



Хемиосмотическая теория П. Митчелла

(1961-1966 гг)

Дыхание и фосфорилирование связаны между собой через электрохимический потенциал H^+ на митохондриальной мембране.

Согласно Митчеллу, первичным событием в окислительном фосфорилировании является транслокация H^+ на наружную сторону внутренней митохондриальной мембраны, осуществляемую за счет окисления в дыхательной цепи.

Процесс протекает следующим образом:

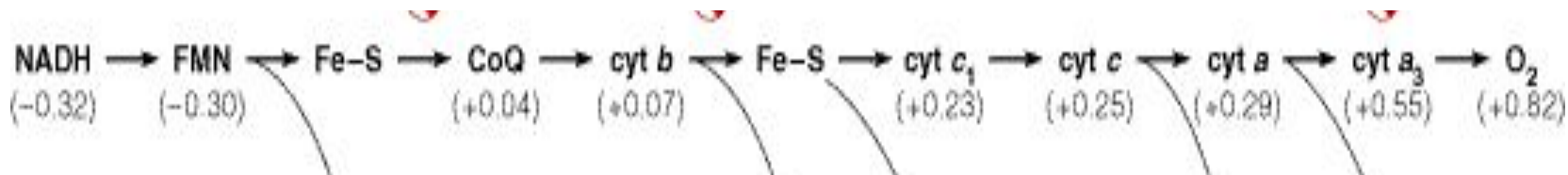
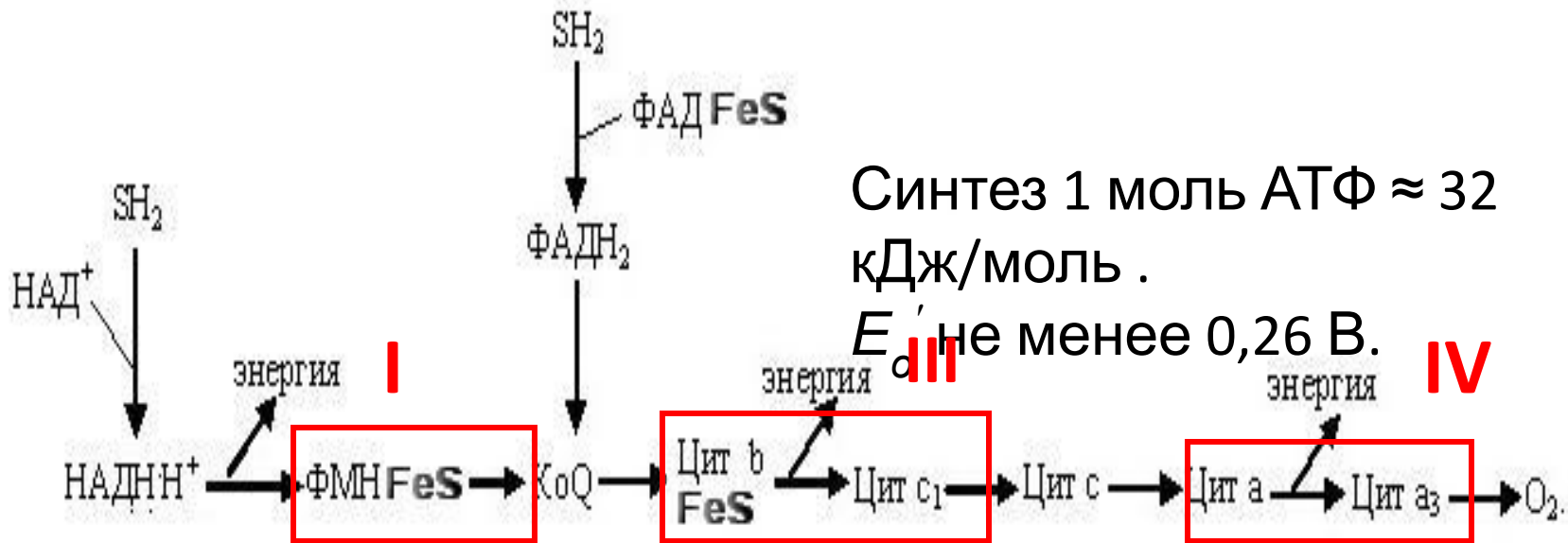
1. ДГГ НАДН₂ отдает пару \bar{e} на ДГГ ФАД, что позволяет ФАД принять пару протонов (H^+) из матрикса с образованием ФАДН₂. Пара H^+ , принадлежащих НАД выталкивается на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.
2. ДГГ ФАДН₂ выталкивает пару H^+ на наружную поверхность внутренней мембраны, а пару \bar{e} отдает на убихинон (Ух), который при этом получает способность присоединить пару H^+ из матрикса с образованием УхН₂.
3. УхН₂ выталкивает пару H^+ в межмембранное пространство, а \bar{e} переносятся через цитохромы на O_2 в матриксе. В итоге создается разница потенциалов и разница рН между поверхностями внутренней мембраны.

4. Разница потенциалов и разница рН обеспечивает движение протонов через протонный канал в матрикс. Протонный канал открывается, когда разность потенциалов превышает 0,2 В.
5. Движение протонов через протонный канал ведет к активации АТФ-синтетазы и синтезу АТФ из АДФ и H_3PO_4 .
6. Транспорт АТФ из матрикса в цитоплазму обеспечивается специфическим переносчиком – транслоказой. Этот фермент катализирует перенос 1 молекулы АТФ с одновременным переносом в обратном направлении одной молекулы АДФ.

Таким образом, тканевое дыхание заряжает митохондриальную мембрану, а окислительное фосфорилирование разряжает ее, используя энергию мембранного потенциала для синтеза АТФ.

Энергетический эффект биологического окисления

Пункты сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.



- Эффективность окислительного фосфорилирования оценивают по **коэффициенту фосфорилирования Р/О**: количество молекул Ф, использованных для синтеза АТФ, в расчете на один атом поглощенного кислорода.

$$P/O \leq 3$$

Для НАД-зависимых S - $P/O = 3$;

Для ФАД-зависимых S - $P/O = 2$.

Дыхательный контроль

Регулируется скорость работы дыхательной цепи **энергетическим зарядом** клетки, т. е. соотношением **АТФ/АДФ**.

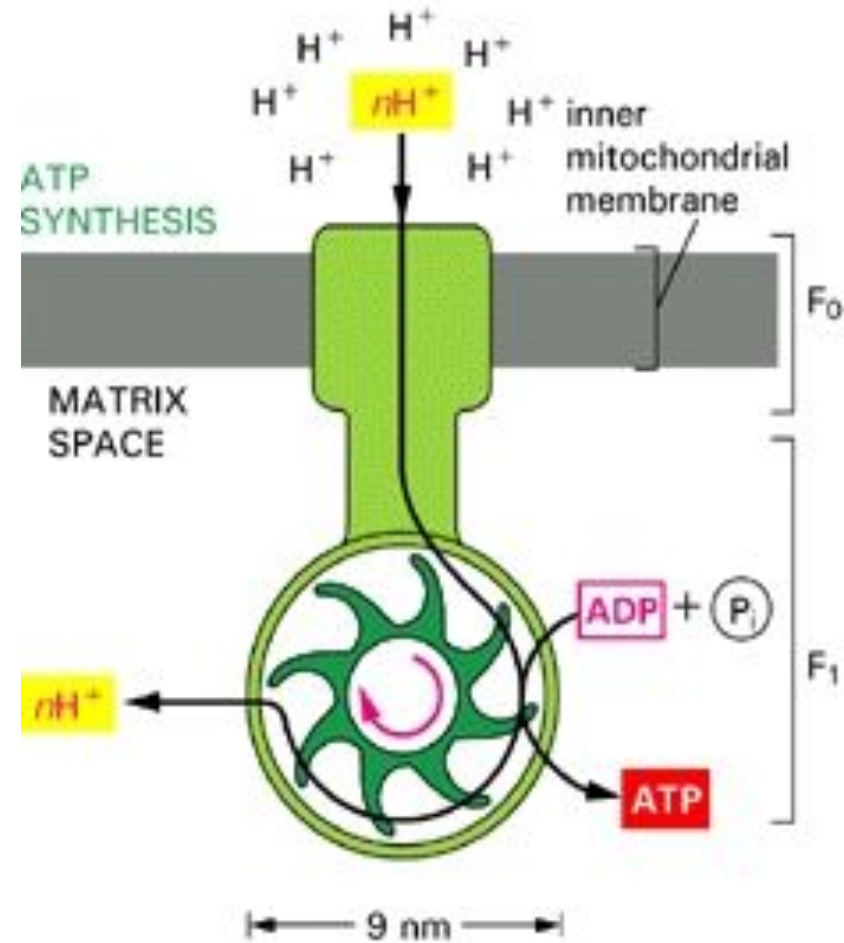
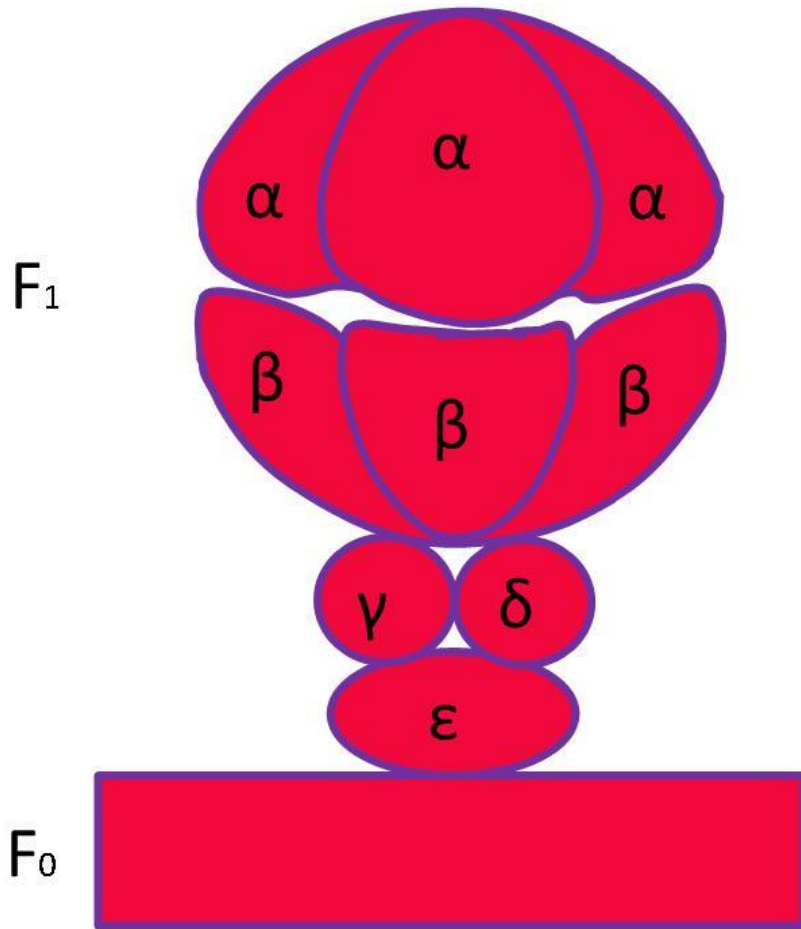
Синтез АТФ – окислительное фосфорилирование - представляет процесс одновременного потребления O_2 , АДФ и Φ_H .

В пределах ДЦ этот процесс происходит трижды на уровне **I**, **III** и **IV** комплексов.

Функции дыхательной цепи:

- Транспорт электронов на O_2 – тканевое дыхание.
- Преобразование энергии транспорта электронов в энергию макроэргических связей АТФ.

АТФ-СИНТЕТАЗА



Синтез АТФ происходит при участии фермента-АТФ-синтетазы (протонная АТФаза)

Коэффициент фосфорилирования (P/O)- количество молекул неорганического фосфата, которое включается в АТФ в расчете на 1 атом кислорода

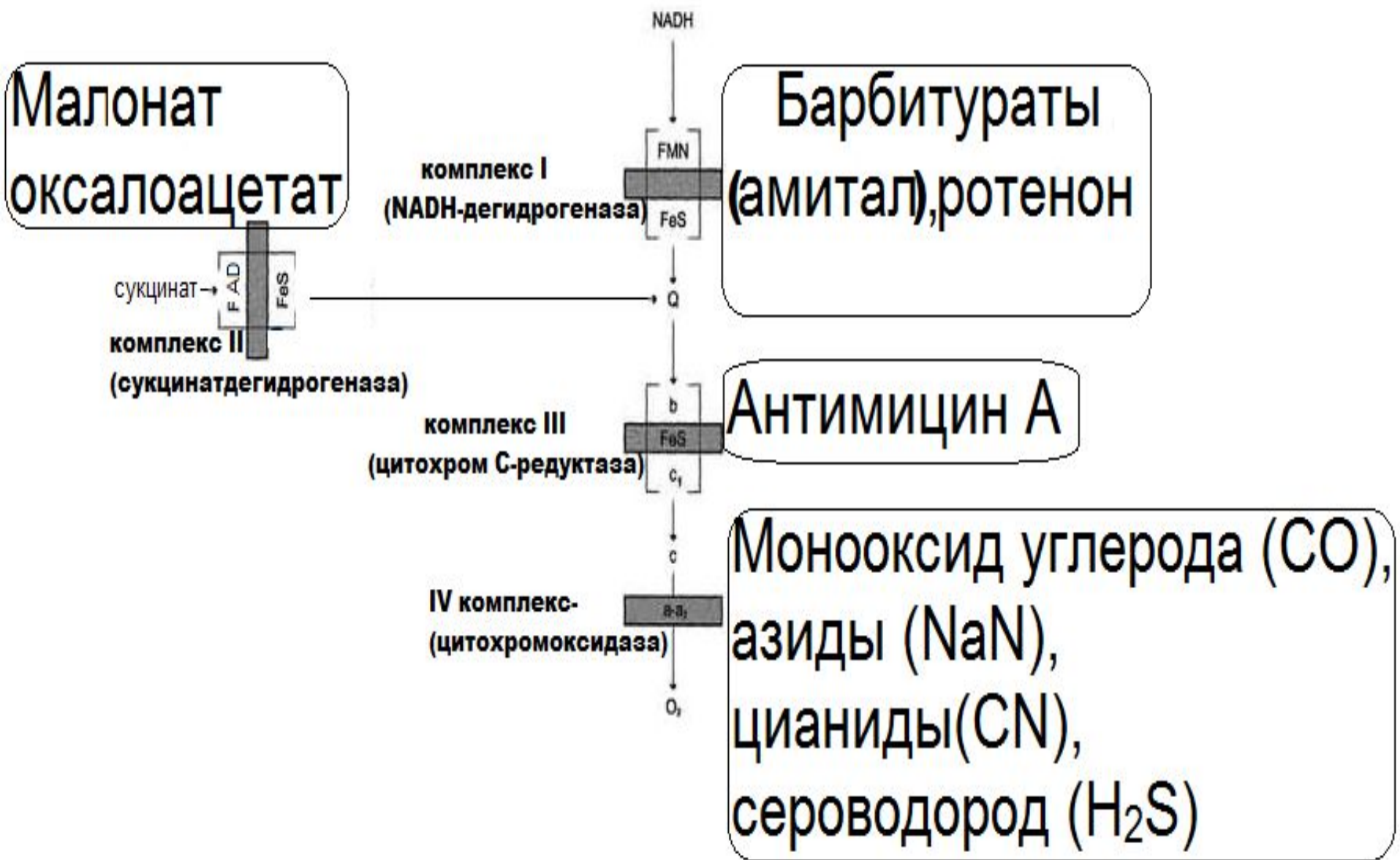
При окислении **НАДН•Н⁺** может быть синтезировано **3** моля АТФ, то есть **коэффициент фосфорилирования (P/O)=3**

При окислении **ФАДН₂** может быть синтезировано **2** моля АТФ, то есть **коэффициент фосфорилирования (P/O)=2**

Регуляция тканевого дыхания (транспорта электронов):

- Регуляция за счет концентрации O_2
- Дыхательный контроль (зависимость митохондриального окисления от концентрации АДФ)
- Регуляция за счет ингибиторов, прерывающих поток электронов по дыхательной цепи.

Некоторые представители ингибиторов транспорта электронов



Регуляция синтеза АТФ:

- Регуляция протонного потока за счет разобщителей:
 - Протонофоры (динитрофенол, жирные кислоты, тироксин, катехоламины, термогенин)
 - ионофоры (валиномицин, грамицидин, ионы Ca^{2+}),
- Регуляция за счет влияния на протонную АТФазу:
 - Ингибиторы фермента (олигомицин)
 - Детергенты (блокада протонного канала внутри фермента) (желчные кислоты, тритон и т.д.).

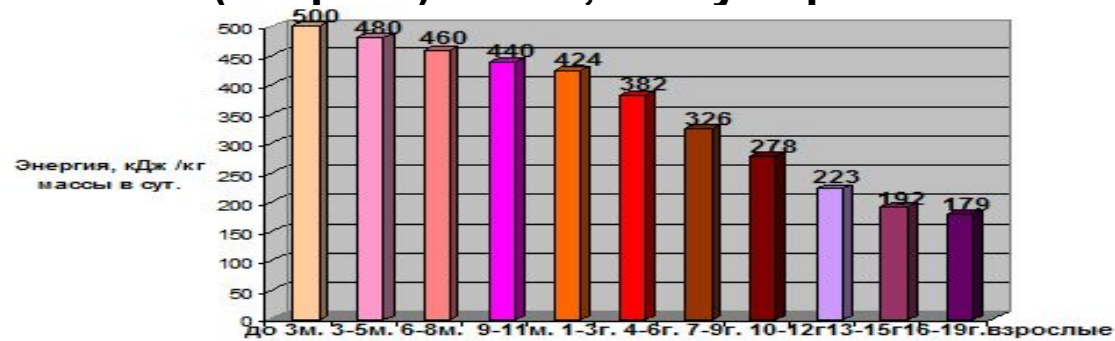
Физиологические регуляторы окислительного фосфорилирования

- -субстраты цикла Кребса,
- -отношение $[ATP]/[ADP]$ (обратимость АТФ-синтетазной реакции),
- -кислород (гипоксия),
- -физиологические разобщители (жирные кислоты, лизофосфолипиды, гормоны, ионы Ca^{2+} , термогенин).

Особенности энергетического обмена у ребенка обусловлены его интенсивным ростом, биосинтетической деятельностью, функциональной незрелостью ряда регуляторных систем и формирующейся двигательной активностью.

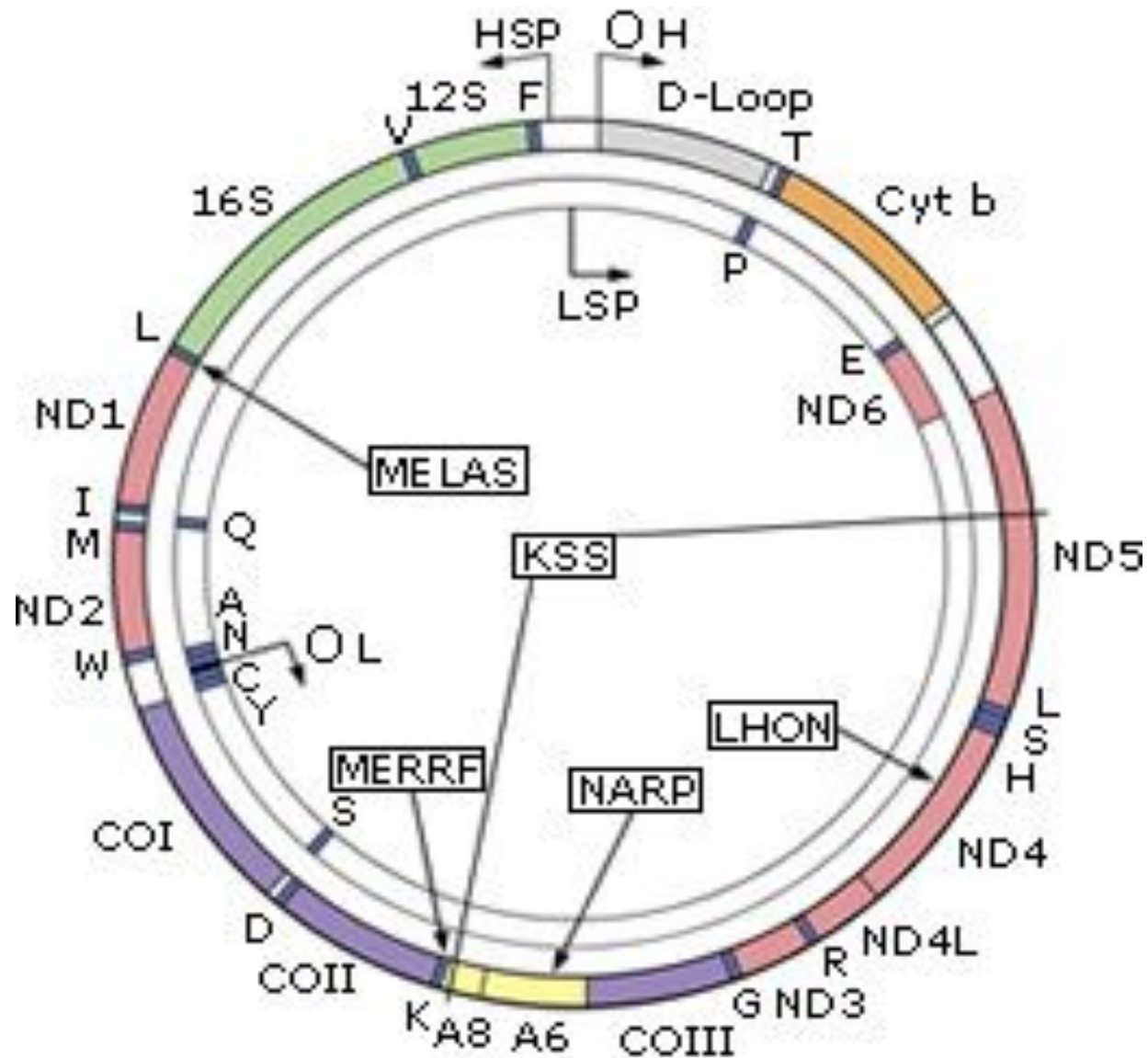
Наибольшие отличия энергетического обмена свойственны новорожденным.

- 1) Обмен энергии на единицу массы тела у новорожденных детей значительно (в 3 раза) выше, чем у взрослых.



- 2) У грудных детей значительная часть энергозатрат покрывается за счет липидов, а не углеводов, как у взрослых.
- 3) В течение 1-го года жизни происходит адаптация ребенка к легочному типу снабжения организма кислородом: анаэробные процессы окисления сменяются аэробными.
- 4) Наличие у новорожденных специфические механизмы термогенеза- «несократительный» термогенез, химическая терморегуляция (термогенин).
- 5) Формирование системы двигательного аппарата также нуждается в значительных энергетических затратах.

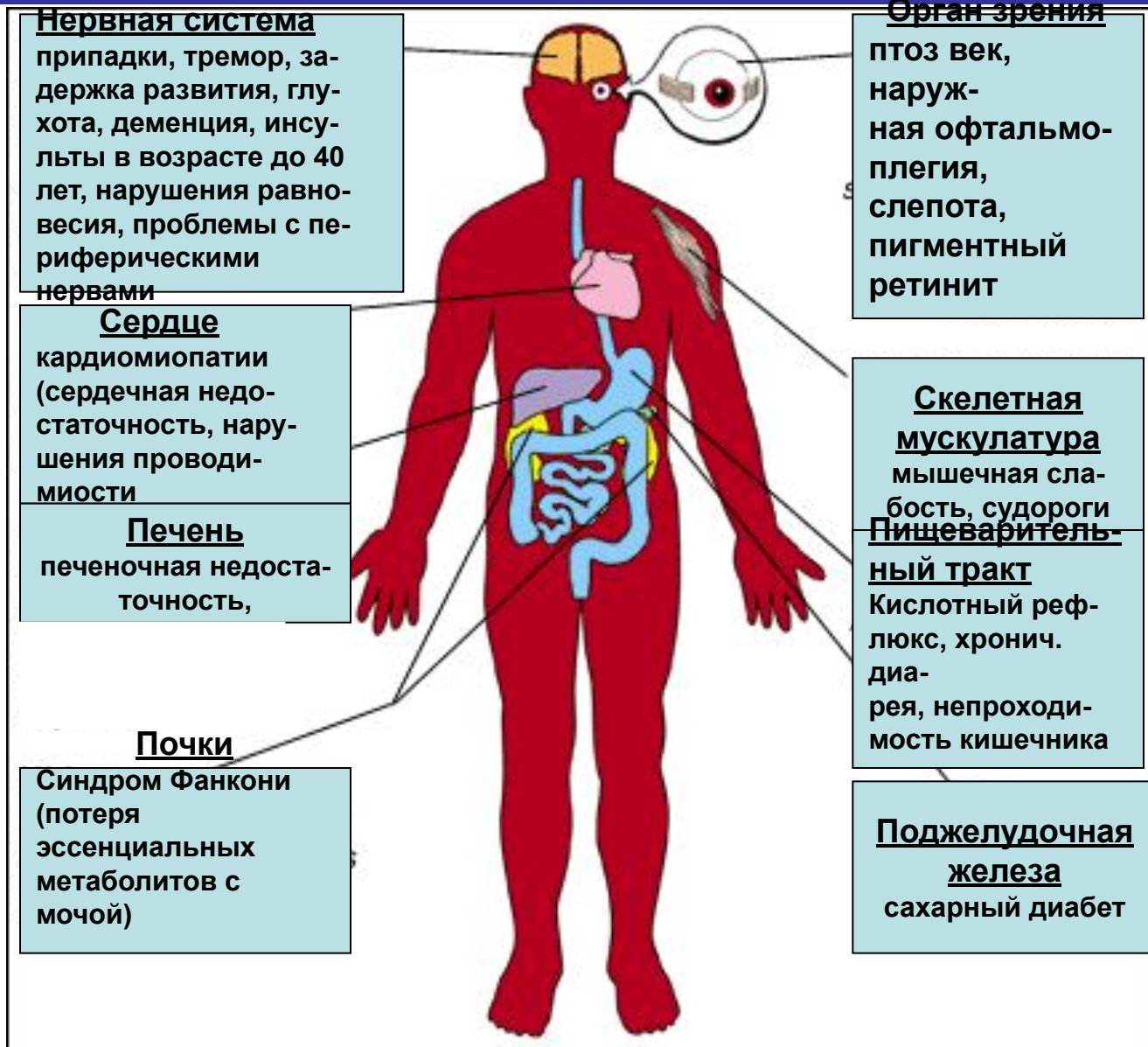
Митохондриальный геном



Общая характеристика митохондриальных болезней

- Митохондриальные болезни – это мультисистемные заболевания, причиной или главным элементом патогенеза которых является нарушение функций митохондрий тканей, вызванных мутациями митохондриальной или ядерной ДНК. В последние годы достигнут большой прогресс в понимании сущности этой большой группы расстройств, что привело к разработке путей их лечения, **хотя в большинстве случаев эти заболевания не распознаются и не лечатся**

Органы и системы, повреждаемые при митохондриальных болезнях



***Первичные (врожденные)
митохондриальные болезни***
могут быть обусловлены мутациями
либо в ядерном, либо в
митохондриальном геноме.

Ядерные мутации могут искажать гены,
кодирующие ферменты или
структурные белки митохондрий,
транслоказы, митохондриальный
импорт белков, а также межгенную
сигнализацию

ПЕРВИЧНЫЕ МИТОХОНДРИОПАТИИ

- Болезнь Альцгеймера
- Болезнь Паркинсона
- Синдром Кирнса-Сейера (офтальмоплегия, мозжечковые расстройства, пигм. ретинопатия)
- Атаксия Фридрейха
- MELAS-синдром (митохонд. энцефалопатия, лактацидоз, инсульт-подобные эпизоды)
- Врожденная оптико-нейропатия Лебера (LHON-синдром)
- NARP-синдром (нейрогенная атаксия, пигментная ретинопатия)
- Болезнь Хаттингтона
- Сахарный диабет
- Семейный боковой амиотрофический склероз
- MNGIE (митохондриальная нейрогастроинтестинальная энцефалопатия (синдром Хирано))
- Несиндромная глухота
- Митохондриальные миопатии
- Мигрень
- MERRF (миоклонус-эпилепсия, митохондриальная миопатия, деменция)
- MMS (миопатия, гипертрофическая кардиомиопатия)
- Синдром Вольфрама, DIDMOAD (несахарный диабет, сахарный диабет, атрофия зрительного нерва, нейросенсорная глухота)
- Cerebral autosomal arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)

Вторичные (приобретенные) митохондриопатии

- 1. Специфический дефицит метаболитических интермедиатов или кофакторов** (тиаминпирофосфата, липоамида, флавиновых и пиридиновых нуклеотидов, пантотената, коэнзима Q, карнитина и др.), а также снижение активности ферментов дыхательной цепи негенетического характера;
- 2. Эндокринопатии** (гипоталамо-гипофизарная патология, патология щитовидной железы, поджелудочной железы, надпочечников) могут служить провоцирующим фактором развития митохондриопатий;
- 3. Ишемия-реперфузия.** Гипоксия и ингибиторы митохондриального дыхания приводят к таким же изменениям метаболизма и функции тканей, которые имеют место при первичных митохондриопатиях [36]. Наиболее чувствительными к недостаточному снабжению кислородом являются строго аэробные ткани, такие как мозг, миокард или почка;
- 4. Химические, лекарственные и бактериальные токсины;**
- 5. Онкогенез;**
- 6. Старение.**

Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования -

состояние, при котором потребление кислорода и окисление субстратов продолжаются, а синтез АТФ невозможен.

- Наблюдается при наличии в клетке веществ, способных переносить протоны через внутреннюю мембрану митохондрий.
- В этом случае выравнивается градиент концентрации pH , исчезает движущая сила фосфорилирования.
- При этом энергия переноса протонов и электронов рассеивается в виде тепла, поэтому температура тела повышается.

Виды разобщения

- 1) **физиологическое** (холод, тироксин, кортикостероиды, женские половые гормоны)
- 2) **медикаментозное** (дикумарин)
- 3) **токсическое** (динитрофенол)

Ингибиторы ТД и ОФ

а) ингибиторы электронного транспорта – это вещества, которые взаимодействуют с ферментами дыхательной цепи и тем самым нарушают перенос электронов.

Они являются клеточными токсинами, вызывают тканевую гипоксию. К ним относятся:

1. **Барбитураты и ротенон (инсектицид)** – блокируют НАД-ДГГ
2. **Малоновая кислота** – блокируют ФАД-ДГГ
3. **Антимицин (антибиотик)** – блокирует дыхательную цепь на уровне цитохром в – цитохром с.
4. **Цианиды (ионы CN^-), угарный газ (CO), сероводород (H_2S)** – блокируют цитохромоксидазу и перенос электронов на кислород.

б) ингибиторы окислительного фосфорилирования

- **Олигомицин (антибиотик)** – угнетает работу АТФ-синтазы (F_0 -фрагмент).

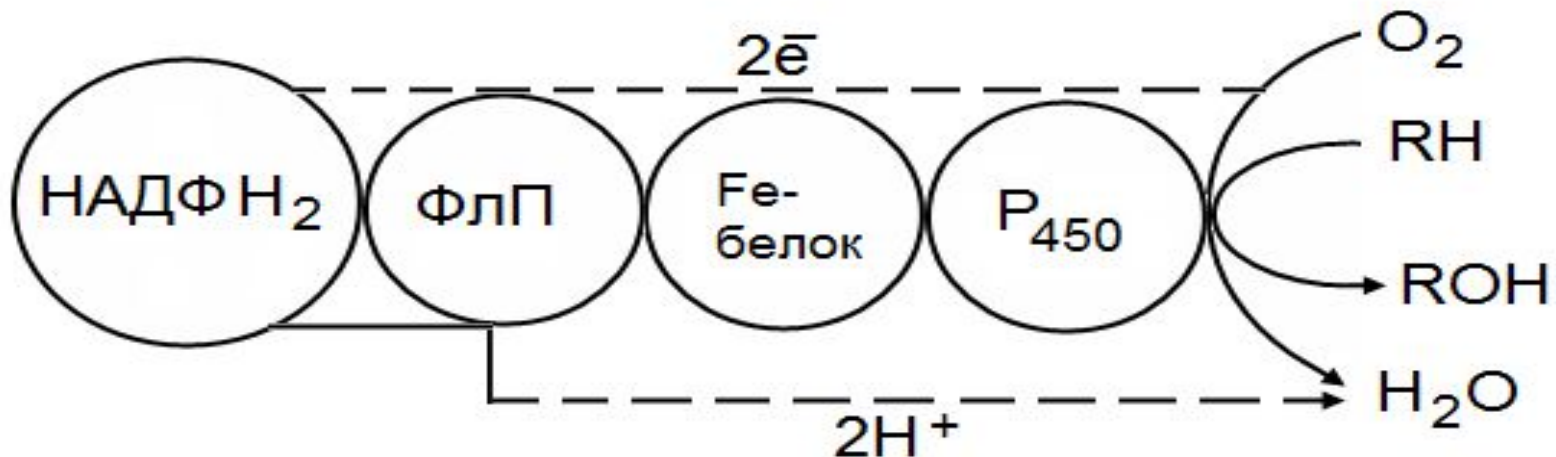
Микросомальное окисление

- Протекает в мембранах ЭПР (микросомах) клеток печени и коры надпочечников.
- Не дает клетке энергии
- Кислород непосредственно включается в субстрат с образованием новой гидроксильной группы в реакциях:
 - 1) Гидроксилирования (пролина и лизина в синтезе коллагена, желчных кислот, холестерина, стероидных гормонов)
 - 2) **Обезвреживания токсичных веществ** (эндогенных ядов, лекарственных препаратов и др.).

Схема микросомального окисления

Для протекания реакций необходимы:

- 1) Ферменты монооксигеназы или диоксигеназы
- 2) НАДФ
- 3) Цитохром Р-450
- 4) ФАД
- 5) Белок аденодоксин (содержит в своем составе негемовое железо (Fe-Б))



Активные формы кислорода (АФК)

- Это продукты неполного восстановления кислорода, содержащие неспаренные электроны. АФК являются свободными радикалами.
- Свободные радикалы – агрессивные молекулы, способные атаковать другие молекулы с целью забрать недостающий электрон.

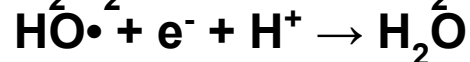
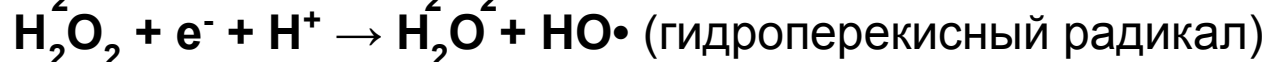
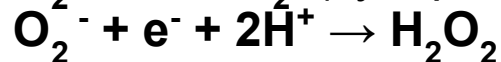
К активным формам кислорода относят:

- 1) $\text{OH}\cdot$ - гидроксильный радикал;
- 2) O_2^- - супероксидный анион;
- 3) H_2O_2 - пероксид водорода.

- Полное восстановление кислорода до воды требует 4-х электронов и катализируется цитохромоксидазой.

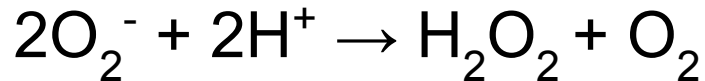


- Но присоединение электронов происходит поэтапно и при этом образуются АФК.

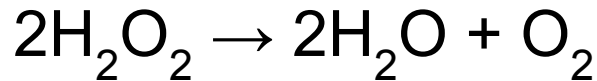


Вспомогательные ферменты тканевого дыхания

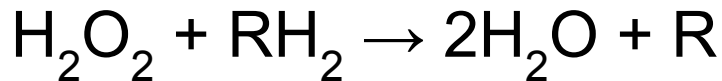
- 1) **Супероксиддисмутаза** (превращает супероксидные радикалы в менее токсичную перекись водорода);



- 2) **Каталаза**



- 3) **Пероксидаза**



Роль каталазы и пероксидазы – разрушение перекиси водорода.

