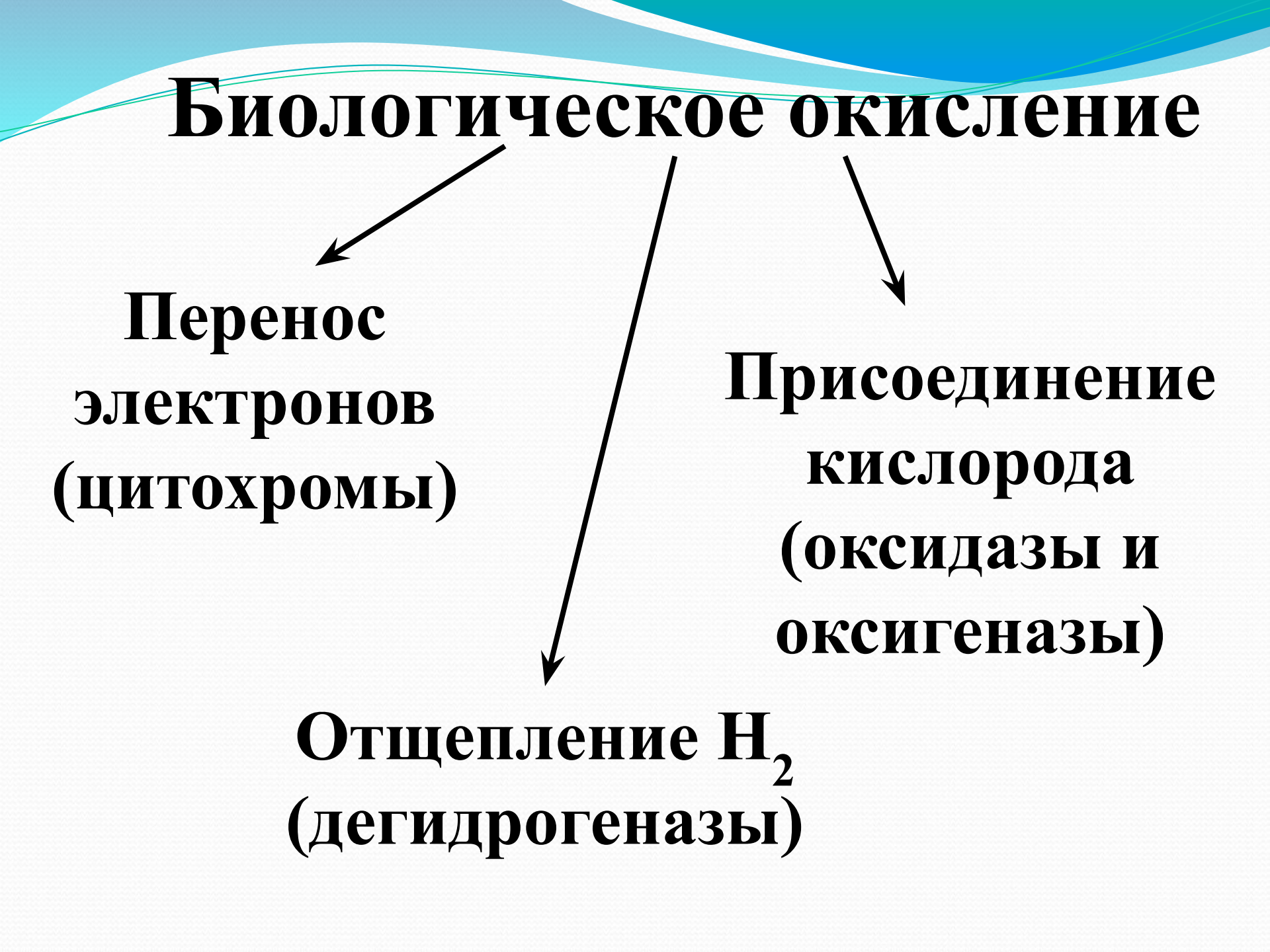


Динамическая биохимия

Биологическое окисление

Биологическое окисление



```
graph TD; A[Биологическое окисление] --> B[Перенос электронов (цитохромы)]; A --> C[Отщепление H2 (дегидрогеназы)]; A --> D[Присоединение кислорода (оксидазы и оксигеназы)];
```

**Перенос
электронов
(цитохромы)**

**Отщепление H_2
(дегидрогеназы)**

**Присоединение
кислорода
(оксидазы и
оксигеназы)**

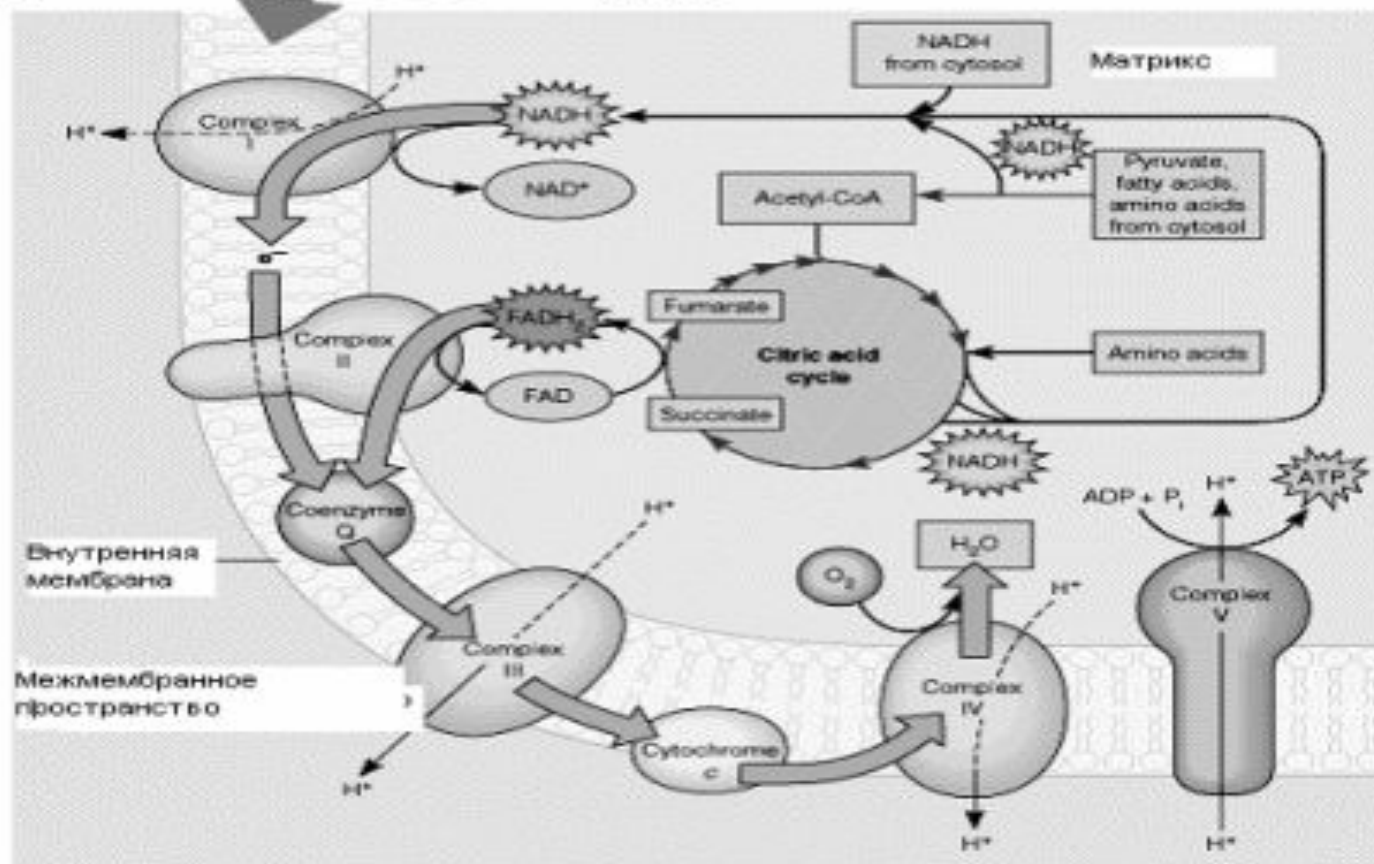
В биохимии и клеточной биологии под тканевым (клеточным) дыханием понимают молекулярные процессы, в результате которых происходит поглощение клеткой кислорода и выделение углекислого газа. Оно включает 3 стадии:

1. Органические молекулы - глюкоза, жирные кислоты и некоторые аминокислоты - окисляются с образованием $\text{CH}_3\text{CO}\sim\text{SKoA}$.
2. Ацетил-КоА вступает в ЦТК, где его ацетильная группа ферментативно окисляется до CO_2 и выделяется HS-KoA . Энергия, высвобождающаяся при окислении, накапливается в восстановленных переносчиках электронов НАДН и ФАДН₂.
3. Электроны переносятся к O_2 , как конечному акцептору, через цепь переносчиков электронов, которая называется дыхательная цепь или цепь переноса электронов (ЦПЭ). При переносе электронов по дыхательной цепи выделяется большое количество энергии, которая используется для синтеза АТФ путем окислительного фосфорилирования.

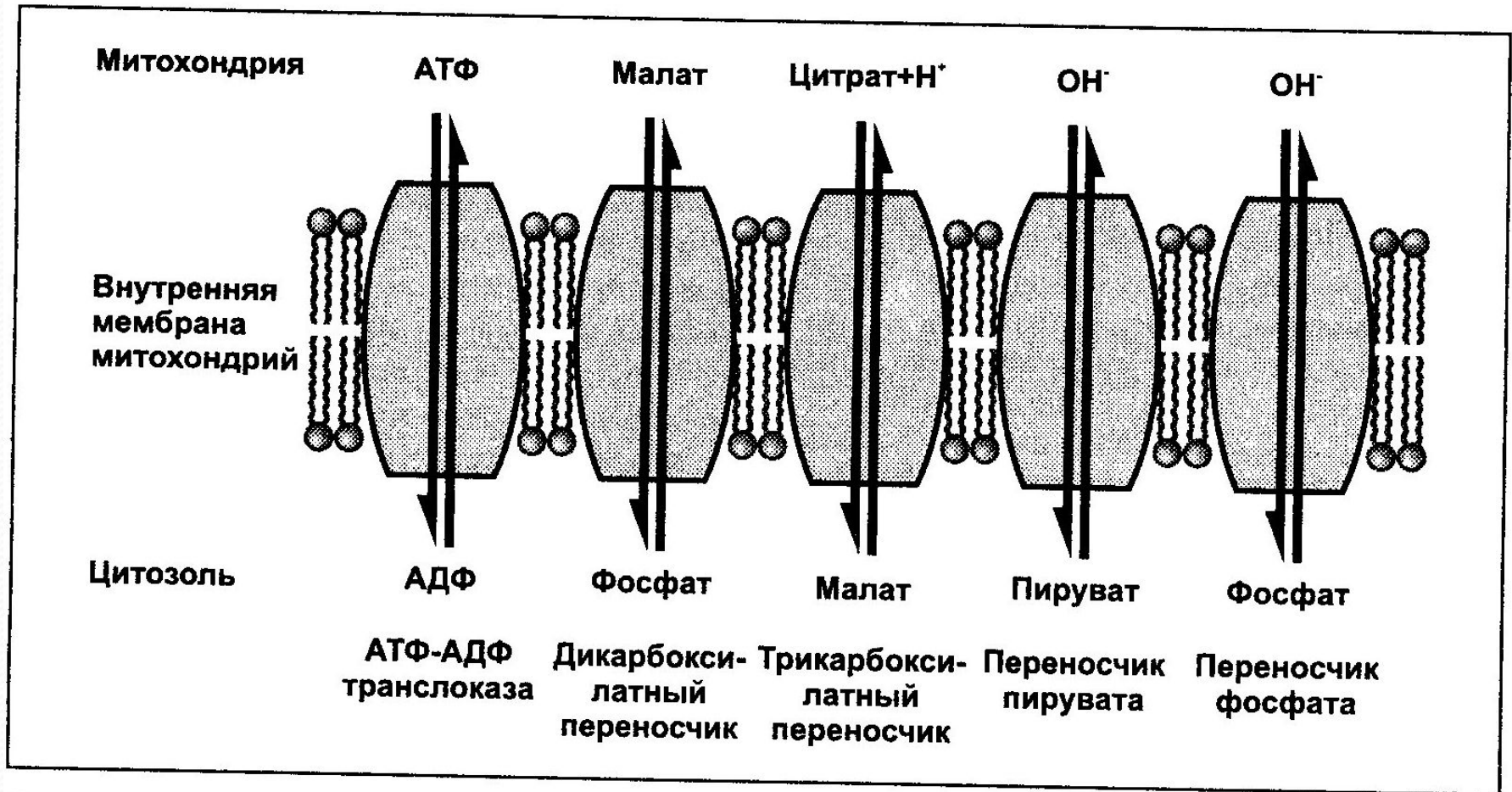
Процесс тканевого дыхания оценивают с помощью дыхательного коэффициента:

$$RQ = \frac{\text{число молей образованного } \text{CO}_2}{\text{число молей поглощенного } \text{O}_2}$$

Этот показатель позволяет оценить тип топливных молекул, используемых организмом: при полном окислении углеводов дыхательный коэффициент равен 1, белков - 0,80, жиров - 0,71; при смешанном питании величина $RQ = 0,85$.



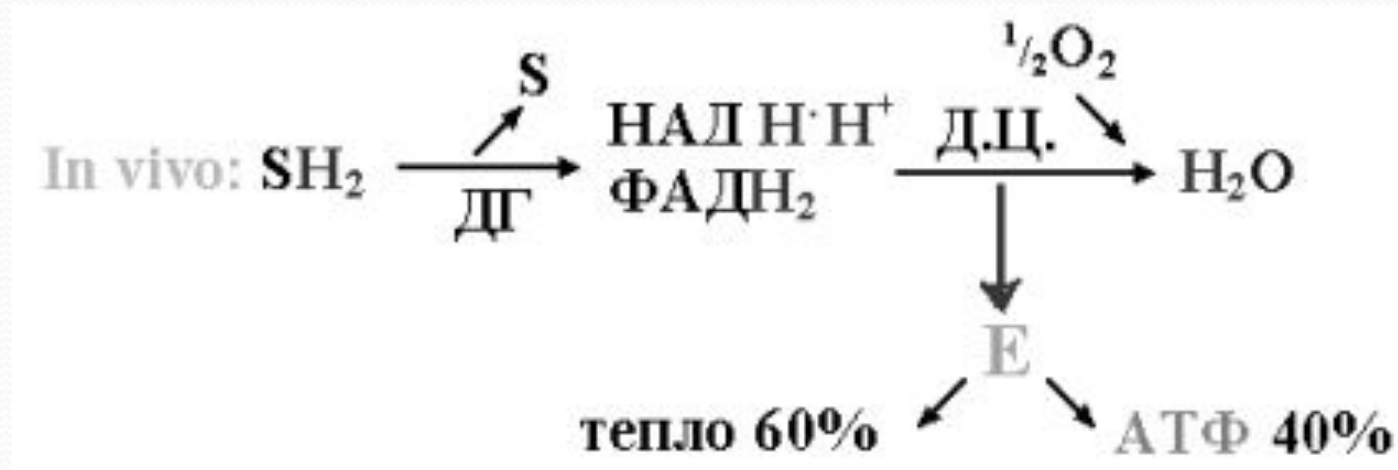
Транспортеры веществ через внутреннюю мембрану митохондрий



Функциональная компартиментализации МИТОХОНДРИЙ

1. Внешняя мембрана МХ ограничивает внутреннее пространство; проницаема для O_2 и ряда низкомолекулярных веществ. Содержит ферменты метаболизма липидов и моноаминов.
2. Межмембранное пространство (ММП) содержит аденилаткиназу ($ATP + AMP \leftrightarrow 2 ADP$) и ферменты фосфорилирования АДФ, не связанные с дыхательными цепями.
3. Внутренняя мембрана митохондрий (ВМП): 20-25 % от всех белков составляют ферменты цепей переноса протонов и электронов и окислительного фосфорилирования. Проницаема лишь для малых молекул (O_2 , мочевины) и содержит специфические трансмембранные переносчики.
4. Матрикс содержит ферменты цикла трикарбоновых кислот, β -окисления жирных кислот (основные поставщики субстратов окисления). Здесь находят ферменты автономного митохондриального синтеза ДНК, РНК, белков и др.

Синтез АТФ в организме сопряжен с реакцией образования воды.



а) газообразный водород в клетках не образуется. Он входит в состав субстратов и при их дегидрировании восстанавливает коферменты (НАД и ФАД) которые передают его далее в дыхательную цепь ВММ.

б) выделение энергии происходит постепенно, порциями. Для этого процесс происходит многостадийно с помощью многих участников, которые называются дыхательной цепью. Тканевое дыхание — процесс окисления водорода кислородом до воды ферментами дыхательной цепи.

Дыхательная цепь — последовательность переносчиков электронов на кислород, локализованная во внутренней мембране митохондрий (ВММ).

Роль таких переносчиков выполняют:

1) активные формы витамина В2 — ФМН и ФАД (присоединяют электроны и протоны);

2) атомы железа и меди в составе цитохромов; цитохромы — это хромопротеины.

Классы: цит. А, цит. В, цит. С (различаются по строению гема). Цит. А и А3, цит. С и С1.

Переносят только электроны: $\text{Fe}^{3+} + \bar{e} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$
 $\text{Cu}^{2+} + \bar{e} \leftrightarrow \text{Cu}^{+}$

$\text{В} \rightarrow \text{С1} \rightarrow \text{С} \rightarrow \text{А} \rightarrow \text{А3}$

3) железосерные белки (FeS-белки) — содержат негемовое железо; переносят только электроны;

4) жирорастворимый переносчик электронов и протонов, свободно перемещающийся по мембране, — убихинол (КоQ).

Принцип построения дыхательной цепи

Последовательность переносчиков определяется их способностью отдавать электроны окислителю, т.е. стандартным восстановительным потенциалом E^0 (редокс -потенциалом). Редокс-потенциал численно равен э.д.с. в вольтах, возникающей в полуэлементе между растворами окислителя и восстановителя, взятыми в 1 М концентрации при стандартных условиях ($pH=7,0$ $t=25^\circ C$).

В качестве стандарта принят восстановительный потенциал реакции:

$N_2 = 2H^+ + 2e^-$. При $pH=7,0$ и $t=25^\circ C$ он равен $-0,42V$.

В дыхательной цепи все реакции направлены по термодинамической лестнице от компонента с самым отрицательным редокс-потенциалом НАДН ($-0,32V$) к кислороду, имеющему самый положительный редокс-потенциал ($+0,82V$).

При прохождении $2e^-$ по Д.Ц. падение редокс-потенциала составляет $1,14V$ ($(0,82 - (-0,32)) = 0,82 + 0,32 = 1,14 V$). Это соответствует изменению стандартной свободной энергии, равному $-220 кДж$.

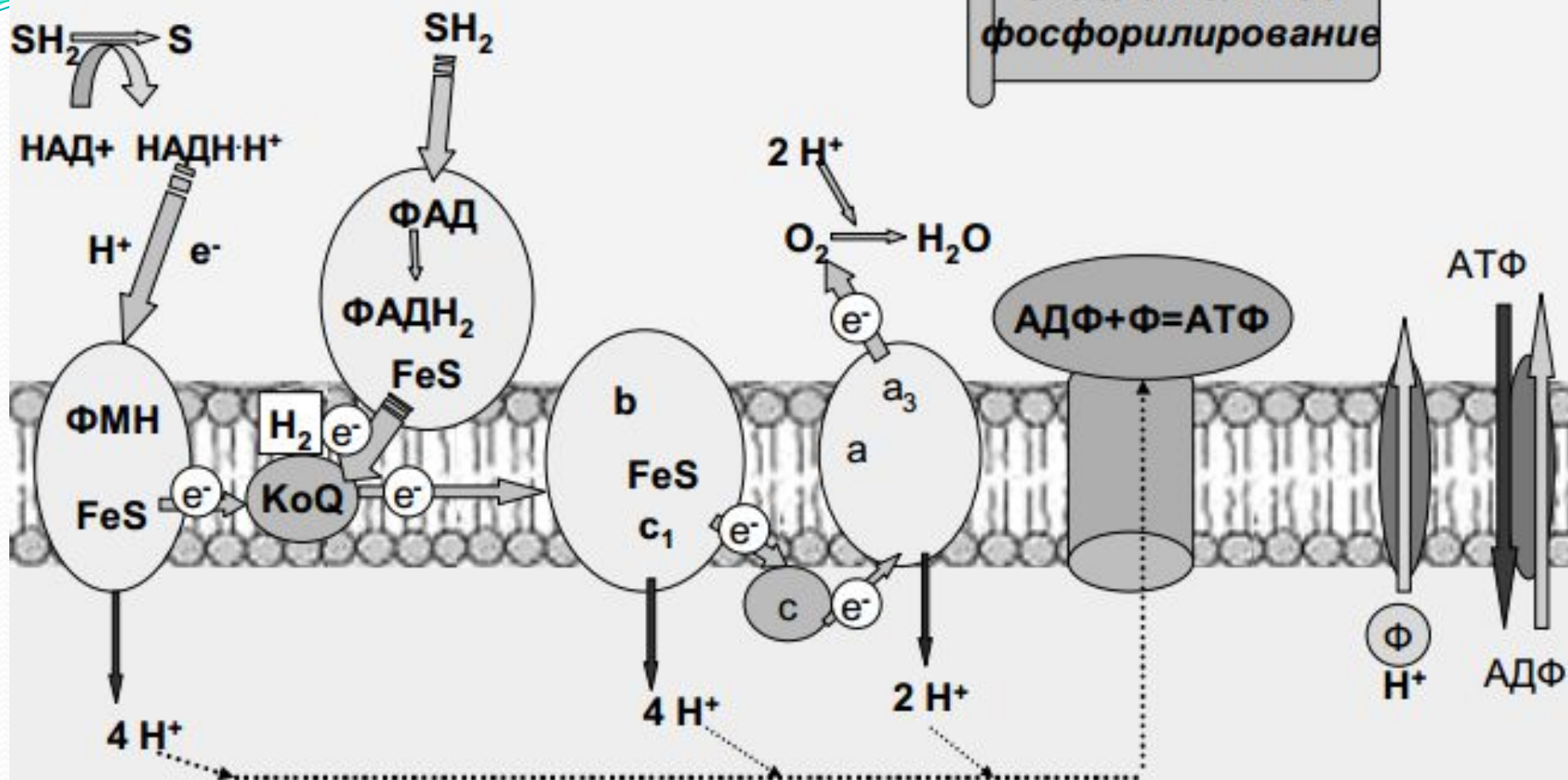
Для синтеза 1 молекулы АТФ необходимо $\approx 32 кДж$. Для этого достаточной является разность потенциалов между окислителем и восстановителем $\geq 0,2V$.

Б. Чанс установил что таких участков (где разность потенциалов $\geq 0,2V$) в дыхательной цепи три. Эти участки были названы Б. Чансом пунктами сопряжения или фосфорилирования. Эти участки соответствуют I, III и IV комплексам.

тканевое дыхание

матрикс

Окислительное
фосфорилирование



Межмембранное пространство

Таблица 9.2. Комплексы митохондриальной цепи переноса электронов

Ферментативный комплекс	Молекулярная масса (кДа)	Число субъединиц	Простетические группы
I НАДН-дегидрогеназа (НАДН-КоQ-оксидоредуктаза)	850	42 (14)	ФМН, FeS
II Сукцинатдегидрогеназа	140	5	ФАД, FeS
III Убихинон: цитохром c- оксидоредуктаза (цитохром <i>bc₁</i> комплекс)	250	11	Гемы, FeS
Цитохром c*	13	1	Гем
IV Цитохромоксидаза (цитохром c-оксидаза)	160	13 (3–4)	Гемы, Cu _A , Cu _B

Примечание: цитохром c не входит в состав комплекса; цитохром c является растворимым белком и перемещается между комплексами III и IV.

Комплексы дыхательной цепи

I. НАДН-убихинон-оксидоредуктаза.

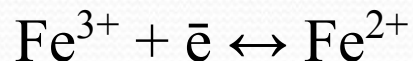
Принимает электроны и протоны от НАДН·Н⁺; протоны выбрасываются в межмембранное пространство, электроны передаются на КоQ.

II. Сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза.

Принимает электроны и протоны от субстратов в матриксе и передает их на убихинон.

Убихинон — липофильная молекула, хинон, легко перемещается по мембране, принимает электроны и протоны от I и II комплексов дыхательной цепи и протоны от I и II комплексов дыхательной цепи и передает их на III комплекс. передает их на III комплекс.

Цитохромы, входящие в состав дыхательной цепи, представляют собой железосодержащие белки, простетическая группа которых представлена гемом. Цитохромы могут переносить только электроны за счет атома железа с переменной валентностью, входящего в состав гема:

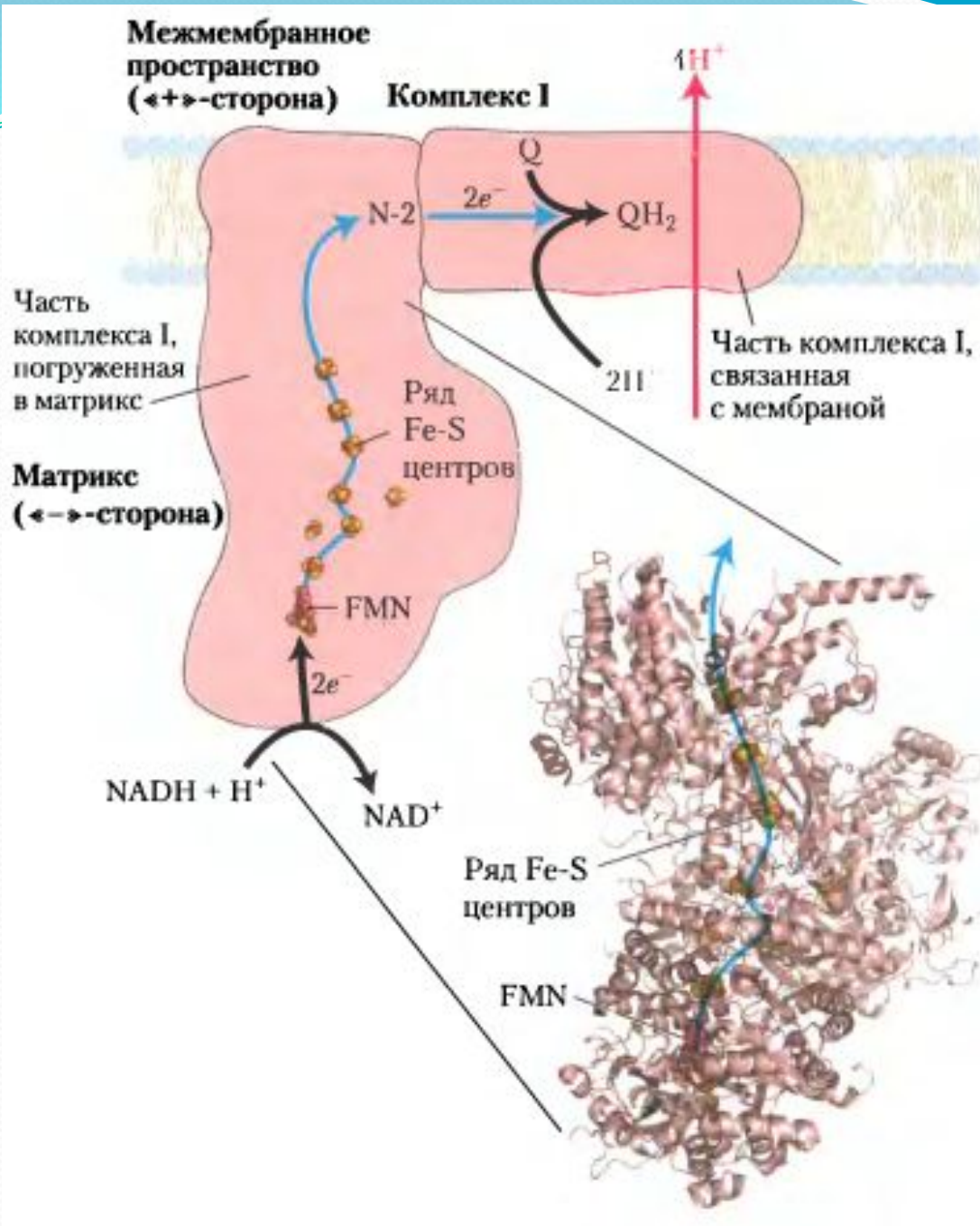


III. Убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза.

Переносит электроны с убихинола на цитохром с. Одновременно за счет энергии, выделившейся при переносе, из матрикса переносятся протоны в межмембранное пространство.

IV. Цитохром с-оксидаза.

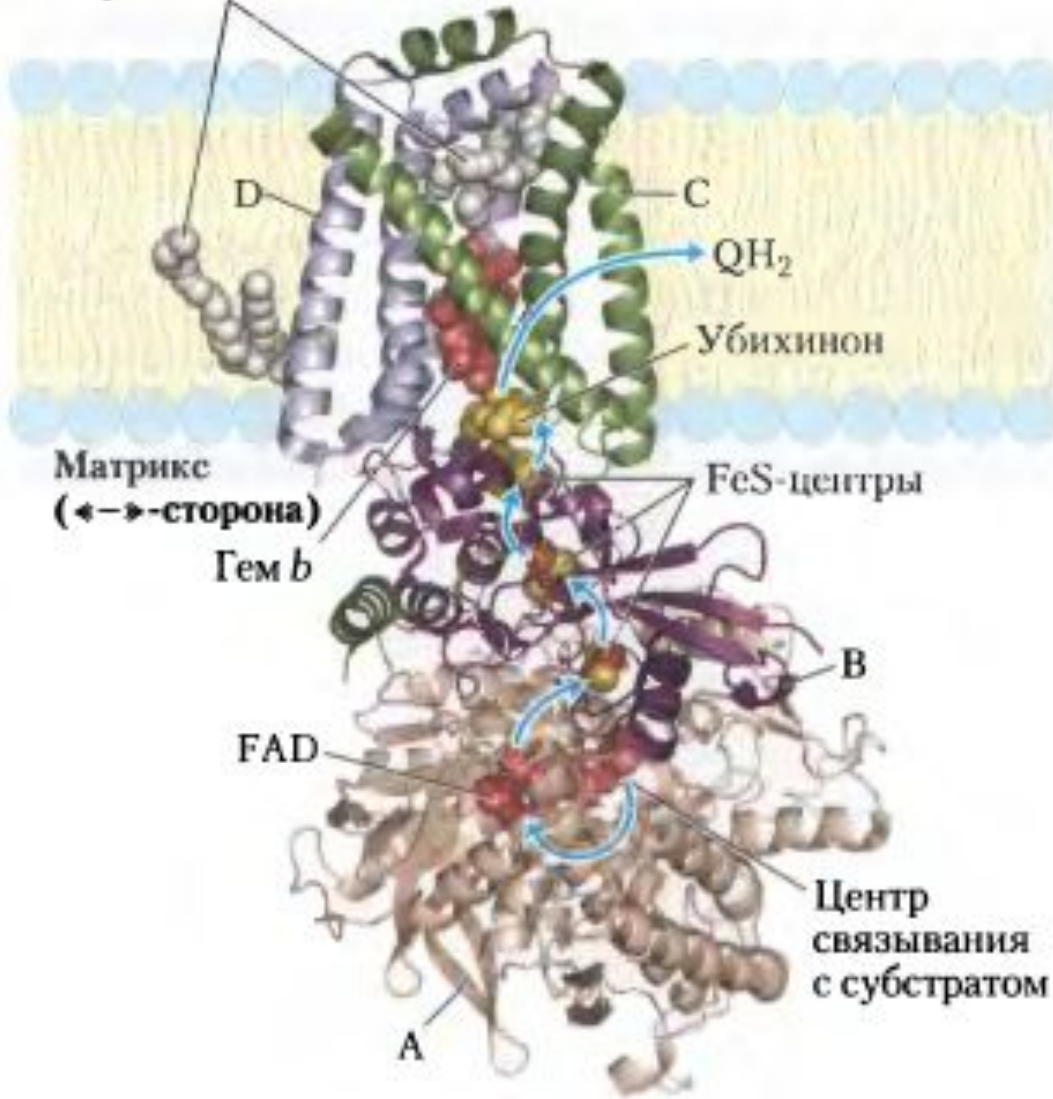
Переносит электроны с цитохрома с непосредственно на кислород. Цитохромы а и а₃, помимо атомов железа, содержат атомы меди, поэтому этот комплекс одновременно осуществляет полное (4-электронное) восстановление молекулы кислорода. Энергия переноса электронов используется на перекачивание в межмембранное пространство протонов.



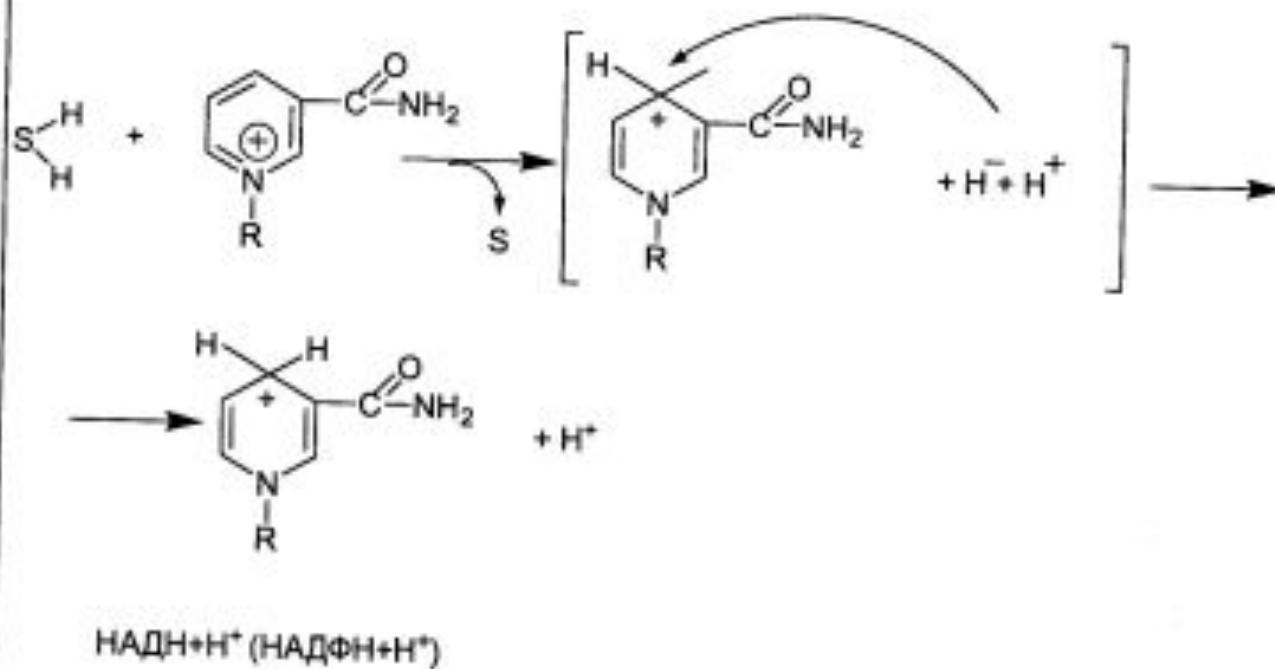
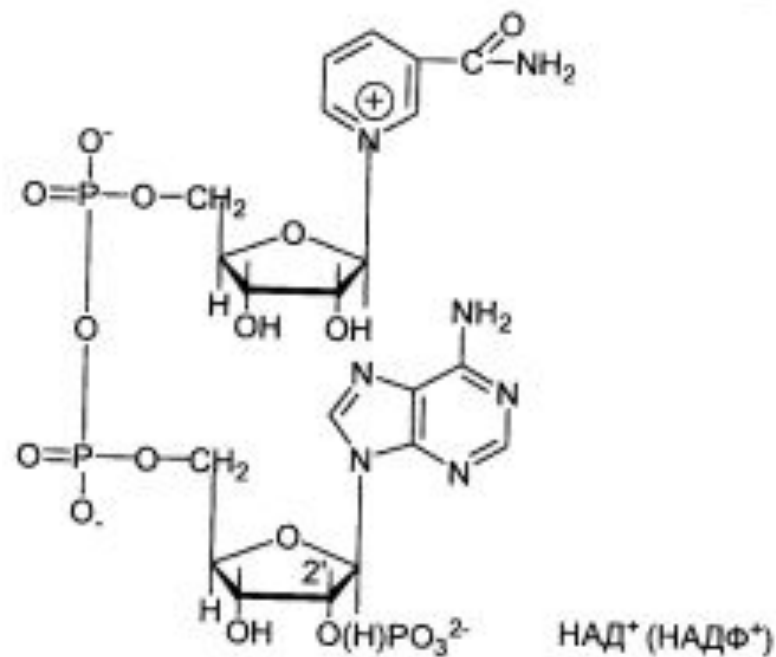
Комплекс НАДН - убихинон - оксидоредуктазы (I)

Межмембранное
пространство ($\leftarrow + \rightarrow$ -сторона)

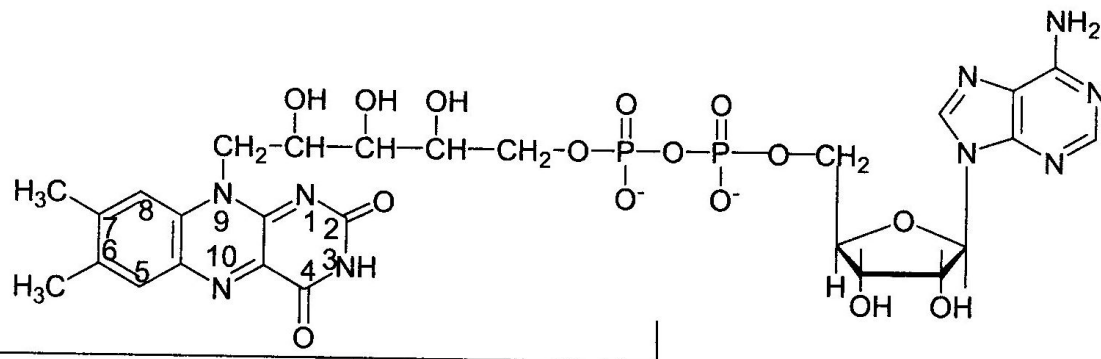
Фосфатидилэтаноламин



Сукцинат-дегидрогеназа (II)

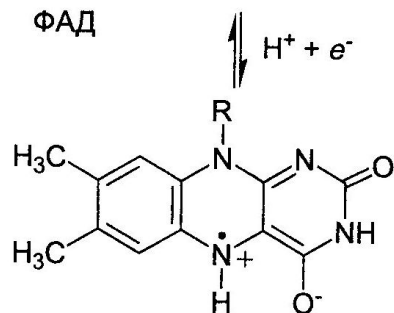


Структура
НАД⁺
(НАДФ⁺)

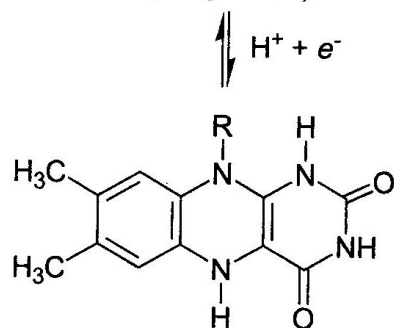


ФМН

ФАД

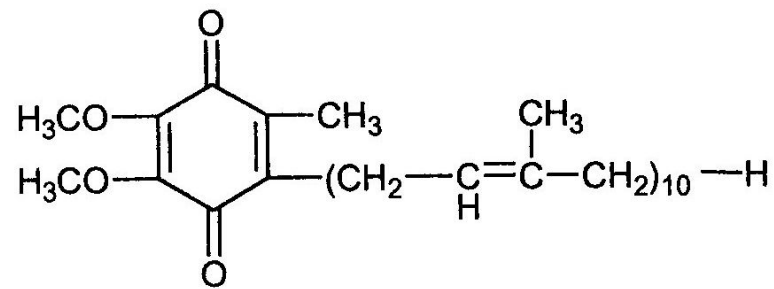


ФМН^{•-} (ФАДН^{•-})
(полухинон)



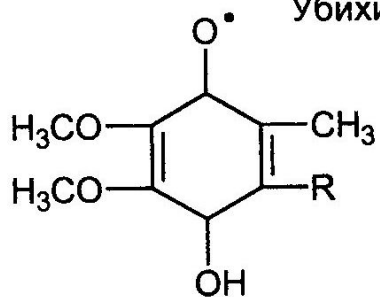
ФАДН₂ (ФМНН₂)
восстановленная форма

ФМН и ФАД



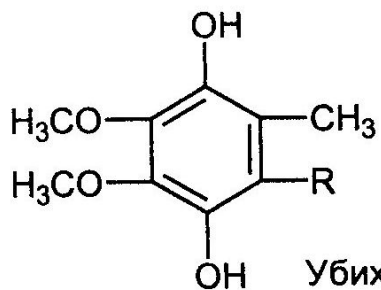
+H⁺+e⁻

Убихинон



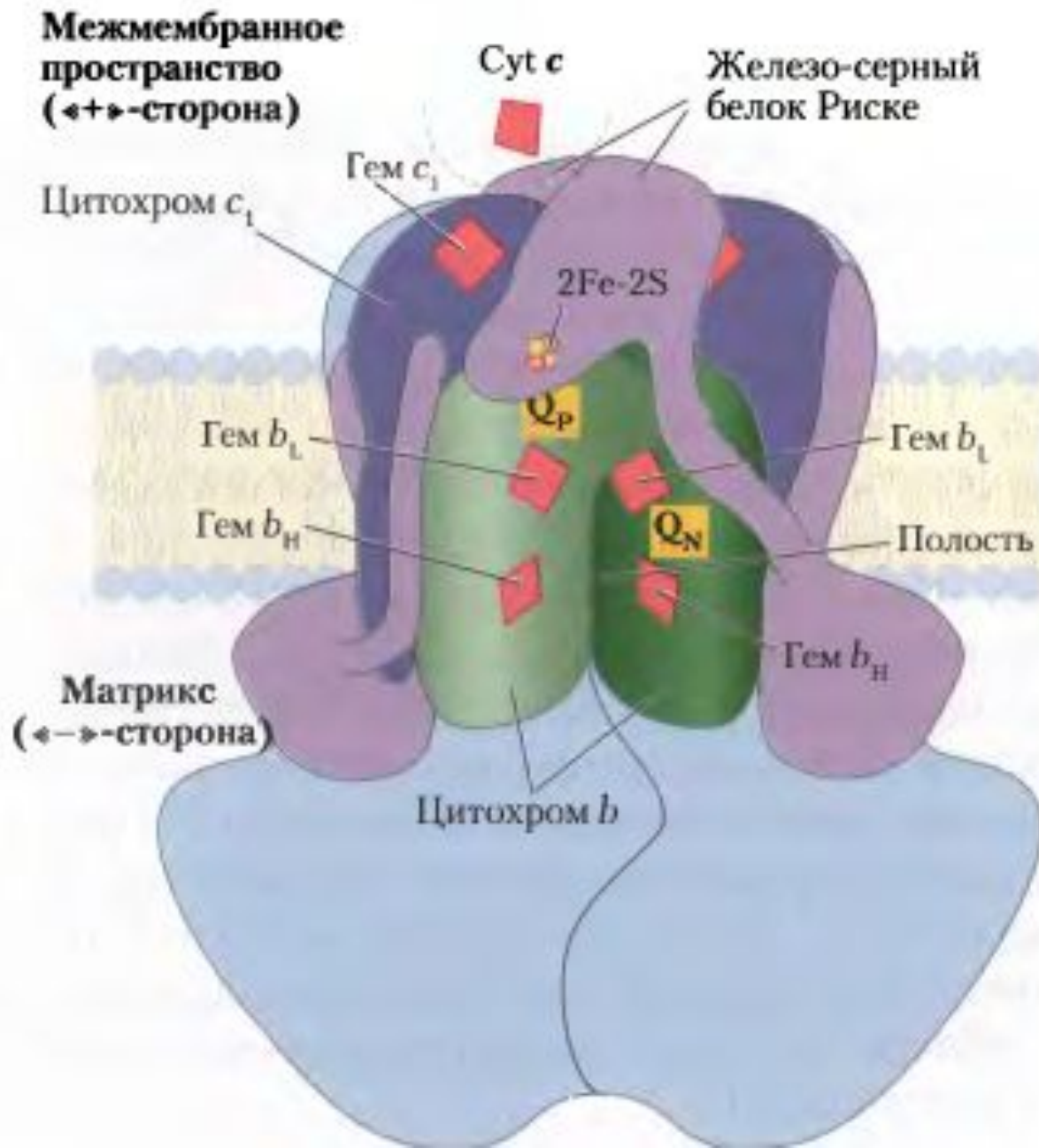
Семихинон радикал (QH[•])

+H⁺+e⁻



Убихинол (QH₂)

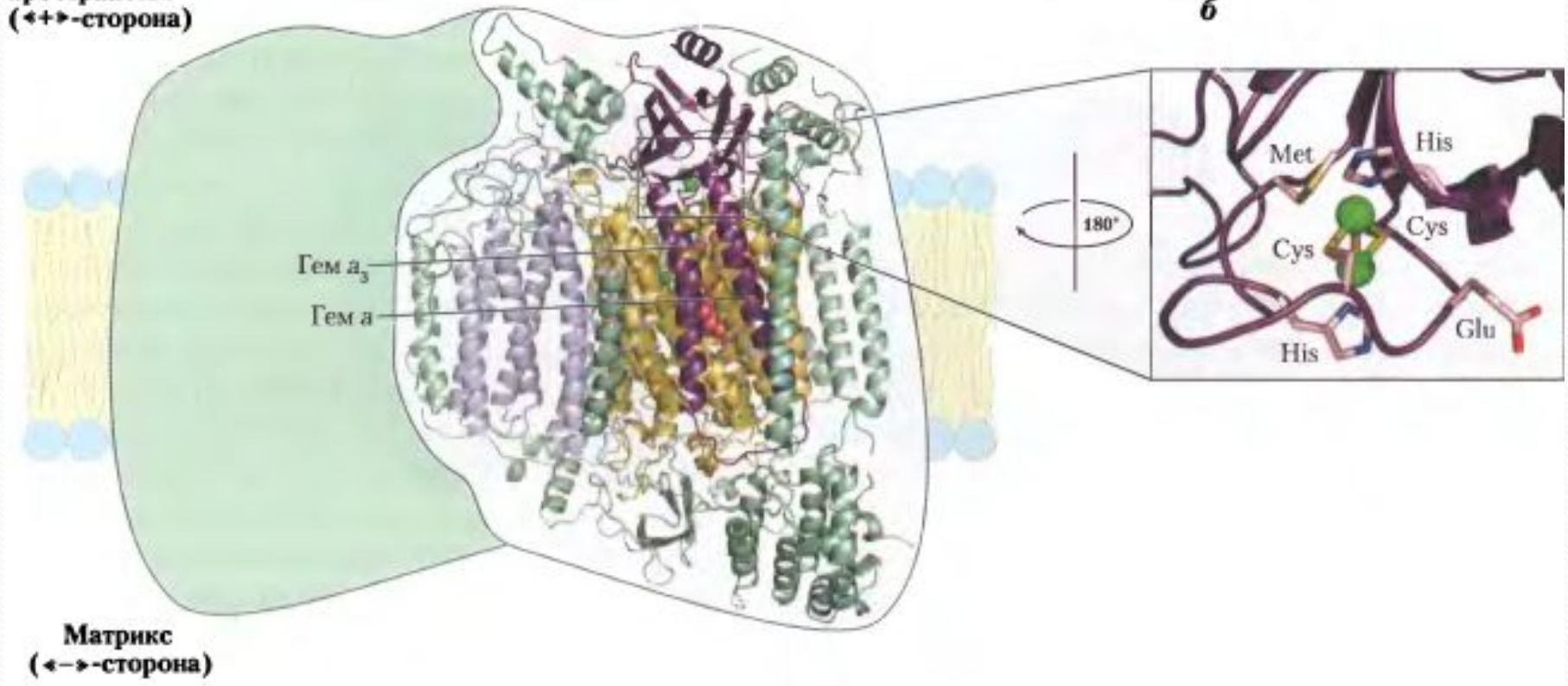
УБИХИ-
НОН



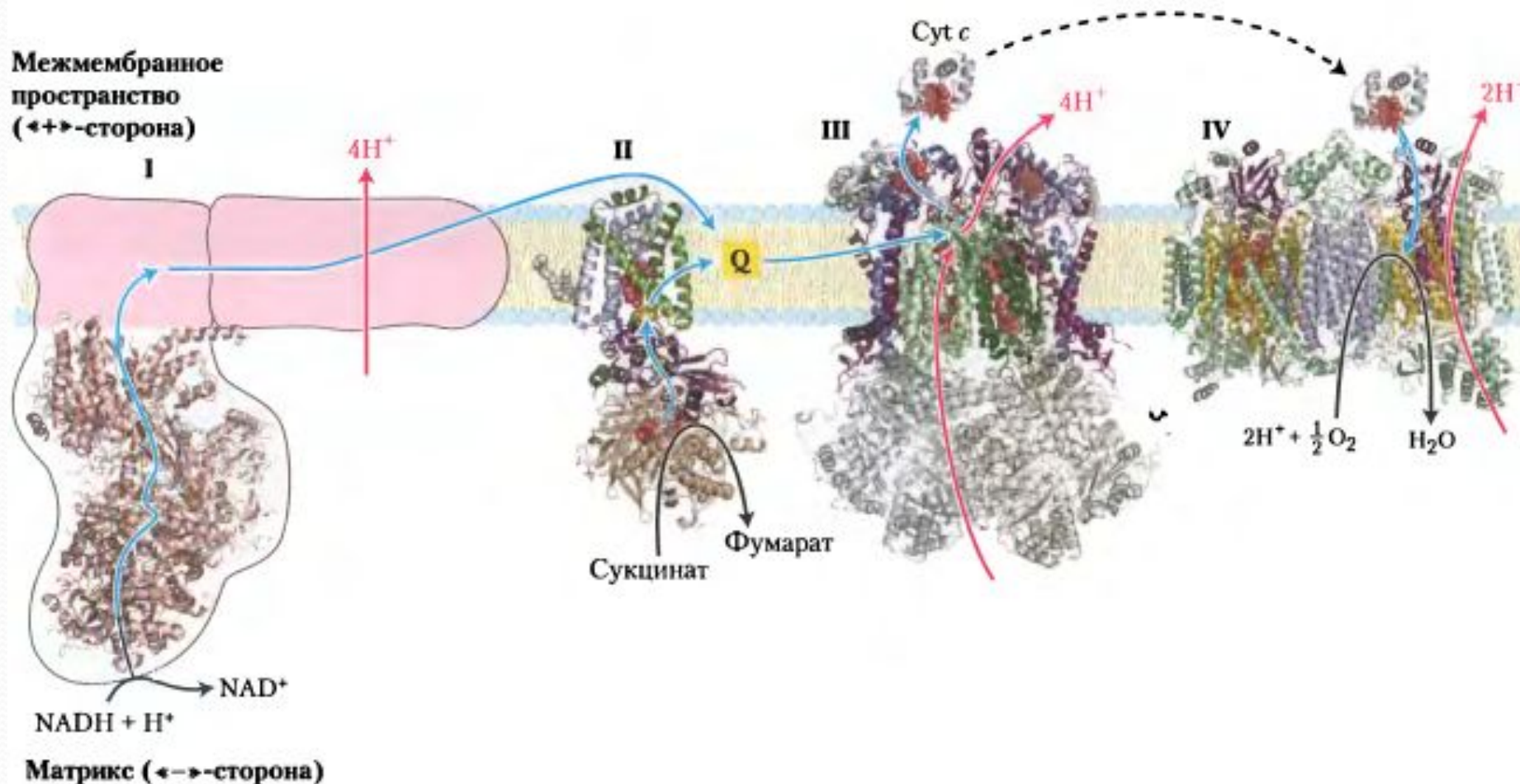
Цитохром bc_1

Цитохромоксидаза (IV)

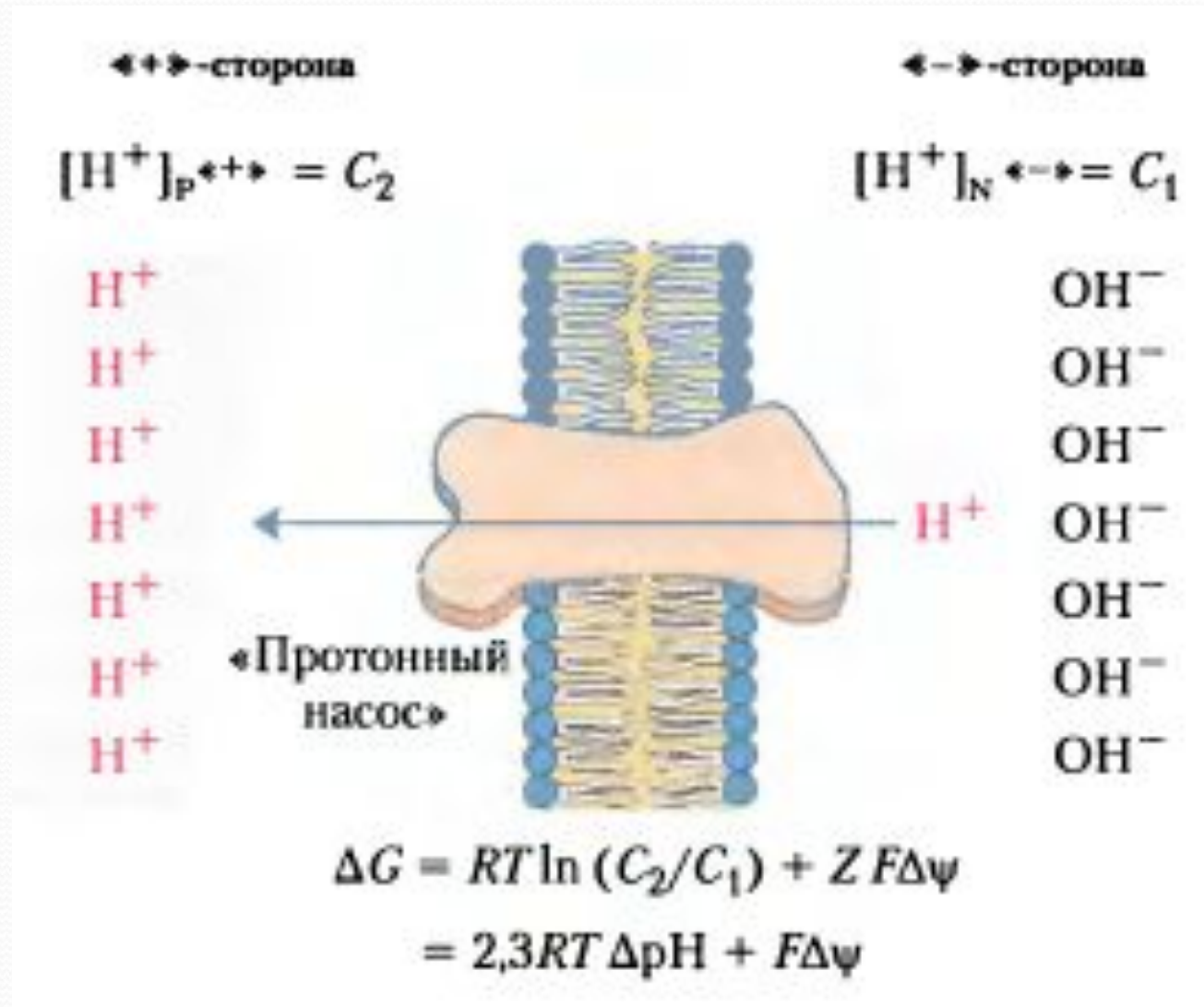
Межмембранное
пространство
($\leftarrow+\rightarrow$ -сторона)



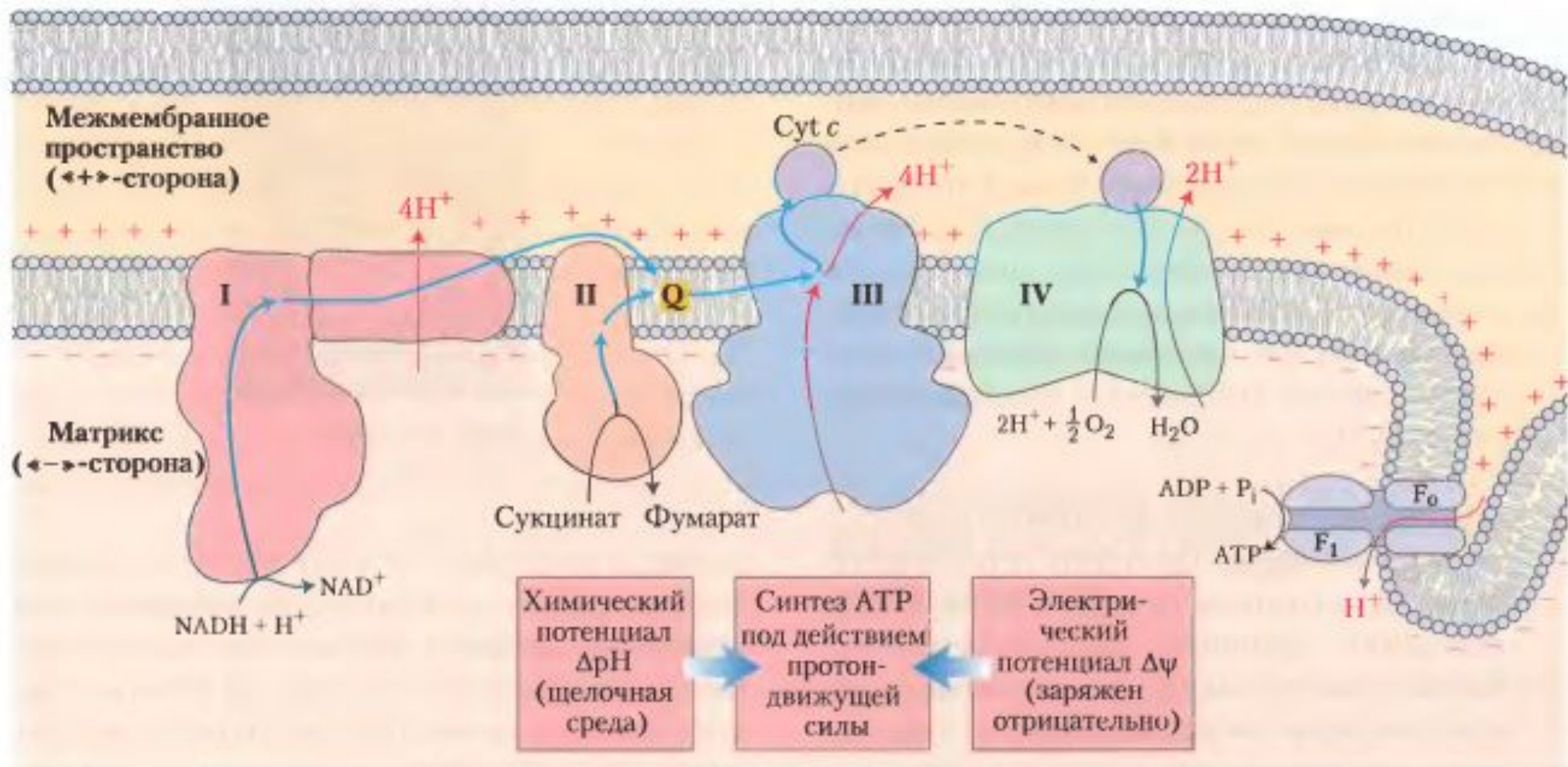
Потоки электронов и протонов через комплексы дыхательной цепи митохондрий



Возникновение протон-движущей силы



Хемиосмотическая теория Митчела

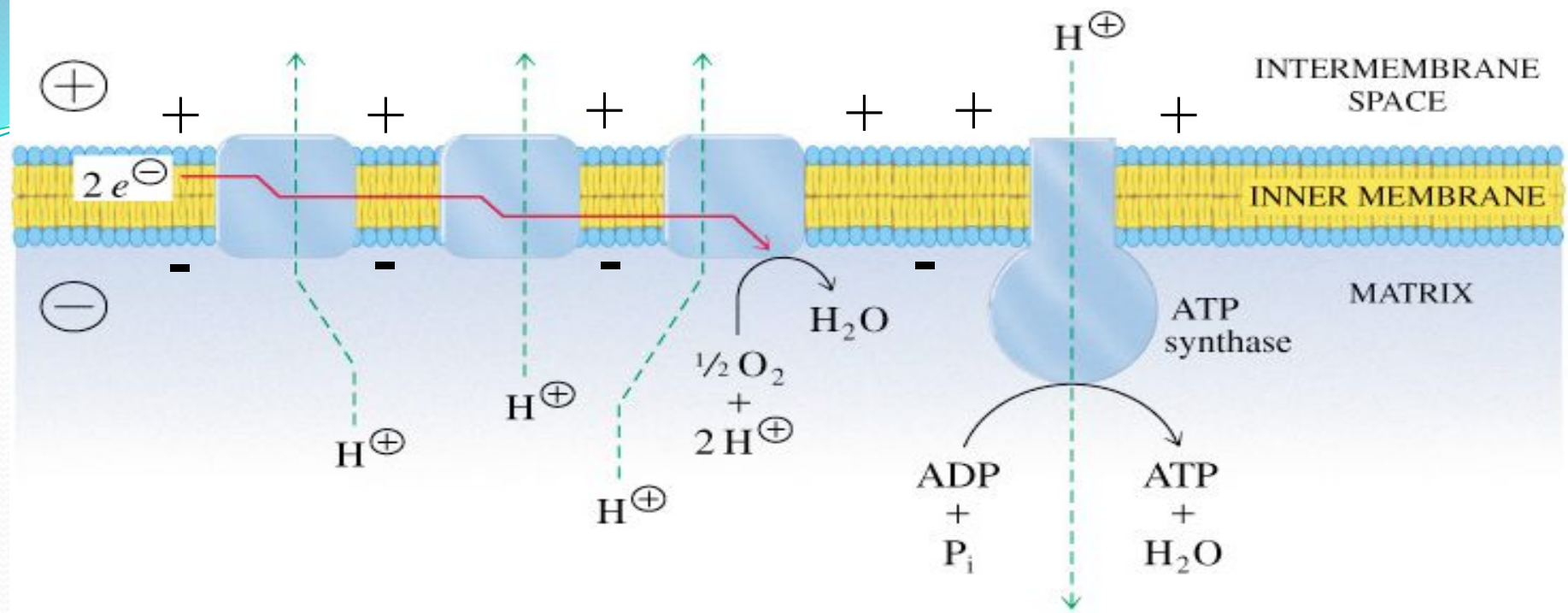


П. Митчелл сформулировал хемиосмотическую теорию окислительного фосфорилирования (Нобелевская премия 1978 г.).

Постулаты хемиосмотической теории:

- внутренняя митохондриальная мембрана (ВММ) непроницаема для ионов, в частности для H^+ и OH^- ;
- за счет энергии транспорта электронов через I, III и IV комплексы дыхательной цепи 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.



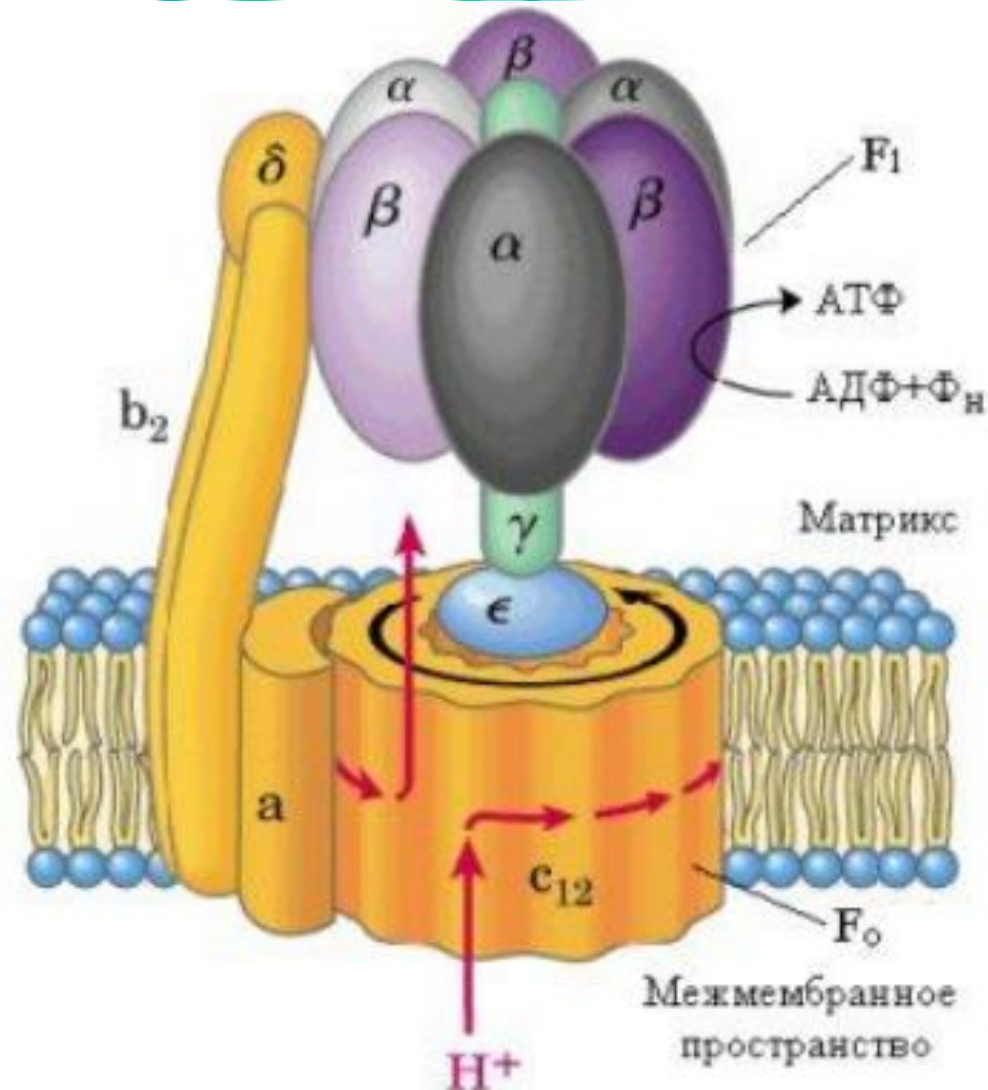


1. Необходима **интактная митохондриальная мембрана**
2. Транспорт электронов через ЭТЦ генерирует **протонный градиент**
3. **АТФ синтаза** катализирует фосфорилирование АДФ в реакции, которая обеспечивается прохождением H^+ через внутреннюю мембрану в матрикс

Связь между
транспортом электронов
по дыхательной цепи и
синтезом АТФ:

V комплекс внутренней
мембраны митохондрий
- фермент протонная
АТФ-синтаза

Эфраим Рэкер, 1961 г



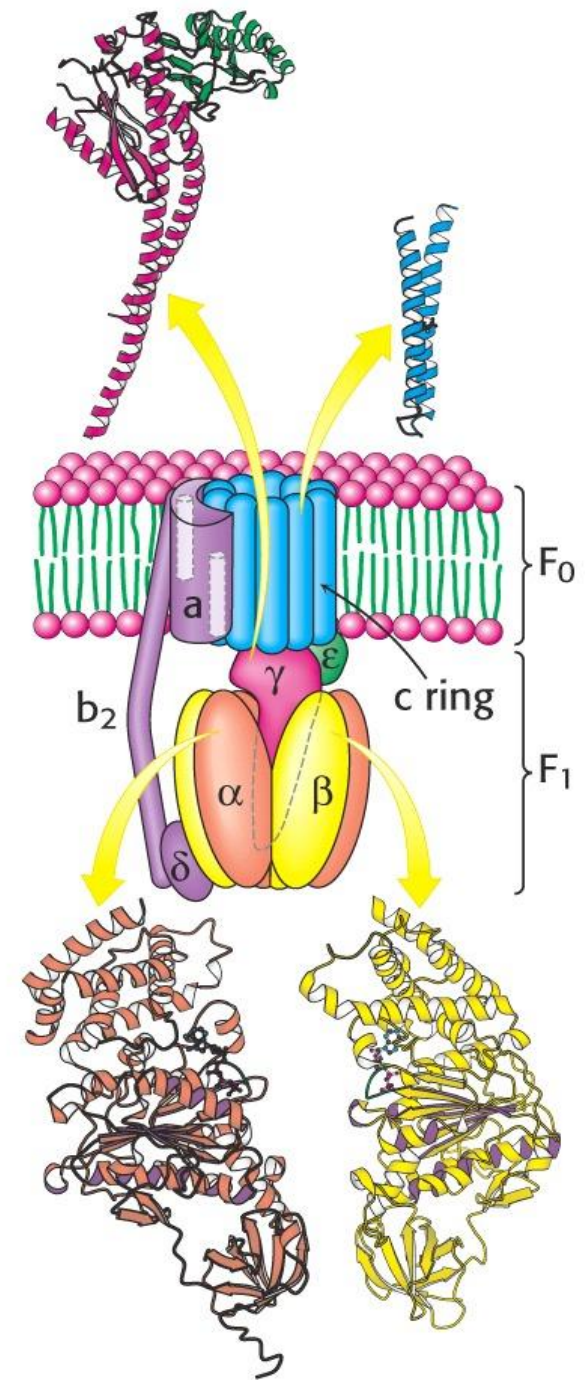
АТФ синтаза

Две субъединицы, F_0 и F_1

F_1 содержит каталитические субъединицы, где АДФ и P_i связываются.

F_0 пронизывает мембрану и служит как протонный канал.

Энергия, которая освобождается при "падении" протонов используется для синтеза АТФ.



Механизм работы АТФ-синтазы

Дж. Уокер, П. Бойер (Нобелевская премия 1997 г.)

Показали, что энергия движения протонов используется на изменения конформации активного центра АТФ-синтазы, что сопровождается синтезом АТФ, а затем ее высвобождением.

L (свободная) – связывает лиганды.

T (сжатая) – синтез АТФ

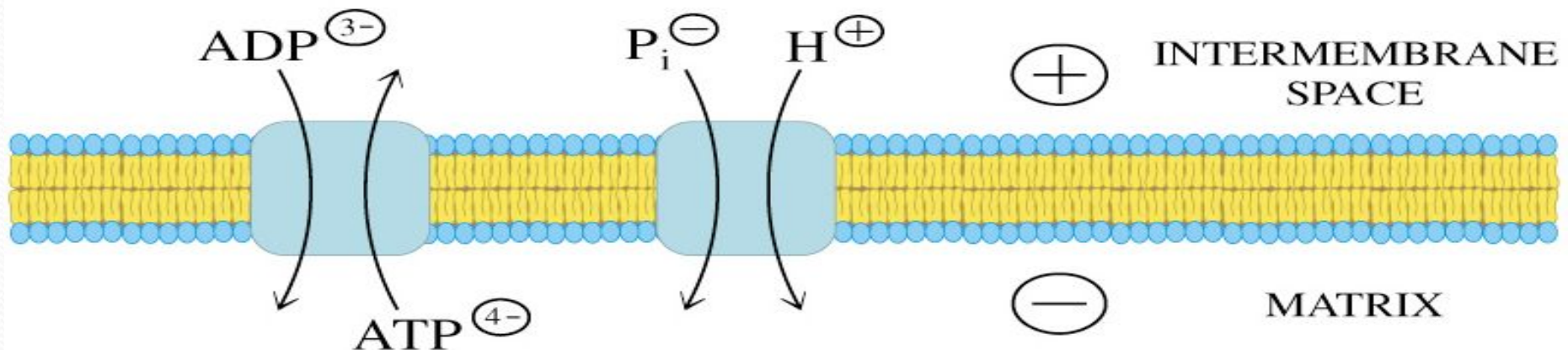
O (открытая) – выход АТФ из активного центра.

Образовавшаяся АТФ с помощью транслоказы перемещается в цитозоль; в ответ в матрикс митохондрии поступают АДФ и фосфат.

Всего на процесс синтеза, высвобождения и выброса в цитозоль АТФ расходуется 4 протона: 3 протона – на изменение конформации АТФ-синтазы и 1 протон – на перенос в матрикс фосфата.

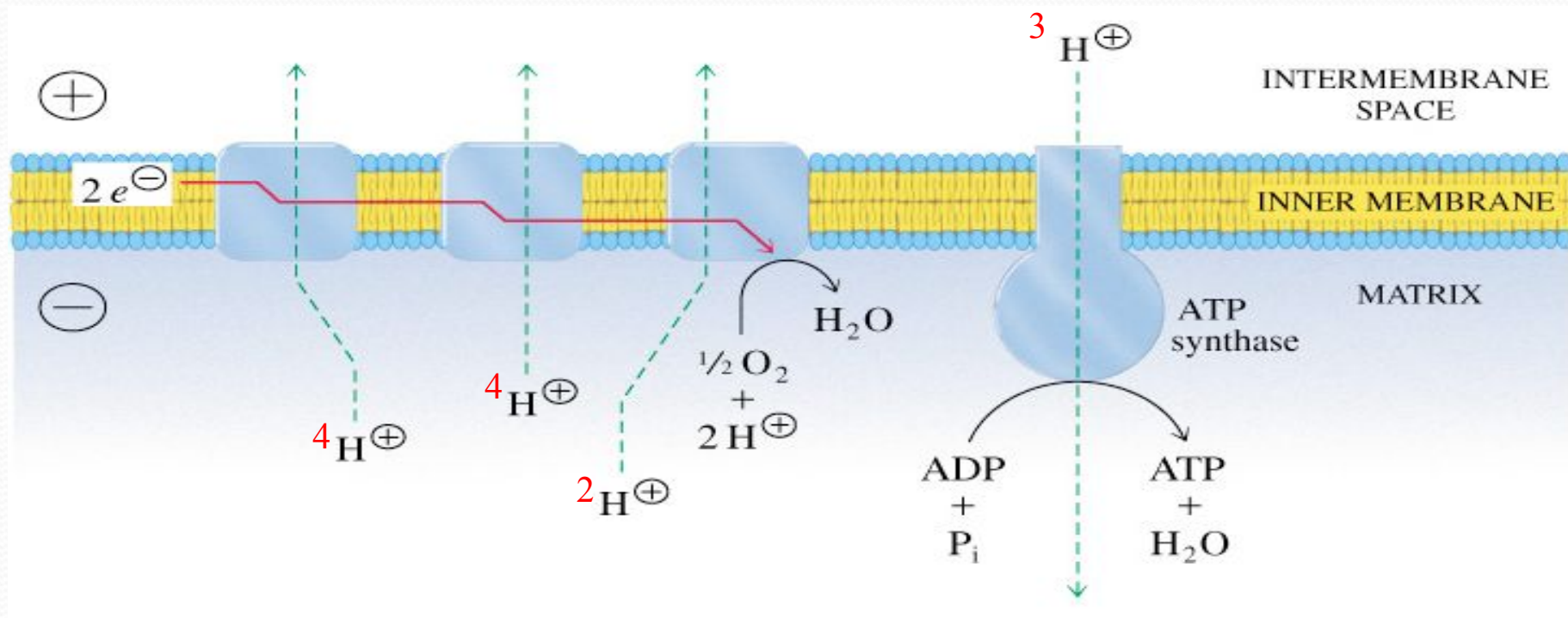
Активный транспорт АТФ, АДФ и P_H через внутреннюю митохондриальную мембрану

- АТФ должен транспортироваться в цитозоль, а АДФ и P_H - в матрикс
- **АДФ/АТФ переносчик** меняет митохондриальное АТФ на цитозольное АДФ
- Фосфат ($H_2PO_4^-$) транспортируется в матрикс за механизмом **симпорта с H^+** .
- Переносчик фосфата **снижает ΔpH** .

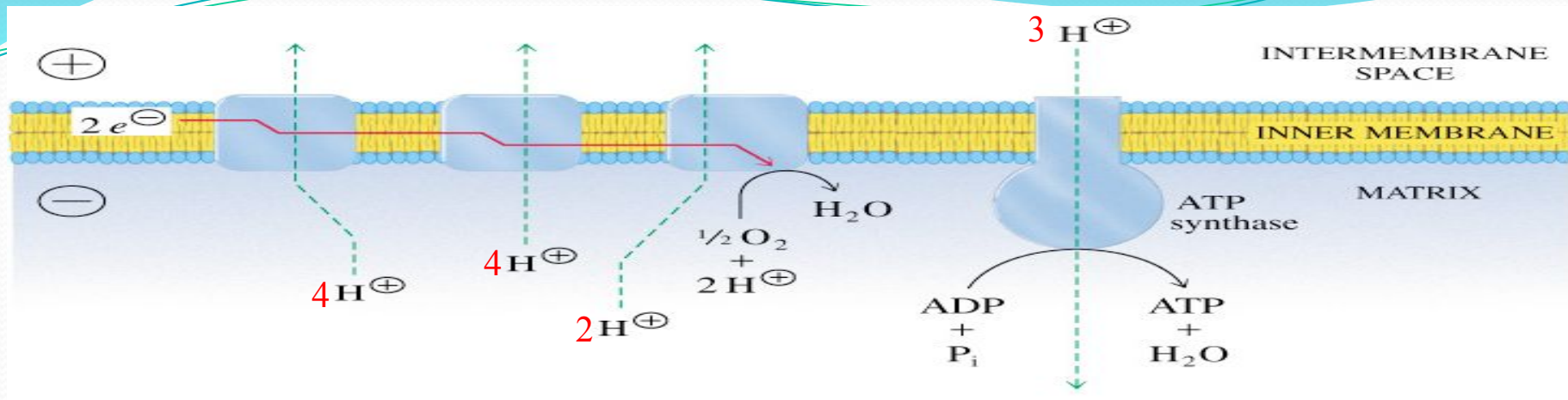


Выход АТФ

10 протонов выкачиваются из матрикса во время транспорта двух электронов от НАДН к O_2 (комплекс I, III и IV).



Выход АТФ



Перенос $3H^+$ необходим для синтеза одной молекулы АТФ АТФ-синтазой

$1 H^+$ необходим для транспорта P_n .

$4 H^+$ используется для каждой синтезированной АТФ

Для НАДН: $10 H^+ / 4 H^+ = 2.5$ АТФ

Для ФАДН₂: $6 H^+ / 4 H^+ = 1.5$ АТФ

РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Сопряжение тканевого дыхания с окислительным фосфорилированием

Транспорт электронов тесно связан с фосфорилированием.

АТФ не может быть синтезирован путем окислительного фосфорилирования если нет энергии освобожденной при электронном транспорте.

Электроны не проходят через электрон-транспортную цепь если АДФ не фосфорилируется до АТФ.

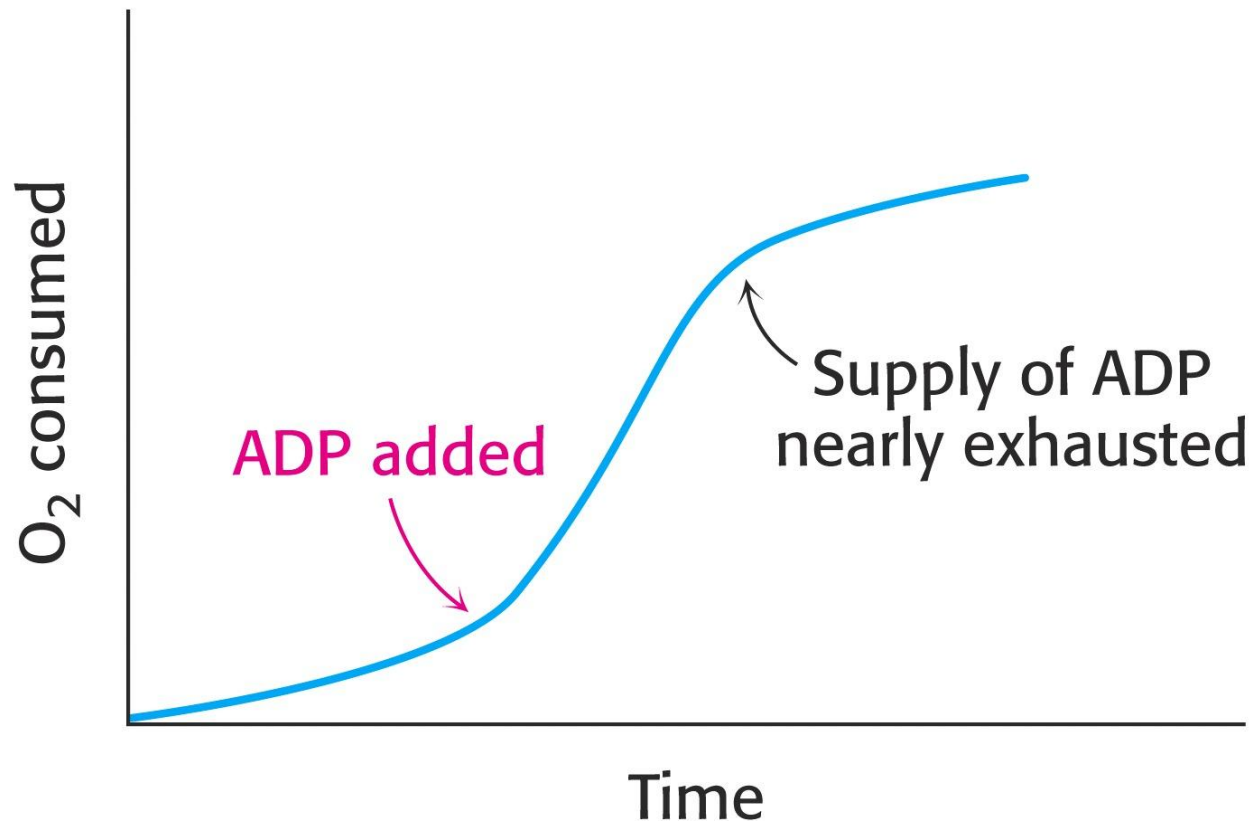
Основные регуляторы: НАДН, O_2 , АДФ

Внутримитохондриальное соотношение АТФ/АДФ является контрольным механизмом

Высокое соотношение ингибирует так как АТФ аллостерически связывается с комплексом IV

Дыхательный контроль

Регуляция скорости окислительного фосфорилирования с помощью уровня АДФ называется **дыхательным контролем**



ГИПОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

Причины:

1. алиментарные (голодание, гиповитаминозы РР, В₂);
2. гипоксические (нарушения доставки О₂ в клетки);
3. митохондриальные (действие ингибиторов и разобщителей; митохондриальные болезни)
 - ингибиторы тканевого дыхания
 - ингибиторы окислительного фосфорилирования
 - разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

ИНГИБИТОРЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

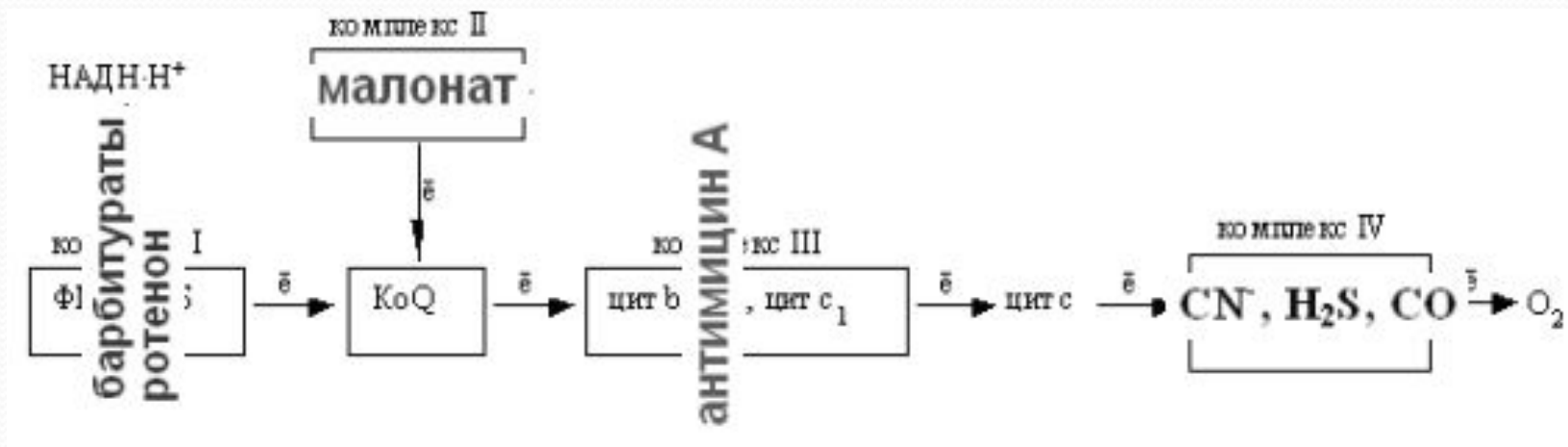
Это яды, которые блокируют перенос электронов через I, II, III, IV комплексы.

Ротенон и барбитураты блокируют I комплекс

малонат — блокирует II комплекс

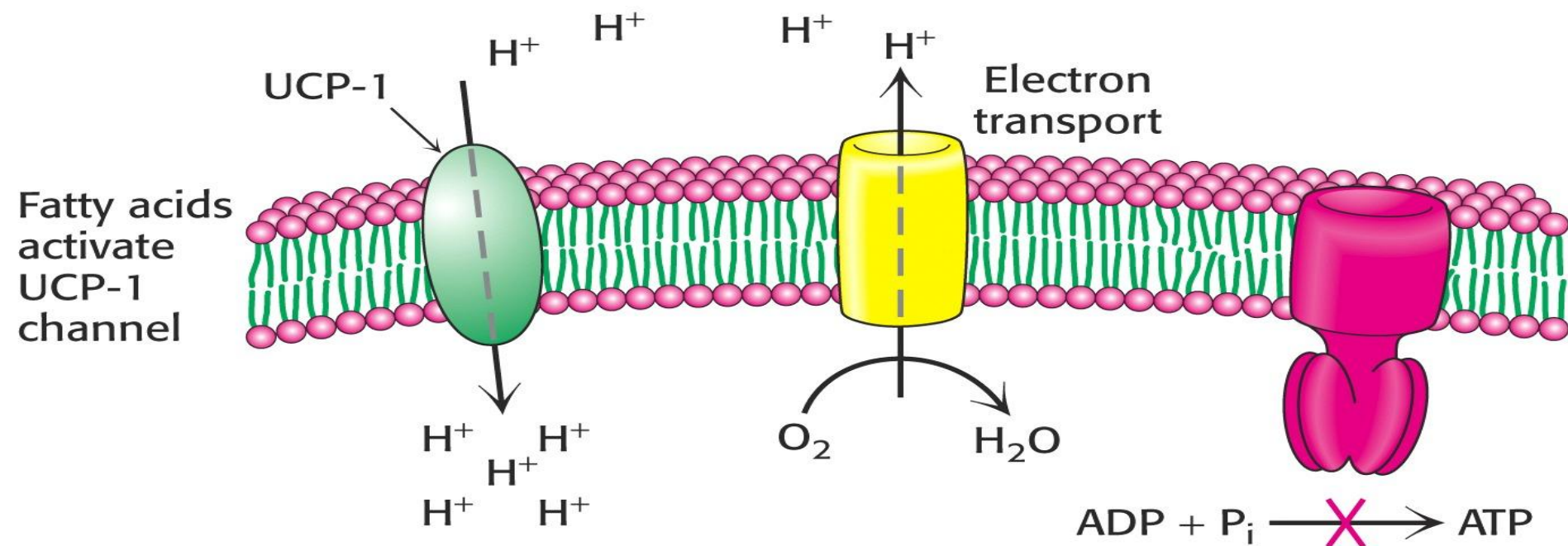
антимизин А – блокирует III комплекс

цианиды, сероводород, азид натрия, оксид азота, угарный газ блокируют перенос электронов на кислород (IV комплекс дыхательной цепи).

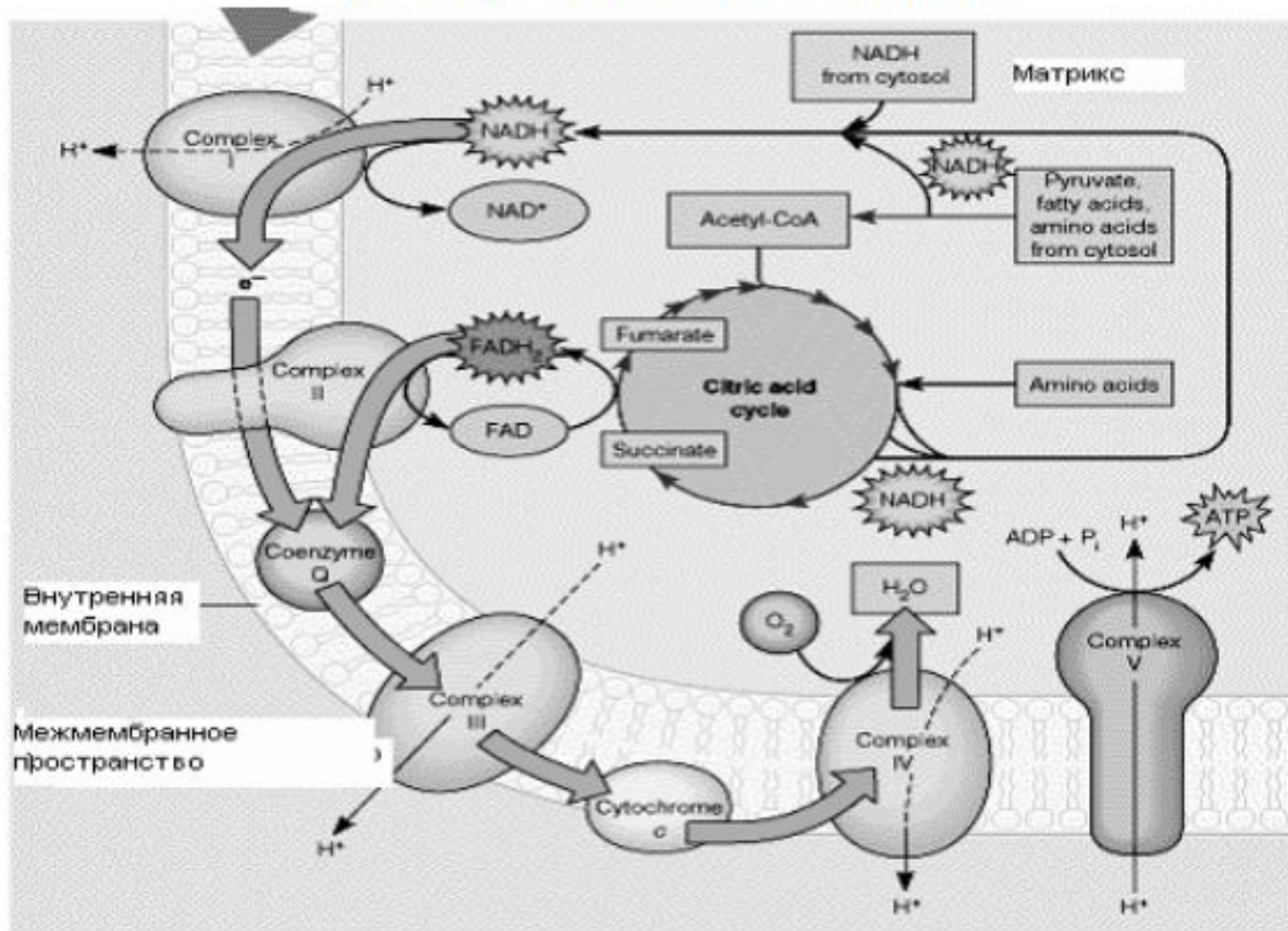


Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

Внутренняя митохондриальная мембрана содержит **белок-разобщения**. **Белок-разобщения** образует канал для перехода протонов из цитозоля в матрикс.



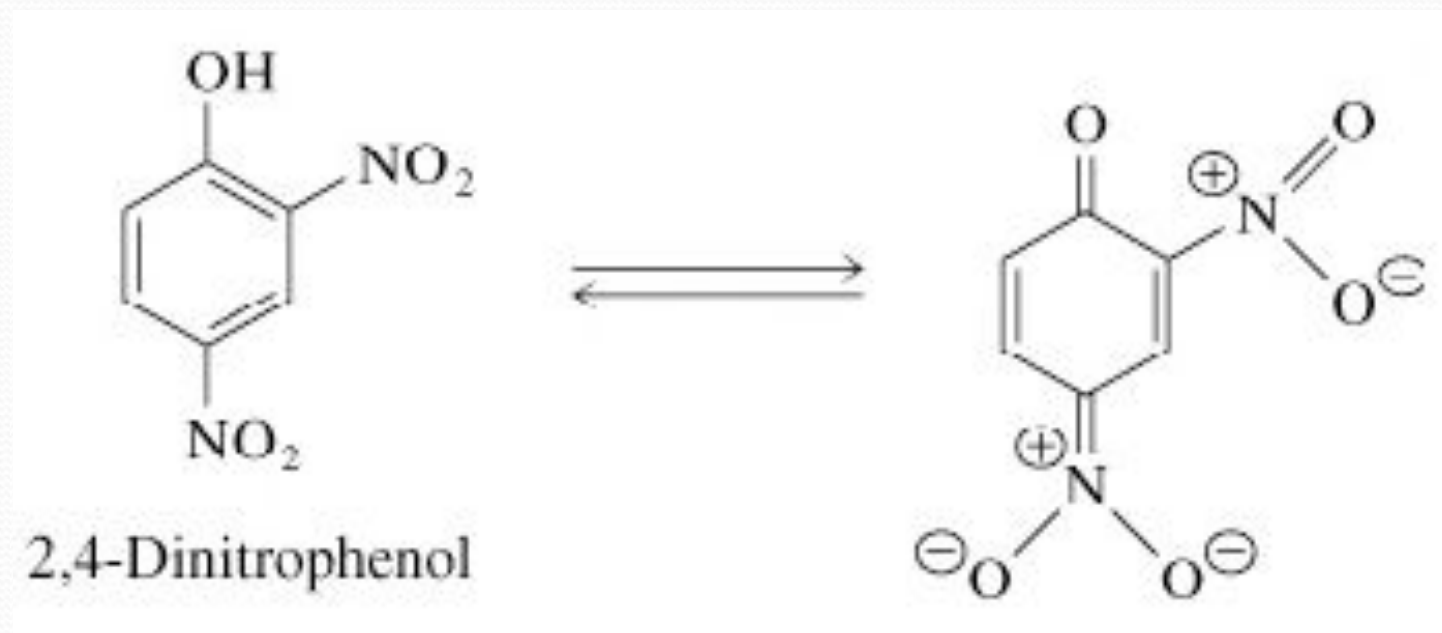
Разобщители окислительного фосфорилирования.



Разобщители

- Разобщителями являются жирорастворимые **слабые кислоты**
- Разобщители **снижают протонный градиент** транспортируя протоны через мембрану

2,4-Динитрофенол – эффективный разобщитель



Основные пути использования кислорода

Окисление субстрата (R)				
Дегидрирование		Оксигенирование		Свободно-радикальное окисление
-2H	-2H	$+1/2 O_2$	$+O_2$	$O^{\bullet-}$ $HO^{\bullet}$ $NO^{\bullet}$ $ONOO^-$ озон
на $1/2 O_2$	на O_2			
H_2O	H_2O_2	R-OH	RO_2	
Тканевое дыхание	Простые окислительные системы	Моноксигеназный путь	Диоксигеназный путь	
АТФ	Обезвреживание	Обезвреживание	Разрыв ароматических колец	
	Тепло	Тепло		

ПУТИ УТИЛИЗАЦИИ КИСЛОРОДА КЛЕТКОЙ

1. Оксидазный путь (около 80 %)

цитохромоксидаза

- Происходит полное восстановление кислорода
- Субстрат не реагирует с кислородом непосредственно
- Этот путь дает клетке энергию в виде АТФ

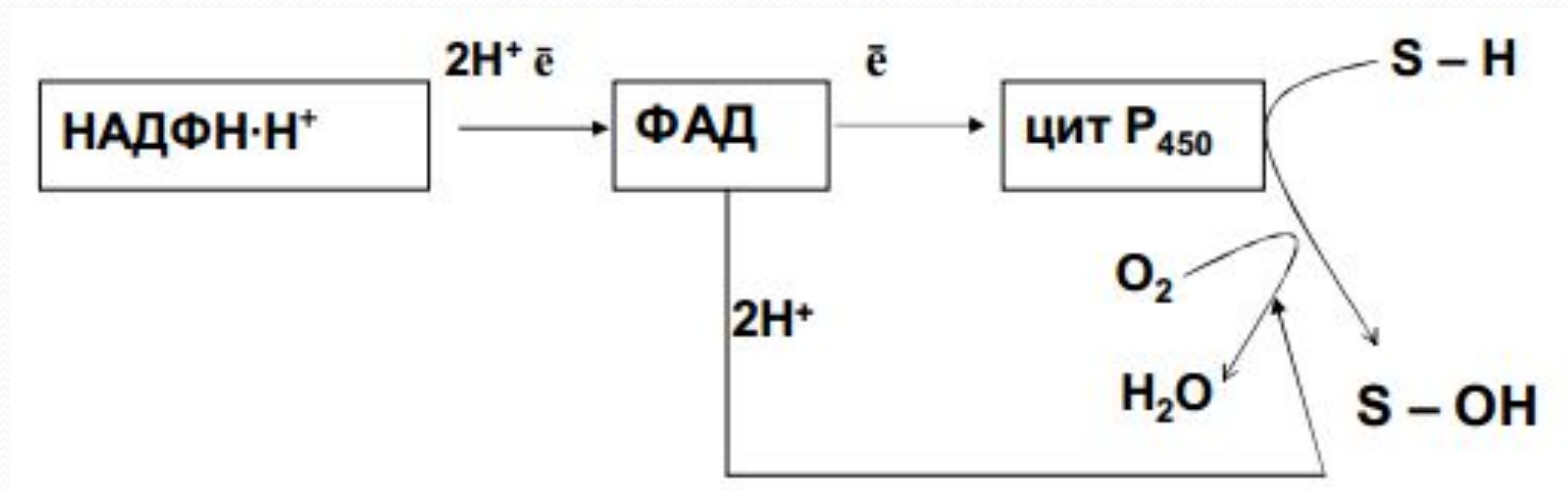
2. Оксидазы (ФМН и ФАД-зависимые), которые катализируют реакции окисления веществ с образованием перекиси водорода

2. Оксигеназный путь

- Происходит в основном в мембранах ЭПР (микросомах).
- Кислород включается в субстрат с образованием новой гидроксильной или карбоксильной группы
- Он не дает клетке энергии

Ферменты: оксигеназы

- диоксигеназы, которые включают в молекулу субстрата два атома кислорода.
- монооксигеназы (гидроксилазы). Они катализируют реакции, при которых в молекулу субстрата включается один атом кислорода



Роль оксигеназного пути:

- α - и 1ω -окисление жирных кислот, синтез ненасыщенных жирных кислот, стероидов.
- синтез коллагена (гидроксилирование пролина и лизина).
- обезвреживание ксенобиотиков (лекарства, ядохимикаты, косметические препараты).

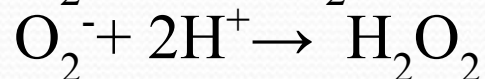
АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА (АФК)

Свободные радикалы кислорода, активные формы кислорода (АФК) - продукты неполного восстановления кислорода, агрессивные молекулы, содержащие неспаренные электроны, способные атаковать другие молекулы с целью забрать недостающий электрон.

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



Присоединение электронов происходит поэтапно и при этом образуются АФК.



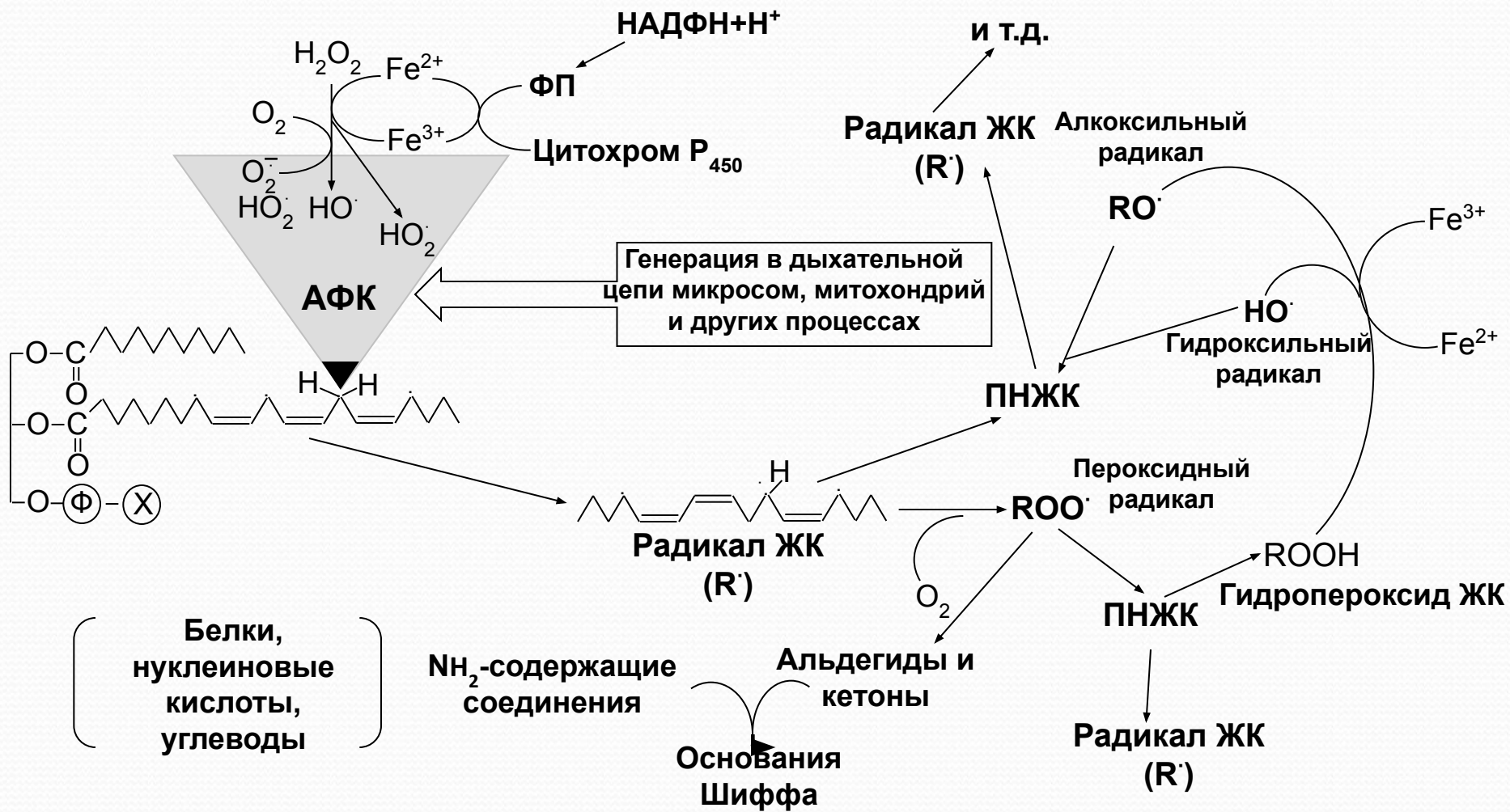
В живых клетках АФК образуются:

- в реакциях окисления гемоглобина в метгемоглобин;
- в реакциях, катализируемых оксидазами (пероксид водорода);
- в процессе переноса e^- по дыхательной цепи (при передаче электронов с убихинона на цитохром с)
- в процессе микросомного окисления (при передаче электрона с цит. Р 450);
- при гипоксии (в митохондриях нарушается работа цитохромоксидазы, происходит утечка АФК);
- при действии ионизирующей радиации и УФО.

Негативное воздействие свободных радикалов на организм

- действуют на SH – группы белков, что ведет к их денатурации и инактивации ферментов;
- повреждают ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов клеточных мембран, запуская процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), нарушается функция мембран;
- вызывают деполимеризацию гликопротеинов соединительной ткани;
- стимулируют разрывы в молекулах нуклеиновых кислот, повреждая генетический аппарат клетки (мутации);
- повреждают митохондрии, вызывая нарушение проницаемости ВММ и нарушение процесса синтеза АТФ;
- усиленная генерация свободных радикалов кислорода сопровождает болезни Паркинсона, Альцгеймера и сам процесс старения, ведет к появлению катаракты.

Краткая схема перекисного окисления липидов



Положительное воздействие свободных радикалов на организм:

- ❖ Обновление липидного состава мембран;
- ❖ Из арахидоновой кислоты образуются простагландины (ПГ) и их производные (простациклины и тромбоксаны, лейкотриены);
- ❖ Обезвреживание ксенобиотиков и токсичных продуктов метаболизма
- ❖ Функционирование иммунной системы (фагоциты способны генерировать свободные радикалы, уничтожая бактерии, поврежденные и опухолевые клетки)

Факторы антиоксидантной защиты

Ферментативной природы:

- супероксиддисмутаза (СОД)
- каталаза
- глутатионпероксидаза
- глутатионредуктаза
- церулоплазмин

Неферментативной природы:

жирорастворимые:

- токоферолы
- витамины А, К
- убихинон
- полифенолы
- холестерол
- другие

водорастворимые:

- витамин С
- глутатион
- цистеин
- бензойная кислота
- мочевины
- другие

Неферментативная защита.

Важнейшим компонентом является витамин Е (токоферол), витамин размножения.

Токоферол защищает ненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран от перекисного окисления

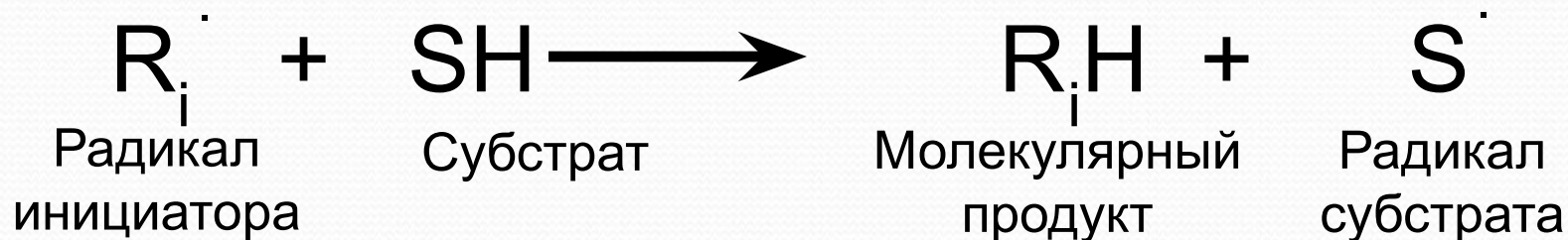
Предохраняет от окисления SH-группы мембранных белков

Защищает от окисления двойные связи в молекулах каротинов и витамина А.

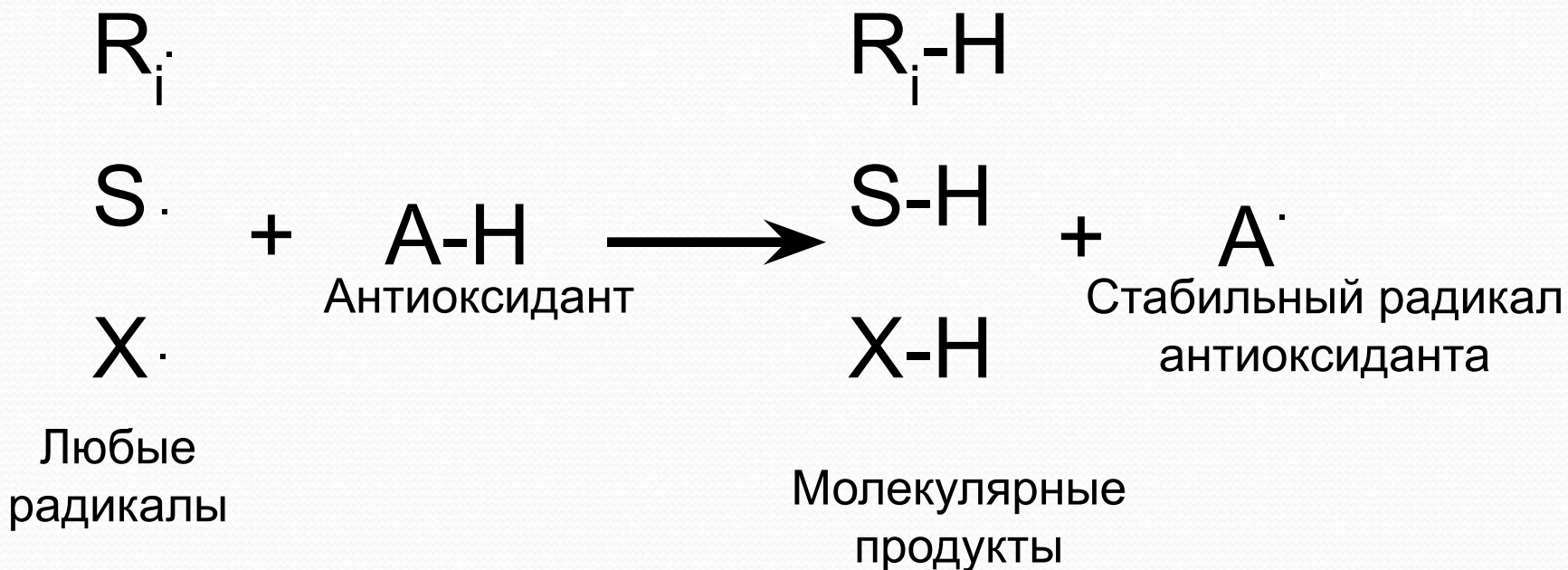
Токоферол (совместно с витамином С) способствует включению селена в состав

активного центра глутатионпероксидазы —важнейшего фермента антиоксидантной защиты клеток.

Контролирует синтез гема, цитохромов

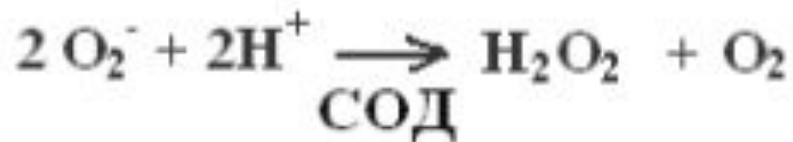


**Механизм действия антиоксидантов
неферментативной природы**



Специфическая антиоксидантная защита клетки от АФК

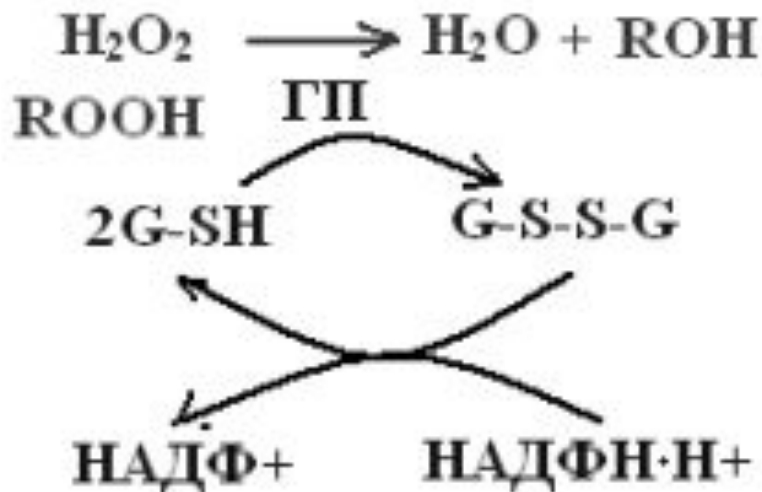
Супероксиддисмутаза (превращает супероксидные радикалы в менее токсичную перекись водорода);



Каталаза (разлагает перекись водорода на воду и кислород);



Система глутатиона: трипептид глутатион (Г–SH), глутатионпероксидазу (ГП), глутатионредуктазу (ГР), НАДФН·Н⁺, селен.



Биосинтез АТФ путем окислительного фосфорилирования. Часть I

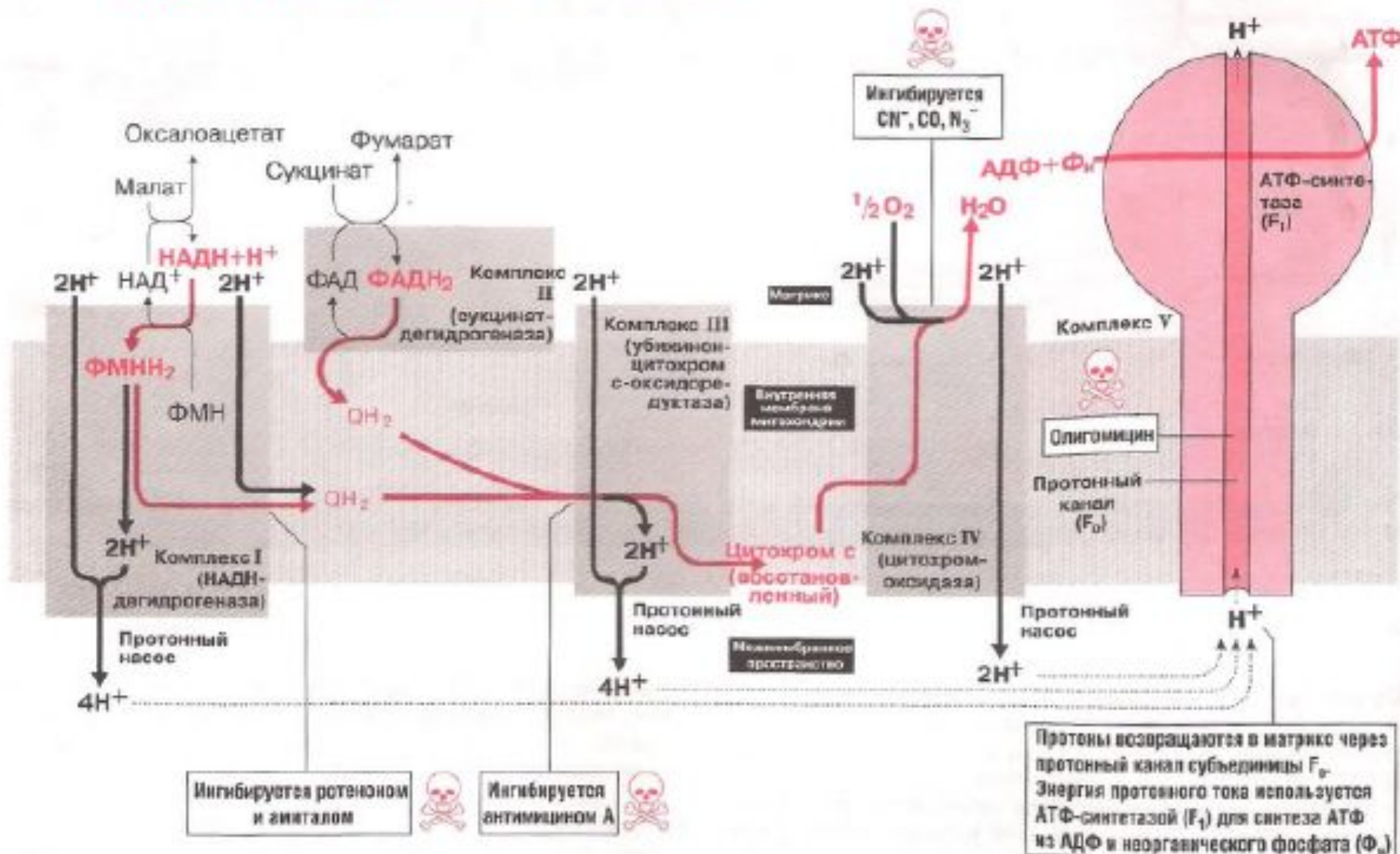
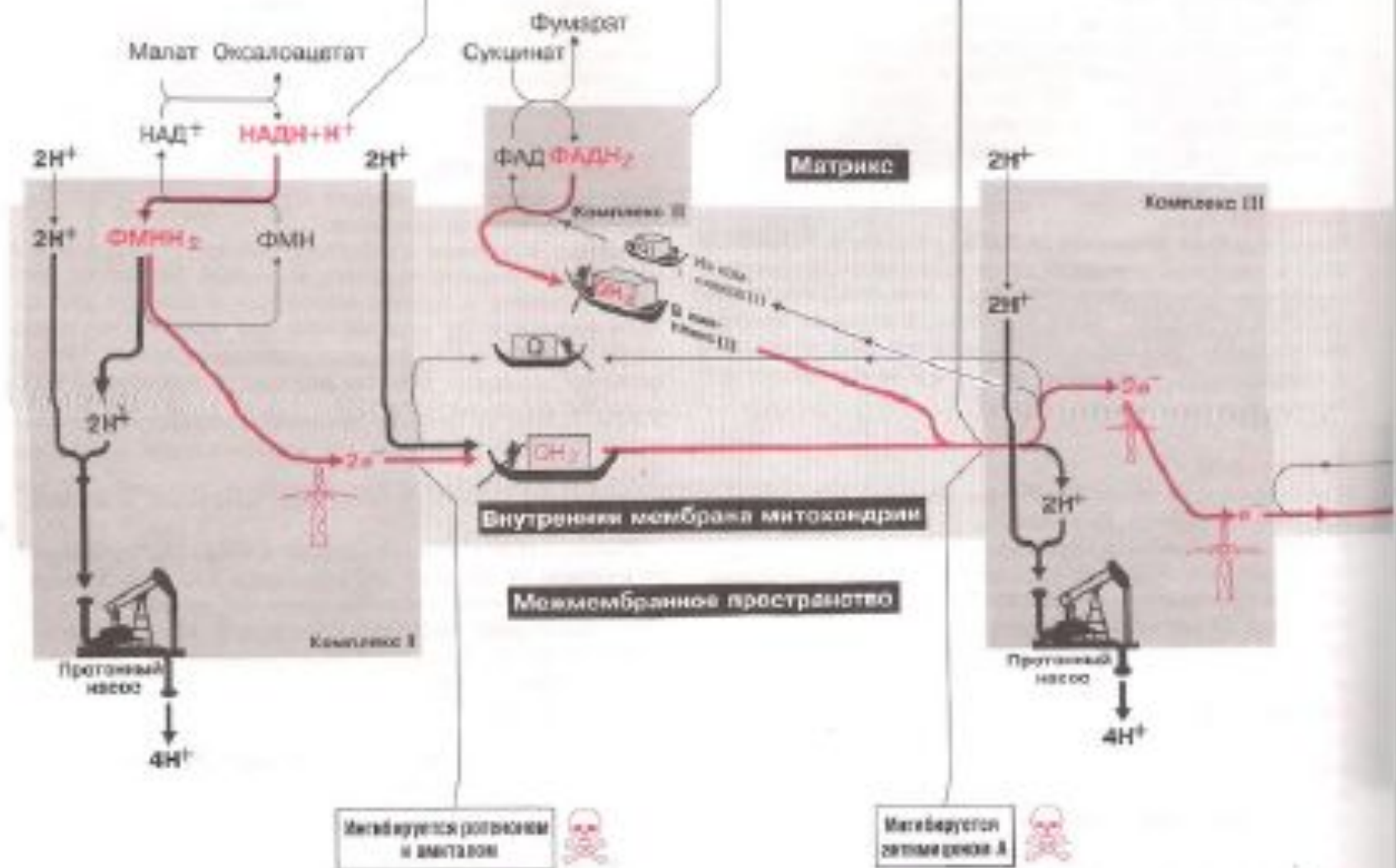


Рис. 16.1. Биосинтез АТФ путем окислительного фосфорилирования (часть I).

1
В ходе окислительно-восстановительных реакций (для примера приведена малатдегидрогеназная реакция) образуется НАДН, который поступает в комплекс I. В комплексе I происходит разделение зарядов: протоны выбрасываются в межмембранное пространство, а электроны восстанавливают убихинон (Q) до убихинола (QH₂). Убихинол поступает в комплекс III

2
Происходит окисление ФАДН₂. Протоны и электроны восстанавливают убихинон (Q) до убихинола (QH₂), который поступает в комплекс III

3
В комплексе III убихинол (QH₂) отдает два протона и два электрона. Четыре протона выбрасываются в межмембранное пространство, а два электрона передаются цитохрому c



4

Цитохром с восстанавливает электрон и передает в восстановленную форму. Восстановленный цитохром с транспортирует электрон к комплексу IV, где электрон передается непосредственно акцептору электронов — кислороду. Кислород полностью восстанавливается, образуя воду.

6

Протонный ток запускает молекулярный двигатель, который обжимает молекулы АДФ и ФН (неорганический фосфат), заставляя их реагировать друг с другом с образованием АТФ.

