

ОБЩИЕ ПУТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ

Метаболизм представляет собой высоко координированную и целенаправленную клеточную активность, обеспеченную участием многих взаимосвязанных ферментативных систем.

Он выполняет три специализированные функции:

- 1. Энергетическая – снабжение клетки химической энергией,**
- 2. Пластическая – синтез макромолекул как строительных блоков,**
- 3. Специфическая – синтез и распад биомолекул, необходимых для выполнения специфических клеточных функций.**

АНАБОЛИЗМ

Анаболизм – это биосинтез белков, полисахаридов, липидов, нуклеиновых кислот и других макромолекул из малых молекул-

предшественников. Поскольку он сопровождается усложнением структуры, то требует затрат энергии. Источником такой энергии является **энергия АТФ**. Также для биосинтеза некоторых веществ (жирные кислоты, холестерол) требуются богатые энергией атомы водорода – их источником является **НАДФН**. **Молекулы НАДФН образуются в реакциях** окисления глюкозо-6-фосфата (см "Пентозофосфатный путь окисления глюкозы") и оксалоацетата (см "Биосинтез жирных кислот").

В реакциях анаболизма НАДФН передает свои атомы водорода на синтетические реакции и окисляется до НАДФ. Так формируется НАДФ-НАДФН-цикл.



КАТАБОЛИЗМ

Катаболизм – расщепление и окисление сложных органических молекул до более простых конечных продуктов. Оно сопровождается высвобождением энергии, заключенной в сложной структуре веществ. Большая часть высвобожденной энергии рассеивается в виде тепла. Меньшая часть этой энергии "перехватывается" коферментами окислительных реакций НАД и ФАД, некоторая часть сразу используется для синтеза АТФ.

Следует заметить, что атомы водорода, высвобождаемые в реакциях окисления веществ, могут использоваться клеткой только по двум направлениям:

- 1) на анаболические реакции в составе НАДФН**
- 2) на образование АТФ в составе НАДН и ФАДН₂ в дыхательной цепи митохондрий**

Весь катаболизм подразделяется на три этапа:

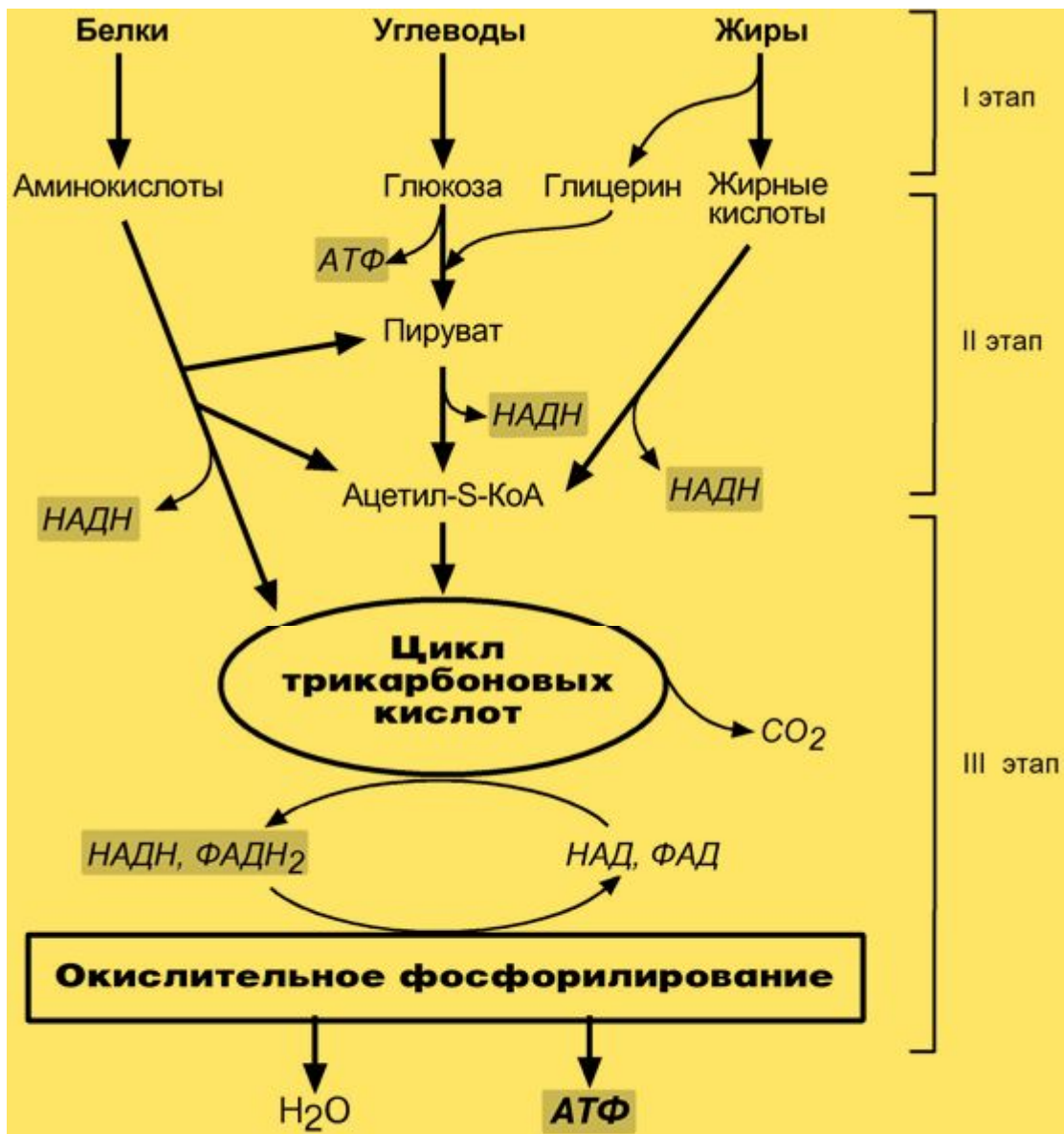
I этап

Происходит в **кишечнике (переваривание пищи) или в лизосомах** при расщеплении уже ненужных молекул. При этом освобождается около 1% энергии, заключенной в молекуле. Она рассеивается в виде тепла.

II этап

Вещества, образованные при внутриклеточном гидролизе или проникающие в клетку из крови, обычно превращаются в **пировиноградную кислоту, ацетильную группу (в составе ацетил-S-CoA)**, и в некоторые другие мелкие органические молекулы. Локализация второго этапа — **ЦИТОЗОЛЬ И МИТОХОНДРИИ**.

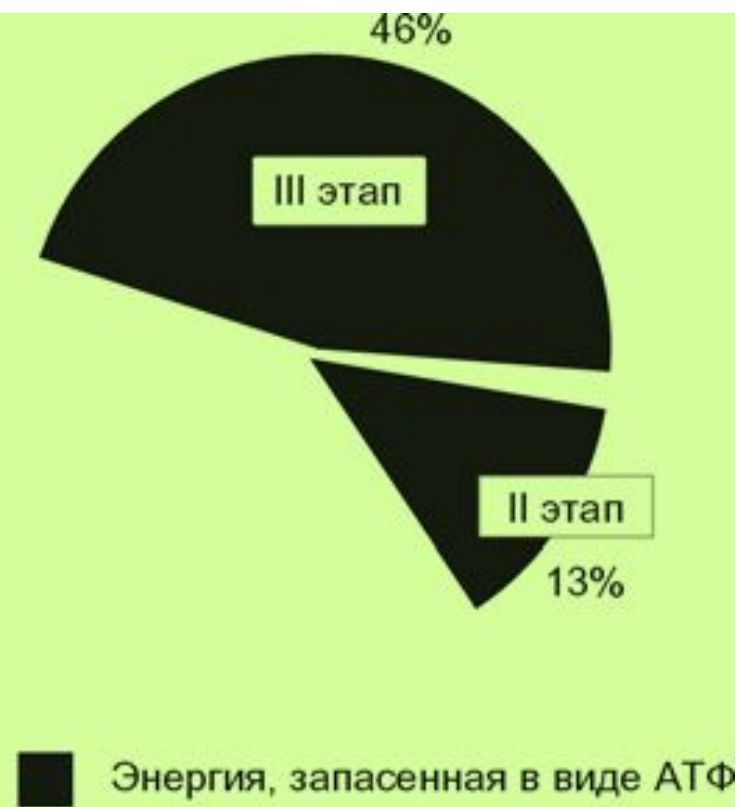
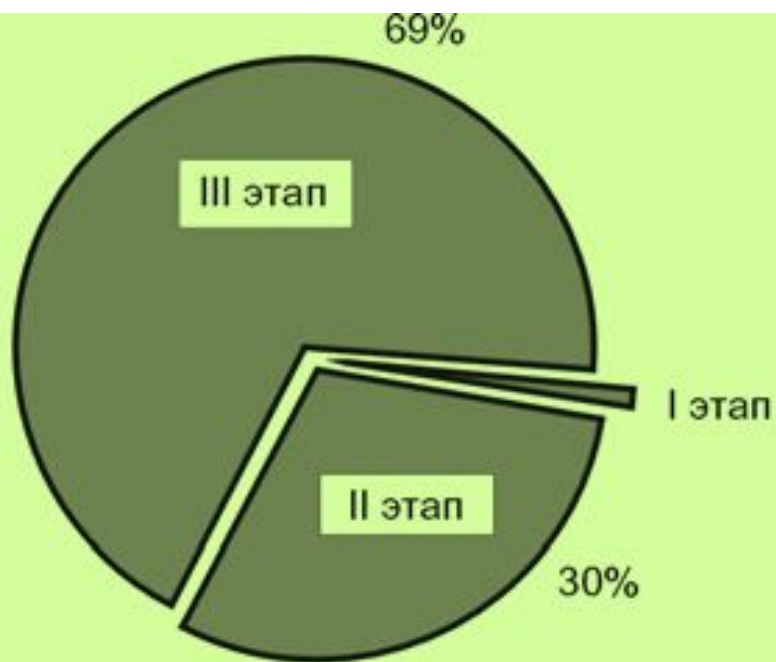
Часть энергии рассеивается в виде тепла и примерно 13% энергии вещества усваивается, т.е. запасается в виде макроэргических связей АТФ.



Этапы биологического окисления

III этап

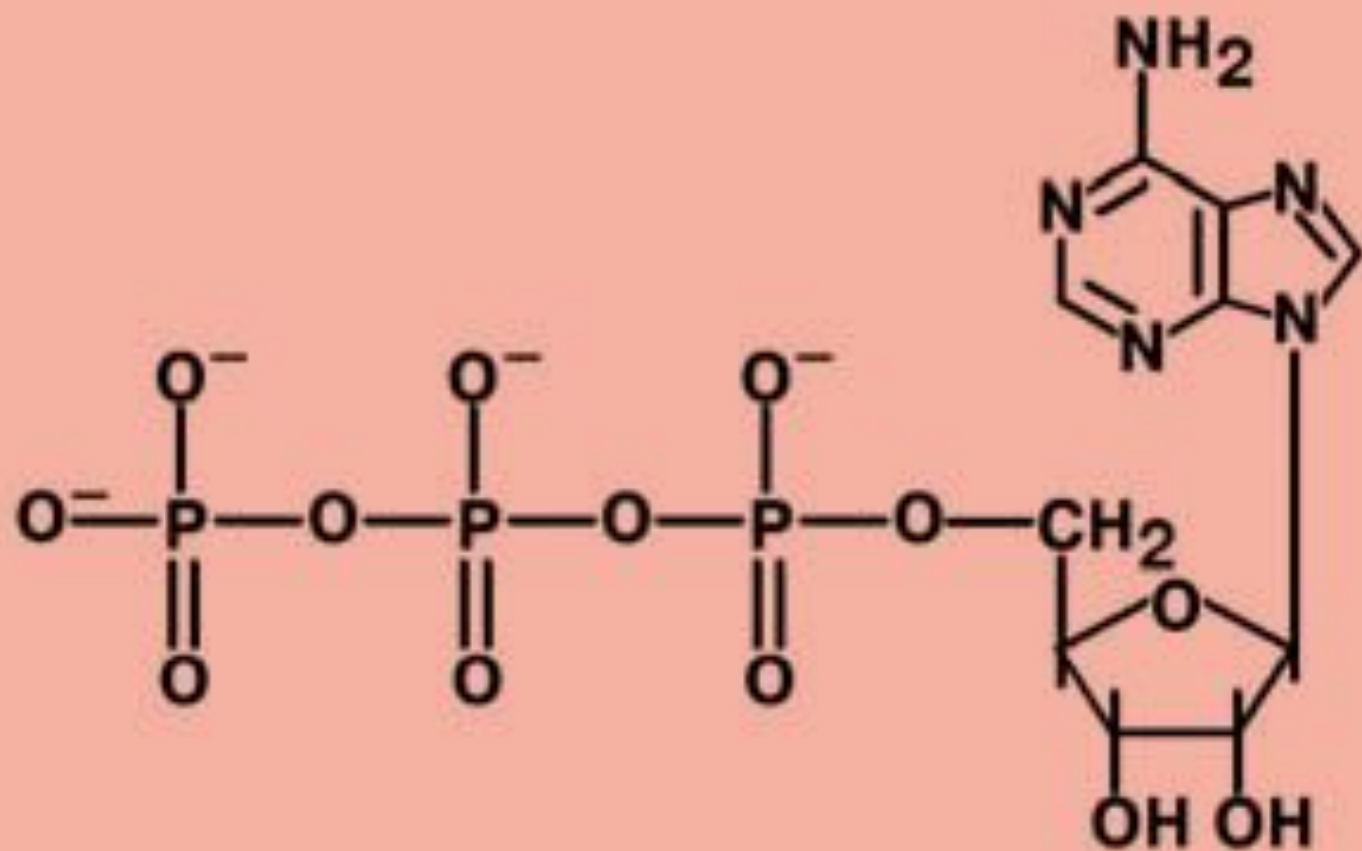
Все реакции этого этапа идут в митохондриях. Ацетил-S-КоА включается в реакции цикла трикарбоновых кислот и окисляется до углекислого газа. Выделенные атомы водорода соединяются с НАД и ФАД и восстанавливают их. После этого НАДН и ФАДН₂ переносят водород в цепь дыхательных ферментов, расположенную на внутренней мембране митохондрий. Здесь в результате процесса под названием "окислительное фосфорилирование" образуется вода и главный продукт биологического окисления – АТФ. Часть выделенной на этом этапе энергии молекулы рассеивается в виде тепла и около 46% энергии исходного вещества усваивается, т.е. запасается в связях АТФ и ГТФ.



Соотношение выделенной и запасенной энергии
при биологическом окислении

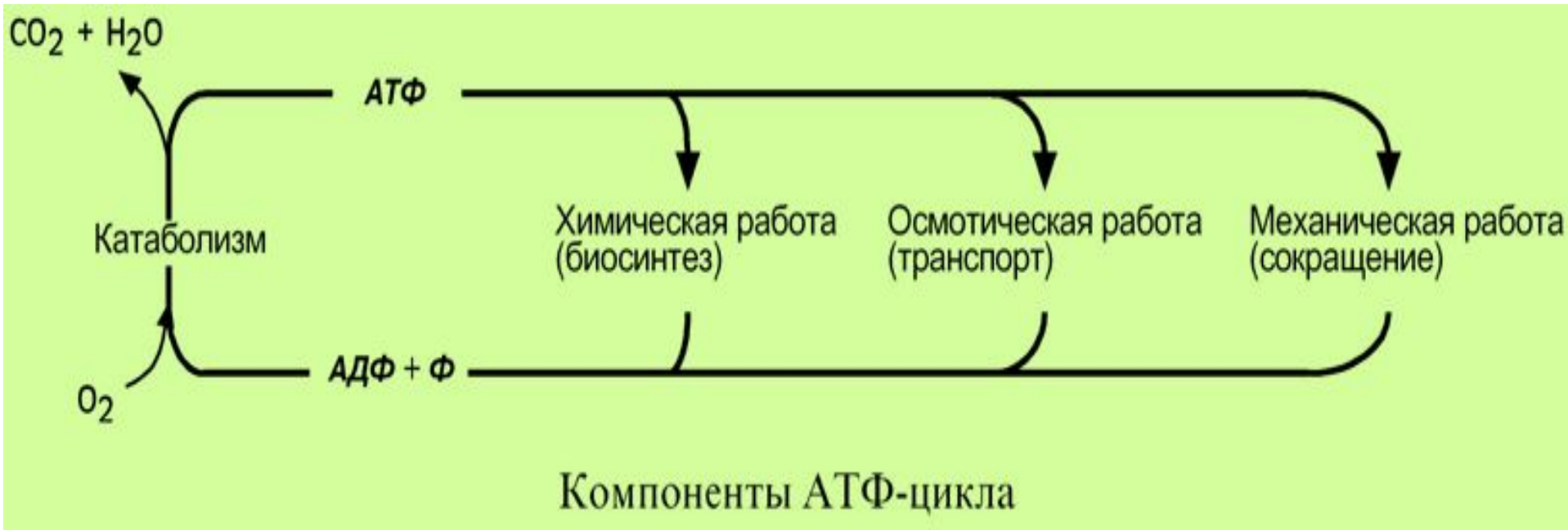
Энергия, высвобождаемая в реакциях катаболизма, запасается в виде связей, называемых **макроэргическими**. Основной и универсальной молекулой, запасающей энергию, является **АТФ**.

Все молекулы АТФ в организме непрерывно участвуют в каких-либо реакциях, постоянно расщепляются до АДФ и вновь регенерируют.



Строение АТФ

Существует три основных способа использования АТФ, которые вкупе с процессом образования АФ получили название **АТФ-цикл**.



ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ЭНЕРГИИ В КЛЕТКЕ

В клетке существуют четыре основных процесса, обеспечивающих высвобождение энергии из химических связей при окислении веществ и ее запасание:

1. Гликолиз (2 этап) – окисление молекулы глюкозы до двух молекул пировиноградной кислоты, при этом образуется 2 молекулы АТФ и НАДН. Далее пировиноградная кислота в аэробных условиях превращается в ацетил-S-КоА, в анаэробных условиях – в молочную кислоту.

2. β -Окисление жирных кислот (2 этап) – окисление жирных кислот до ацетил-S-КоА, здесь образуются молекулы НАДН и ФАДН₂. Молекул АТФ "в чистом виде" не образуется.

3. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК, 3 этап) – окисление ацетильной группы (в составе ацетил-S-КоА) или иных кетокислот до углекислого газа.

Реакции полного цикла сопровождаются образованием 1 молекулы ГТФ (что эквивалентно одной АТФ), 3 молекул НАДН и 1 молекулы ФАДН₂.

4. Окислительное фосфорилирование (3 этап) – окисляются НАДН и ФАДН₂, полученные в реакциях катаболизма глюкозы и жирных кислот. При этом ферменты внутренней мембраны митохондрий обеспечивают образование основного количества клеточного АТФ из АДФ (фосфорилирование).

Основным способом получения АТФ в клетке является окислительное фосфорилирование. Однако также есть другой способ фосфорилирования АДФ до АТФ – **субстратное фосфорилирование.**

Этот способ связан с передачей макроэргического фосфата или энергии макроэргической связи какого-либо вещества (субстрата) на АДФ. К таким веществам относятся метаболиты гликолиза (**1,3-дифосфоглицериновая кислота, фосфоенолпируват**), цикла трикарбоновых кислот (**сукцинил-S-CoA**) и **креатинфосфат**. Энергия гидролиза их макроэргической связи выше, чем в АТФ (7,3 ккал/моль), и роль этих веществ сводится к использованию для фосфорилирования АДФ.

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ

Пировиноградная кислота (ПВК, пируват) является продуктом окисления глюкозы и некоторых аминокислот. Ее судьба различна в зависимости от доступности кислорода в клетке. **В анаэробных условиях она восстанавливается до молочной кислоты. В аэробных условиях происходит ее окислительное декарбоксилирование до уксусной кислоты, переносчиком которой служит коэнзим А.**



Судьба пирувата при наличии и при отсутствии кислорода

Суммарное уравнение реакции отражает декарбоксилирование пирувата, восстановление НАД до НАДН и образование ацетил-S-КоА.



Суммарное уравнение реакции пируватдегидрогеназного комплекса

Превращение состоит из пяти последовательных реакций, осуществляется мультиферментным комплексом, прикрепленным к внутренней митохондриальной мембране со стороны матрикса. В составе комплекса насчитывают **3 фермента и 5 коферментов:**

Пируватдегидрогеназа (E1, ПВК-дегидрогеназа), ее коферментом является тиаминдифосфат, катализирует 1-ю реакцию.

Дигидролипоат-ацетилтрансфераза (E2), ее коферментом является липоевая кислота, катализирует 2-ю и 3-ю реакции.

Дигидролипоат-дегидрогеназа (E3), кофермент – ФАД, катализирует 4-ю и 5-ю реакции.

Помимо указанных коферментов, которые **прочны связаны с соответствующими ферментами**, в работе комплекса принимают участие **коэнзим А и НАД**.

Суть первых трех реакций сводится к декарбоксилированию пирувата (катализируется пируватдегидрогеназой, E1), окислению пирувата до ацетила и переносу ацетила на коэнзим А (катализируется дигидролипоамидцетилтрансферазой, E2).

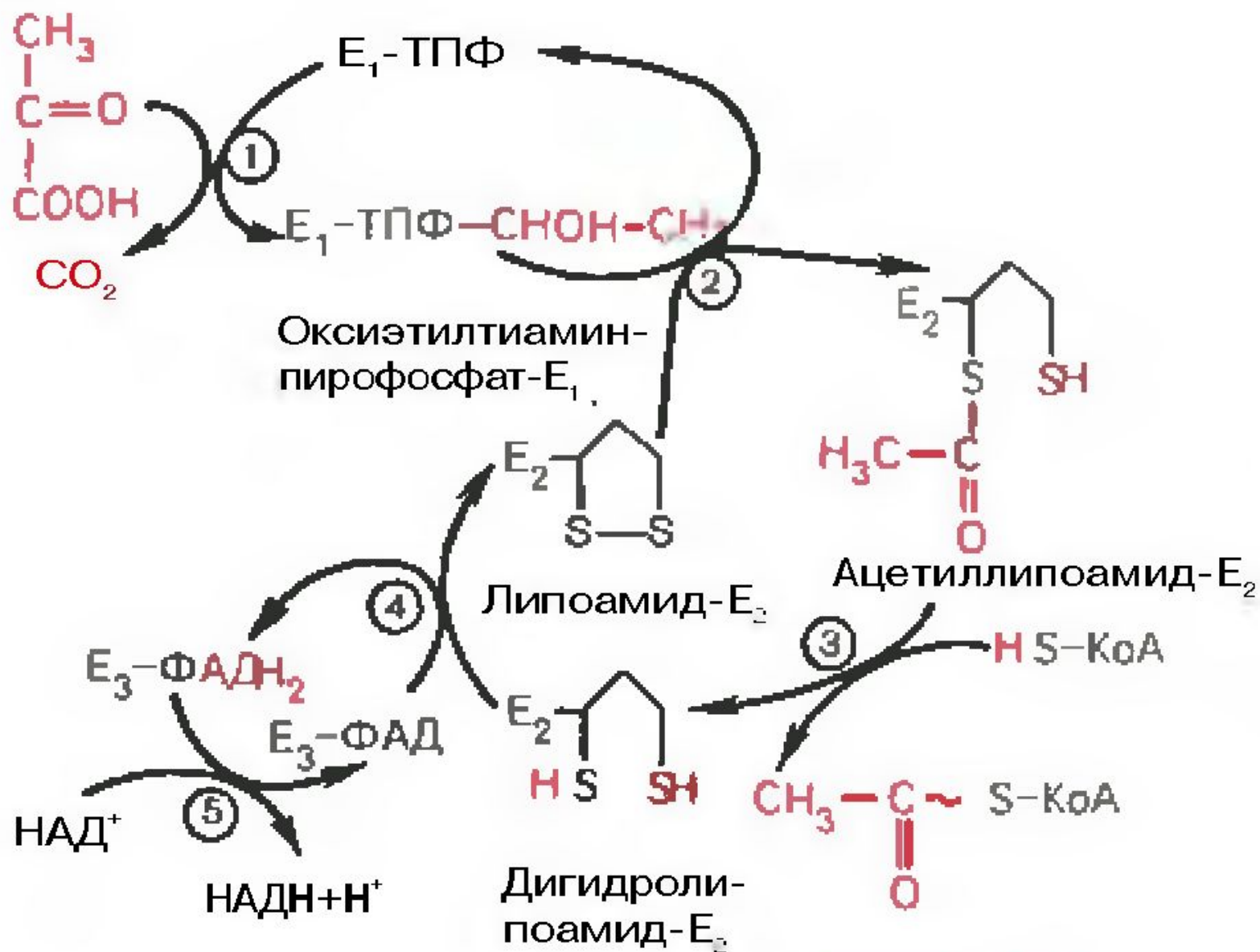


Реакции синтеза ацетил-S-КоА

Оставшиеся 2 реакции необходимы для возвращения липоевой кислоты и ФАД в окисленное состояние (катализируются дигидролипоат-дегидрогеназой, E3). При этом образуется НАДН.



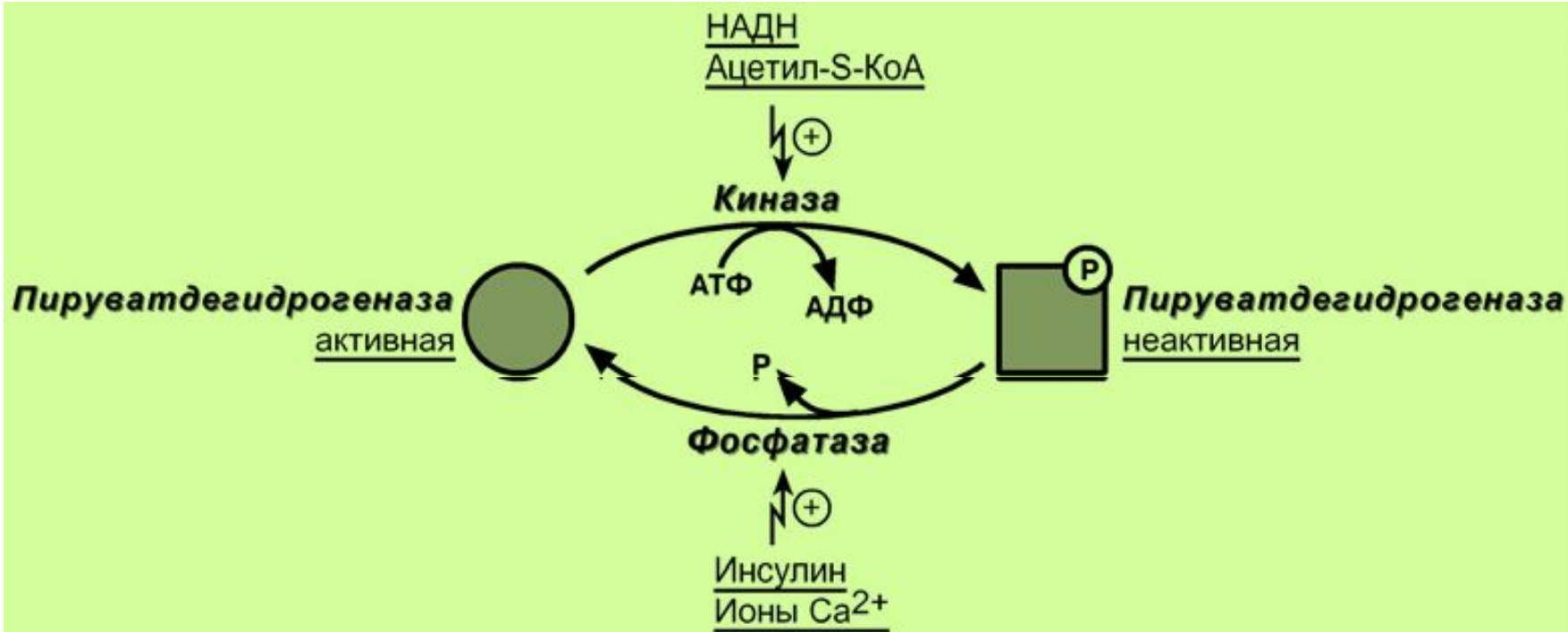
Реакции образования НАДН



Ацетил-КоА

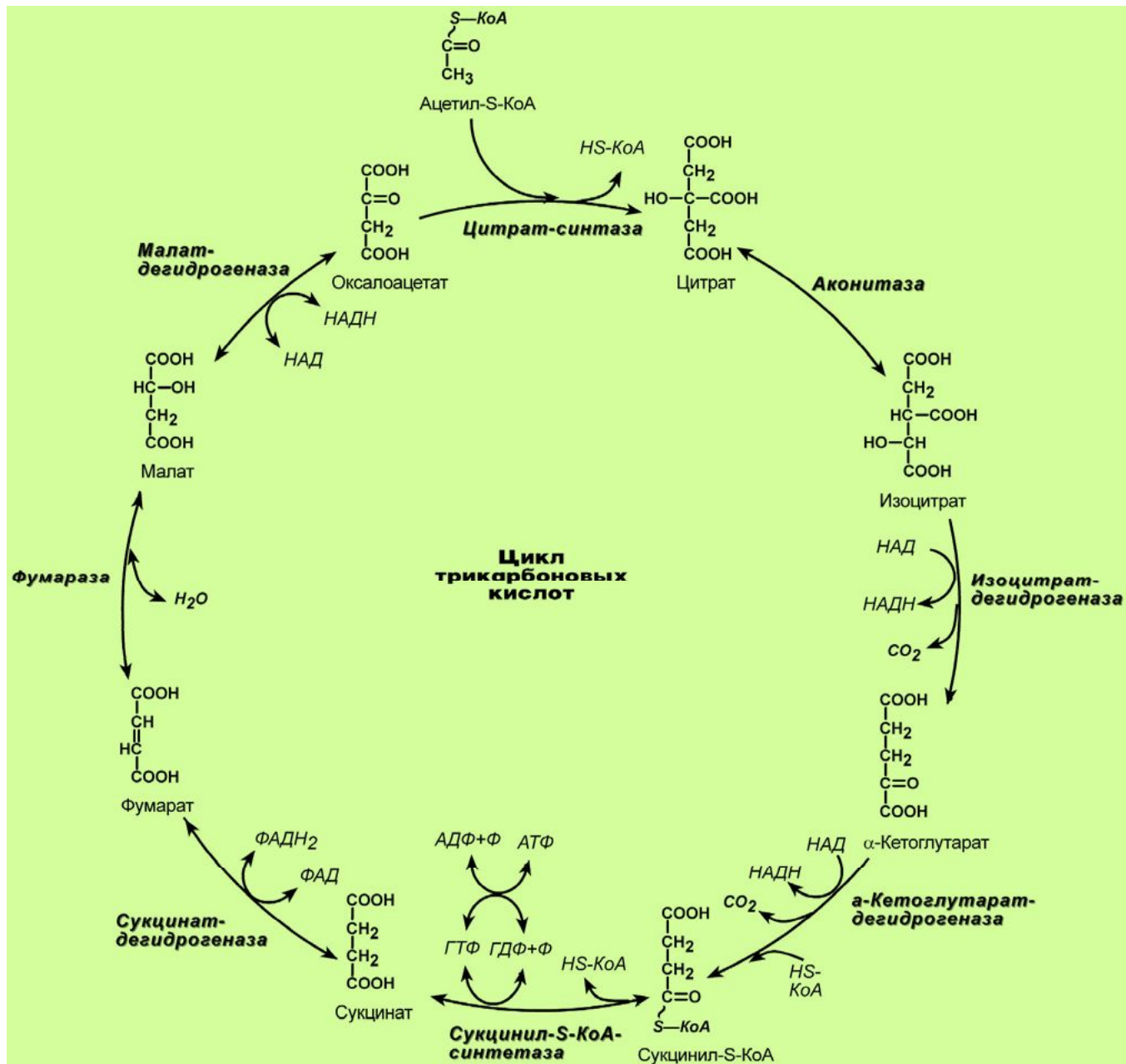
РЕГУЛЯЦИЯ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА

В пируватдегидрогеназном комплексе имеются еще 2 вспомогательных фермента – **киназа и фосфатаза, участвующие регуляции активности пируватдегидрогеназы (Е1) путем фосфорилирования и дефосфорилирования.**

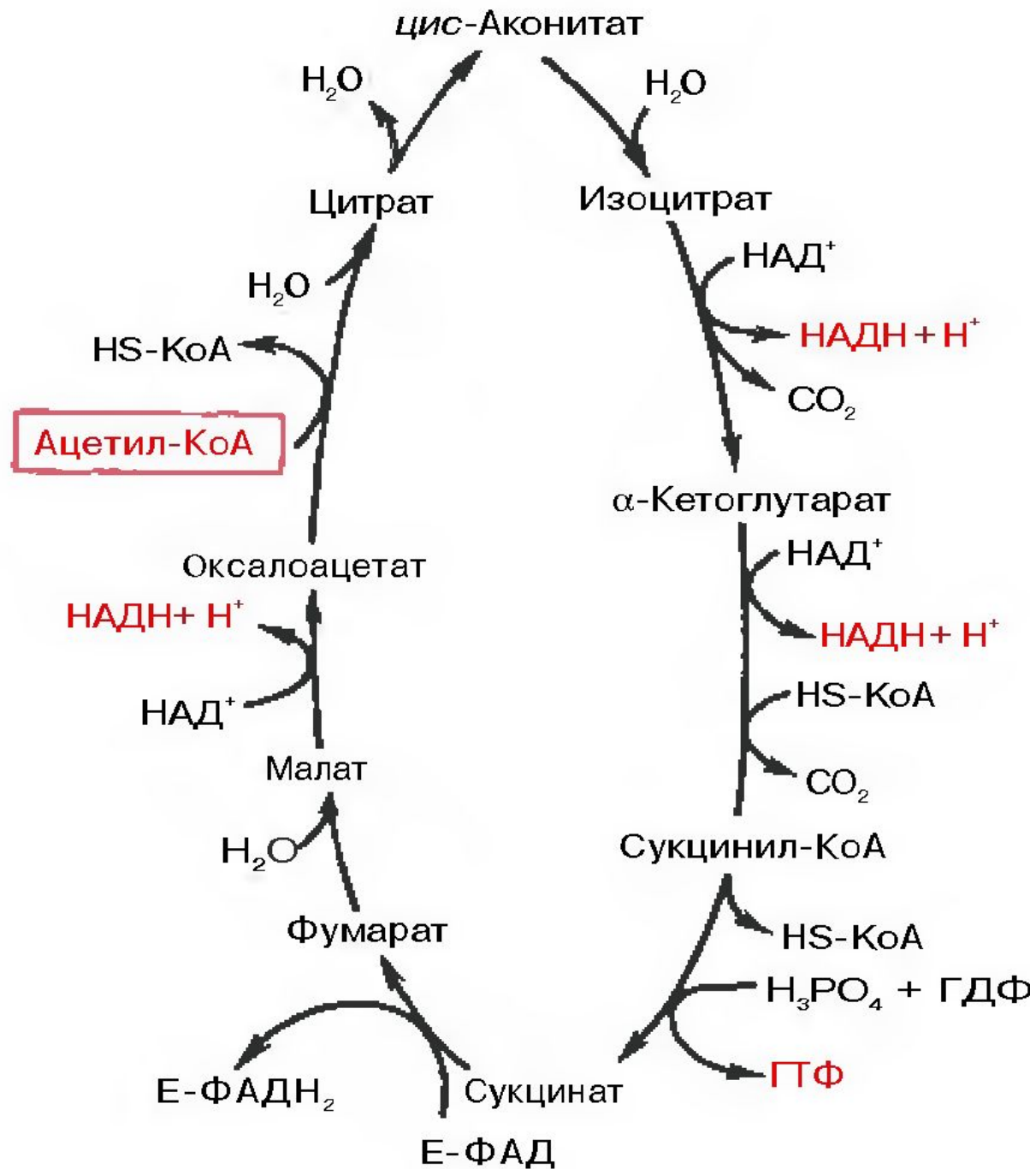


Регуляция активности ПВК-дегидрогеназы

Киназа активируется при избытке АТФ и продуктов реакции – НАДН и ацетил-S-КоА. При этом она фосфорилирует пируватдегидрогеназу, инактивируя ее. Фосфатаза, активируясь ионами кальция или инсулином, отщепляет фосфат и активирует пируватдегидрогеназу. В головном мозге доля пирувата, поступающая на ПВК-дегидрогеназу, составляет 80-90% в отличие от печени, где пируват обычно используется для синтеза оксалоацетата (80-85%). Этим объясняется высокая чувствительность нервной ткани к дефициту тиамина. Показано, что при тяжелой гипогликемии окислительные процессы и потребление кислорода в головном мозге тормозились более чем в 2 раза, а в мышцах совсем незначительно. Это отражает способность миоцитов вовлекать в окисление другие субстраты и высокую зависимость нейронов от глюкозы.



Цикл трикарбоновых кислот



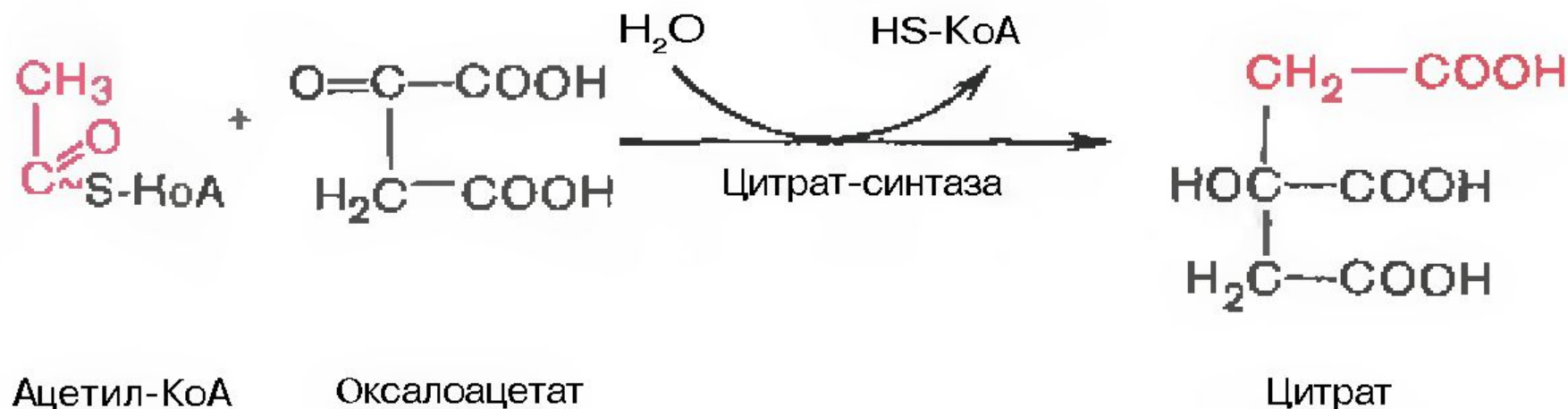
ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Образующийся в ПВК-дегидрогеназной реакции ацетил-S-КоА далее вступает в цикл трикарбонových кислот (ЦТК, цикл лимонной кислоты, цикл Кребса).

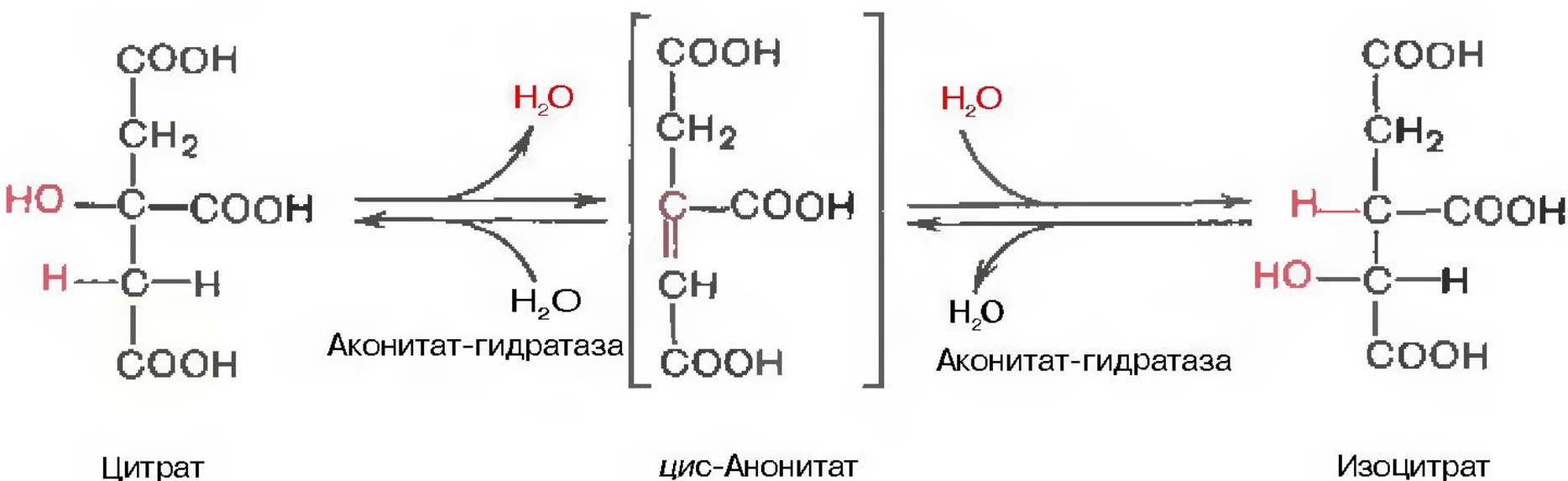
Цикл Кребса протекает в матриксе митохондрий и включает **8 реакций**. Он представляет собой последовательные реакции связывания ацетила и щавелевоуксусной кислоты (оксалоацетата) с образованием лимонной кислоты, ее изомеризации и последующие реакции окисления с сопутствующим выделением CO_2 . После восьми реакций цикла вновь образуется оксалоацетат.

Основная роль ЦТК заключается в генерации атомов водорода для работы дыхательной цепи (см ниже), а именно трех молекул НАДН и одной молекулы ФАДН₂.

Кроме этого, в ЦТК образуется одна молекула АТФ; предшественник гема сукцинил-S-КоА; кетокислоты, являющиеся аналогами аминокислот — α -кетоглутарат для глутаминовой кислоты, оксалоацетат для аспарагиновой.

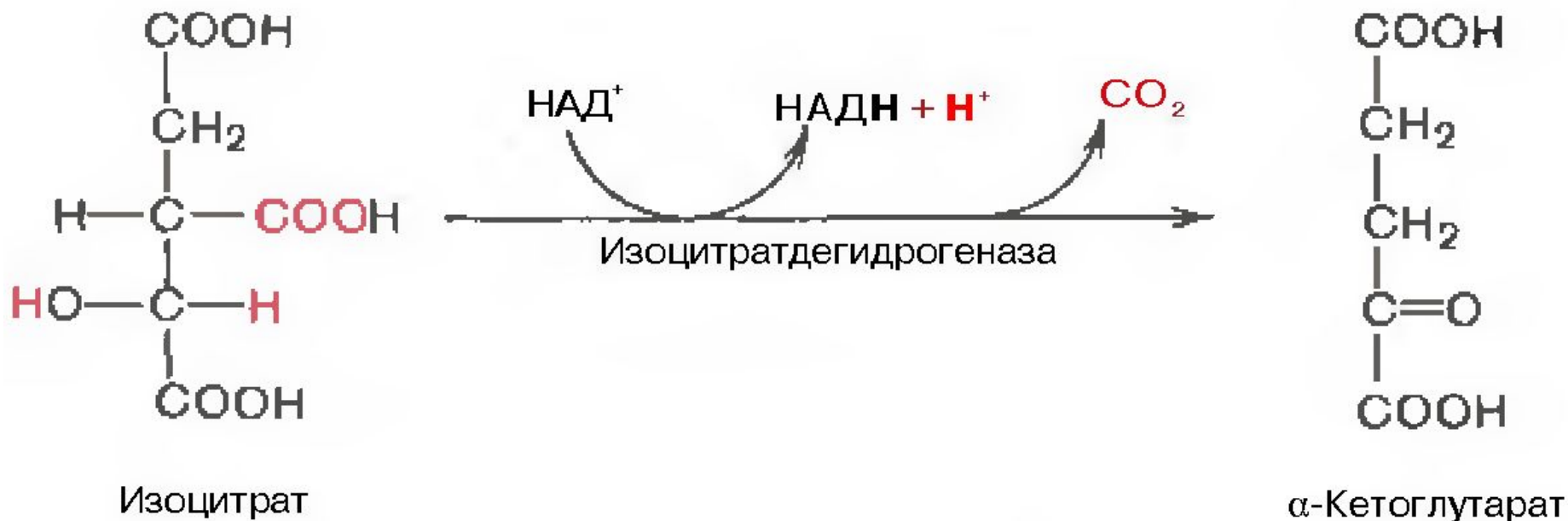


Первая реакция катализируется ферментом цитрат-синтазой, при этом ацетильная группа ацетил-KoA конденсируется с оксалоацетатом, в результате чего образуется лимонная кислота:



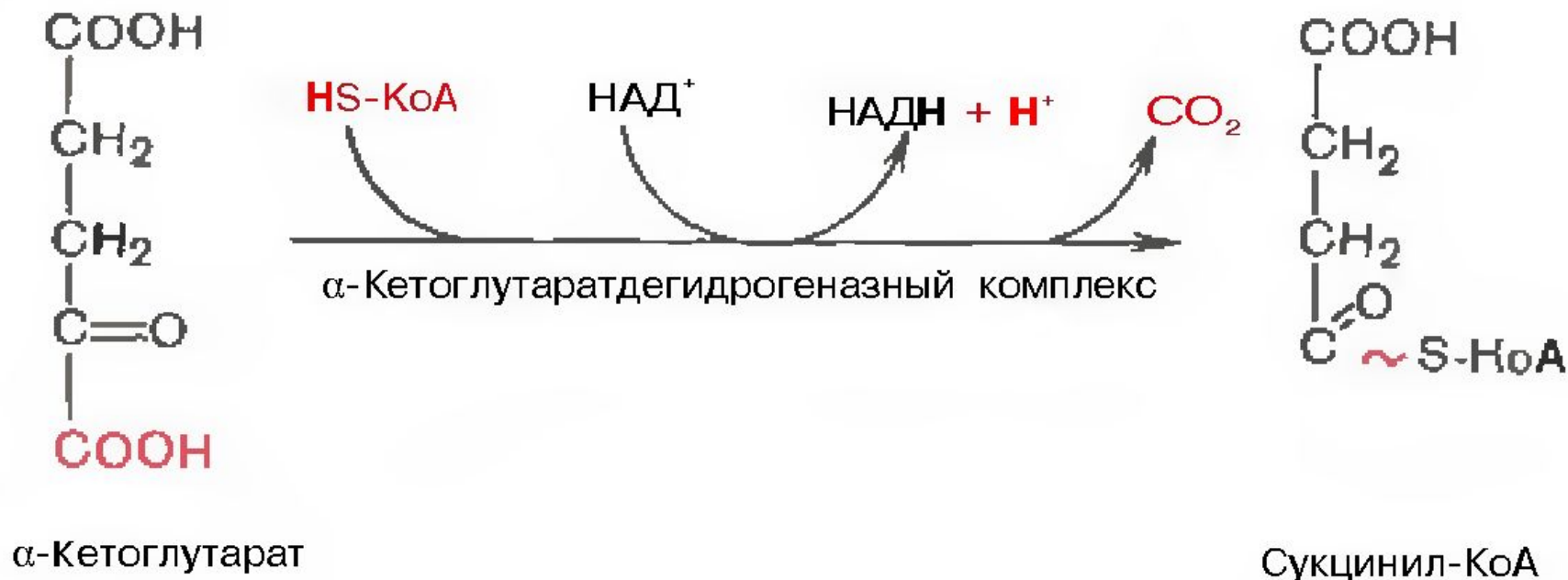
6

В результате второй реакции образовавшаяся лимонная кислота подвергается дегидратированию с образованием *цис*-аконитовой кислоты, которая, присоединяя молекулу воды, переходит в изолимонную кислоту (изоцитрат). Катализируют эти обратимые реакции гидратации–дегидратации фермент аконитатгидратаза (аконитаза). В результате происходит взаимоперемещение Н и ОН в молекуле цитрата:



Третья реакция, по-видимому, лимитирует скорость цикла Кребса. Изолимонная кислота дегидрируется в присутствии НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы *.

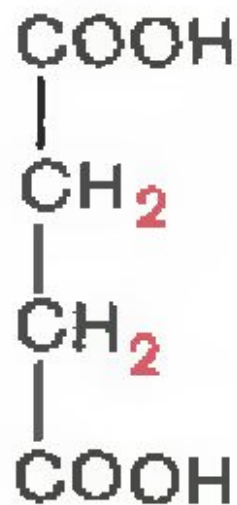
В ходе изоцитратдегидрогеназной реакции изолимонная кислота одновременно декарбоксилируется. НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа является аллостерическим ферментом, которому в качестве специфического активатора необходим АДФ. Кроме того, фермент для проявления своей активности нуждается в ионах Mg^{2+} или Mn^{2+} .



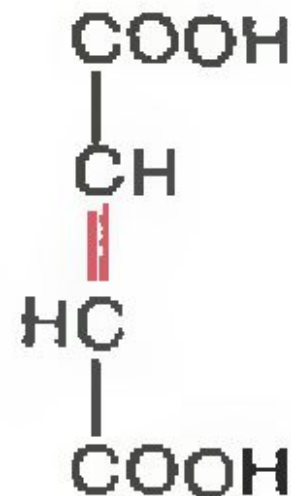
Во время четвертой реакции происходит окислительное декарбоксилирование α-кетоглутаровой кислоты с образованием высокоэнергетического соединения сукцинил-КоА. Механизм этой реакции сходен с таковым реакции окислительного декарбоксилирования пирувата до ацетил-КоА, α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс напоминает по своей структуре пируватдегидрогеназный комплекс. Как в одном, так и в другом случае в реакции принимают участие 5 коферментов: ТПФ, амид липоевой кислоты, HS-КоА, ФАД и НАД⁺.



Пятая реакция катализируется ферментом сукцинил-КоА-синтетазой. В ходе этой реакции сукцинил-КоА при участии ГТФ и неорганического фосфата превращается в янтарную кислоту (сукцинат). Одновременно происходит образование высокоэнергетической фосфатной связи ГТФ ** за счет высокоэнергетической тиоэфирной связи сукцинил-КоА:

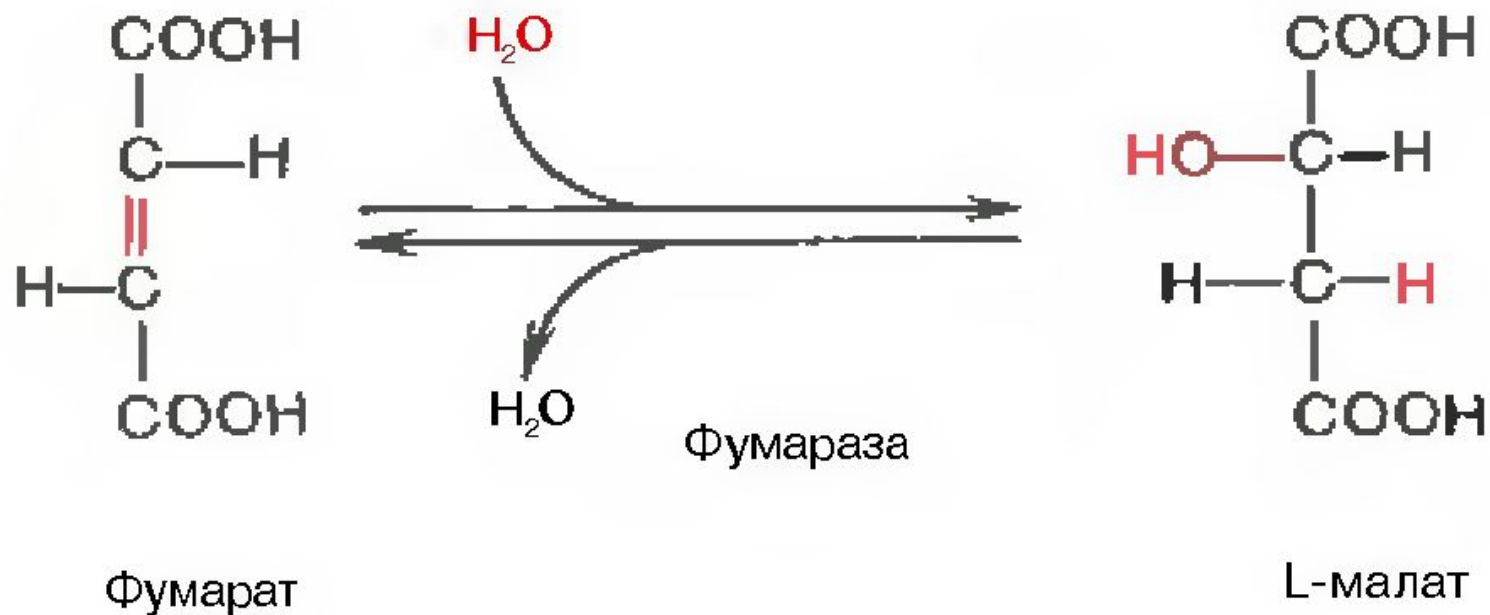


Сукцинат



Фумарат

В результате шестой реакции сукцинат дегидрируется в фумаровую кислоту. Окисление сукцината катализируется сукцинатдегидрогеназой, в молекуле которой с белком прочно (ковалентно) связан кофермент ФАД. В свою очередь сукцинатдегидрогеназа прочно связана с внутренней митохондриальной мембраной:



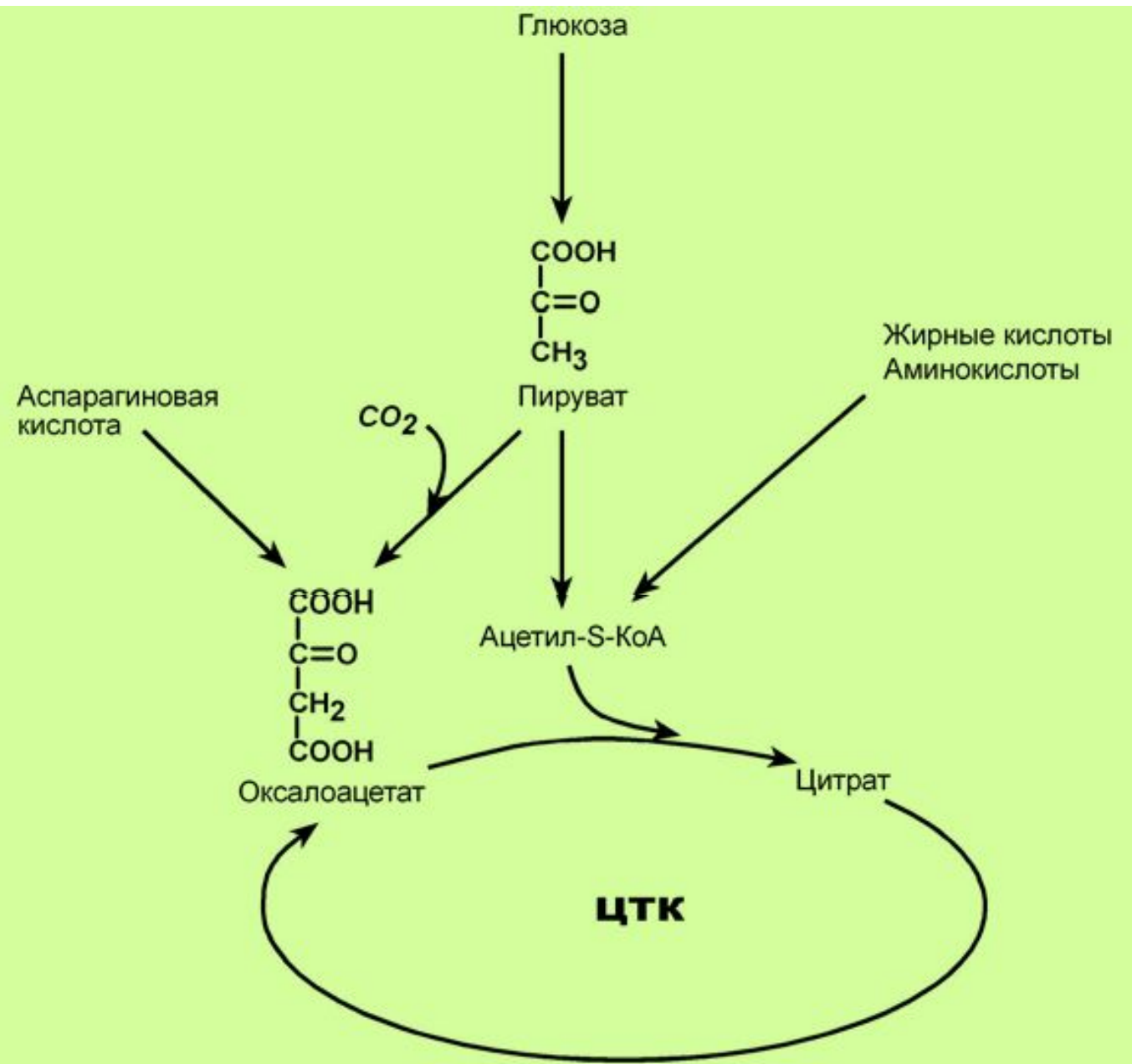
Седьмая реакция осуществляется под влиянием фермента фумаратгидратазы (фумаразы). Образовавшаяся при этом фумаровая кислота гидратируется, продуктом реакции является яблочная кислота (малат). Следует отметить, что фумаратгидратаза обладает стереоспецифичностью (см. главу 4) — в ходе реакции образуется L-яблочная кислота:



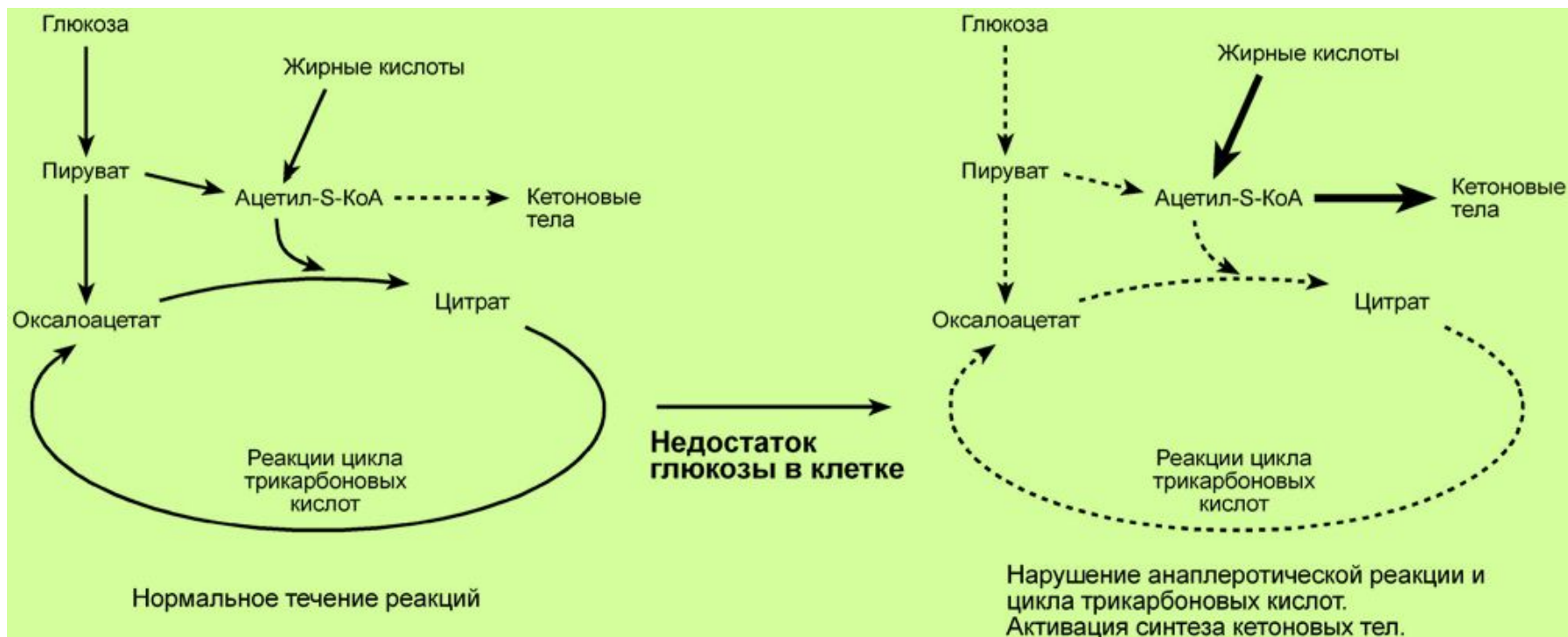
Наконец, в ходе восьмой реакции цикла трикарбоновых кислот под влиянием митохондриальной НАД-зависимой малатдегидрогеназы происходит окисление L-малата в оксалоацетат:

РЕГУЛЯЦИЯ ЦТК

Главным и основным регулятором ЦТК является **оксалоацетат, а точнее его доступность. Наличие оксалоацетата вовлекает в ЦТК ацетил-S-КоА и запускает процесс.** Обычно в клетке имеется баланс между образованием ацетил-S-КоА (из глюкозы, жирных кислот или аминокислот) и количеством оксалоацетата. Источником оксалоацетата является синтез из пирувата **(анаплеротическая или пополняющая реакция), поступление из фруктовых кислот самого ЦТК (яблочной, лимонной), образование из аспарагиновой кислоты.**



Источники оксалоацетата и ацетил-S-KoA для хода реакций ЦТК



Изменение хода реакций ЦТК и причины накопления кетоновых тел при сахарном диабете и голодании

Знание такого способа регуляции позволяет понять причину **синтеза кетоновых тел и кетоацидоза при сахарном диабете I типа, при голодании и длительной мышечной работе, при алкогольном отравлении.**

Недостаток в клетке глюкозы при указанных нарушениях приводит к сниженному образованию пировиноградной кислоты, что влечет за собой снижение количества оксалоацетата. Одновременная активация окисления жирных кислот и накопление ацетил-S-CoA запускает резервный путь утилизации ацетильной группы – синтез кетоновых тел. В организме при этом развивается закисление крови (кетоацидоз) с характерной клинической картиной: слабость, головная боль, сонливость, снижение мышечного тонуса, температуры тела и артериального давления.

Также некоторые ферменты ЦТК являются чувствительными к аллостерической регуляции метаболитами.

Ингибиторы

Активаторы

Цитратсинтаза

АТФ, цитрат, НАДН,
ацил-S-CoA

Изоцитрат-дегидрогеназа

АТФ, НАДН

АМФ, АДФ

α -Кетоглутарат-дегидрогеназа

Сукцинил-S-CoA, НАДН

цАМФ

О К И С Л И Т Е Л Ь Н О Е Ф О С Ф О Р И Л И Р О В А Н И Е

Окислительное фосфорилирование – основная часть биологического окисления или тканевого дыхания, т.е. процессов, идущих в организме с участием кислорода.

К Р А Т К А Я Х А Р А К Т Е Р И С Т И К А

Окислительное фосфорилирование – это многоэтапный процесс, происходящий во внутренней мембране митохондрий и заключающийся в окислении восстановленных эквивалентов (НАДН и ФАДН₂) и сопровождающийся синтезом АТФ.

Впервые механизм окислительного фосфорилирования был предложен П.Митчеллом.

Согласно этой гипотезе **перенос электронов, происходящий на внутренней митохондриальной мембране, вызывает выкачивание ионов H^+ из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. Это создает градиент концентрации ионов H^+ между цитозолем и замкнутым внутримитохондриальным пространством. Ионы водорода в норме способны возвращаться в матрикс митохондрий только одним способом – через специальный фермент, образующий АТФ – АТФ-синтазу.**

По современным представлениям внутренняя митохондриальная мембрана содержит ряд мультиферментных комплексов, включающих множество ферментов. Эти ферменты называют дыхательными ферментами, а последовательность их расположения в мембране – **дыхательной цепью.**

ПРИНЦИП РАБОТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

В целом работа дыхательной цепи заключается в следующем:

1. Образующиеся в реакциях катаболизма **НАДН** и **ФАДН₂** передают атомы водорода (т.е. протоны водорода и электроны) на ферменты дыхательной цепи.
2. Электроны движутся по дыхательной цепи и теряют энергию.
3. Эта энергия используется на выкачивание протонов H^+ из матрикса в межмембранное пространство.
4. В конце дыхательной цепи электроны попадают на кислород и восстанавливают его до воды.
5. Протоны H^+ стремятся обратно в матрикс и проходят через АТФ-синтазу.
6. При этом они теряют энергию, которая используется для синтеза АТФ.

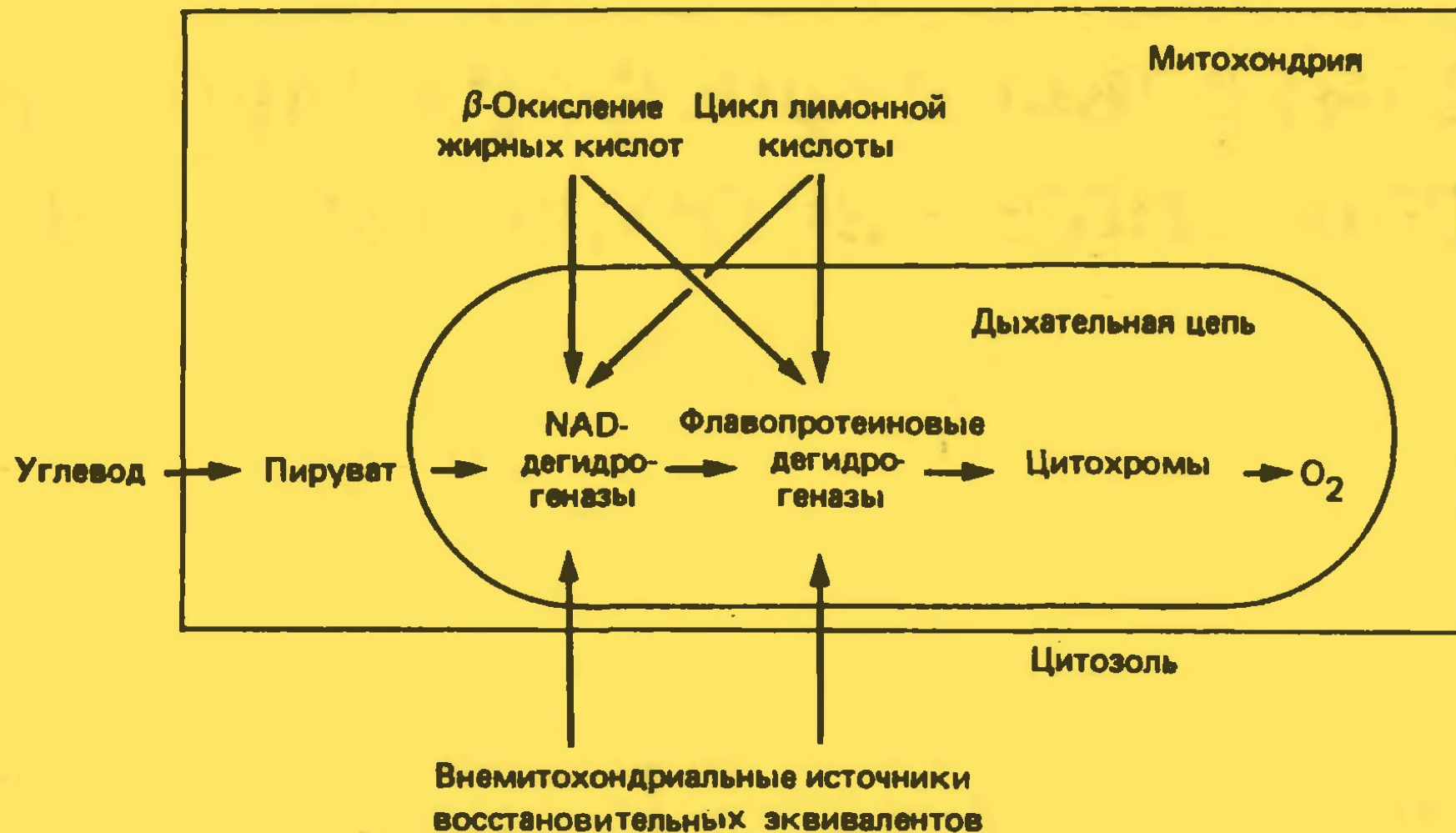
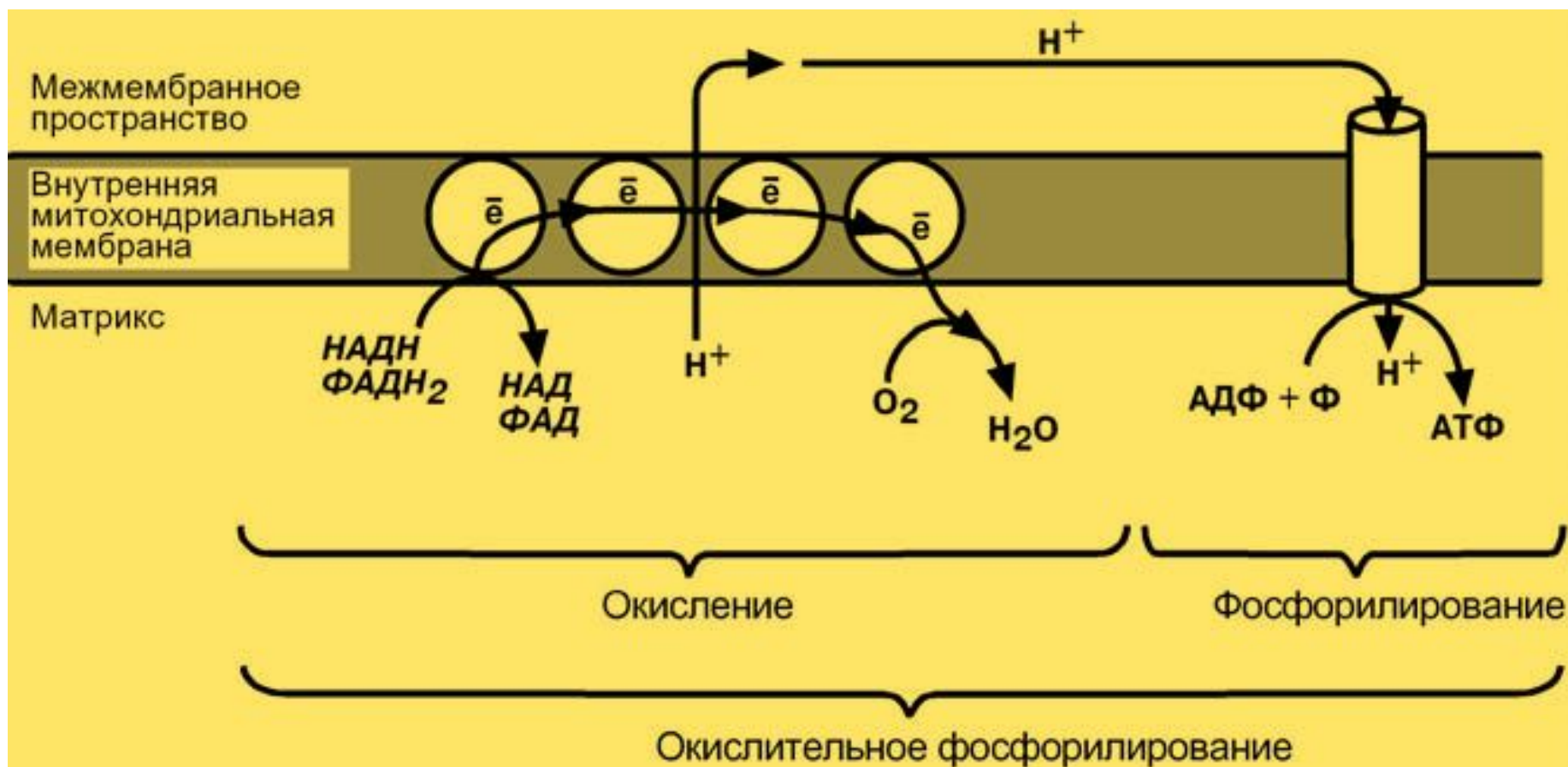


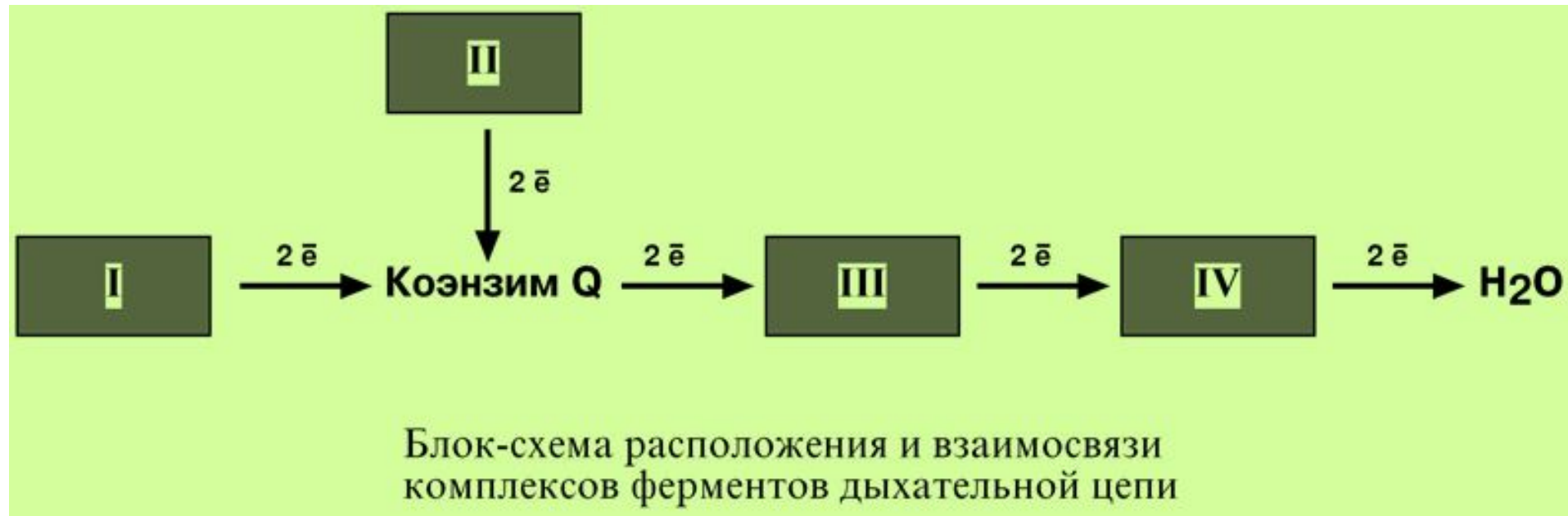
Рис. 13.1. Главные источники восстановительных эквивалентов и их связь с митохондриальной дыхательной цепью. Основным немитохондриальным источником является NADH, который образуется в ходе гликолиза.



Общая схема окислительного фосфорилирования

ФЕРМЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Всего цепь переноса электронов включает в себя около 40 разнообразных белков. Все они организованы в 4 больших мембраносвязанных мультферментных комплекса.

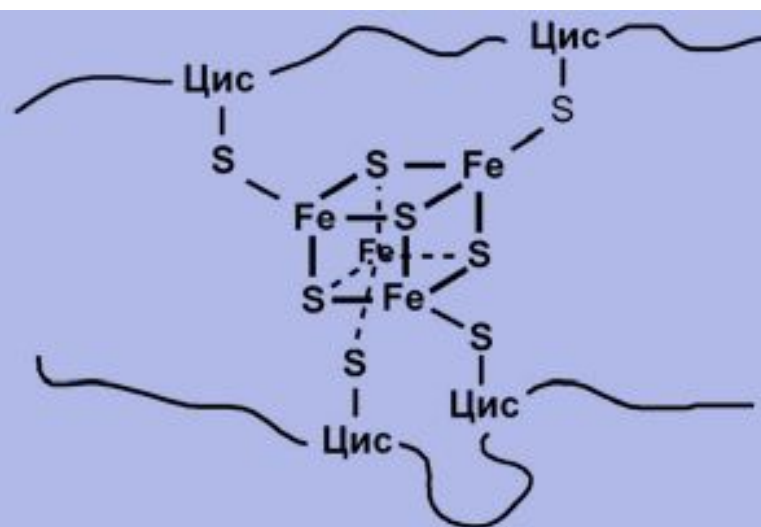
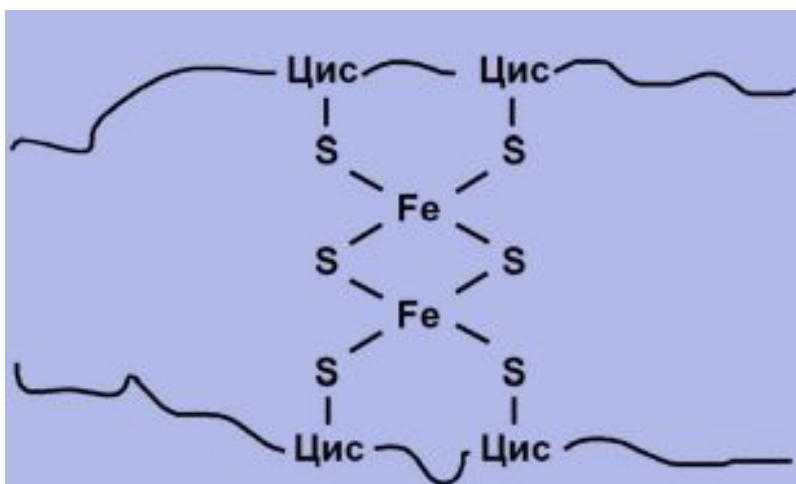


I КОМПЛЕКС, НАДН-КОО- ОКСИДОРЕДУКТАЗА

I комплекс носит общее название **НАДН-дегидрогеназа**, содержит **ФМН**, **22 белковых** молекулы, из них **5 железосерных** белков с общей молекулярной массой до **900 кДа**.

Функция

1. Принимает электроны от НАДН и передает их на коэнзим Q (убихинон).
2. Переносит 4 иона H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.



Строение железосерных центров

II КОМПЛЕКС

II комплекс — как таковой не существует, его выделение условно, включает в себя **ФАД-зависимые ферменты, расположенные на внутренней мембране** — например, ацил-S-КоА-дегидрогеназа (окисление жирных кислот), сукцинатдегидрогеназа (цикл трикарбоновых кислот), митохондриальная глицерол-3-фосфат-дегидрогеназа (челночный механизм переноса НАДН в митохондрию).

Функция

1. Восстановление ФАД в окислительно-восстановительных реакциях.
2. Обеспечение передачи электронов от ФАДН₂ на железосерные белки внутренней мембраны митохондрий. Далее эти электроны попадают на коэнзим Q.

III КОМПЛЕКС. КОQ-ЦИТОХРОМ C – ОКСИДОРЕДУКТАЗА

III комплекс – комплекс **цитохромов b-c1**, кроме цитохромов в нем имеются 2 железосерных белка. Всего насчитывается 11 полипептидных цепей общей молекулярной массой около 250 кDa.

Функция

1. Принимает электроны от коэнзима Q и передает их на цитохром c.
2. Переносит 2 иона H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.

IV КОМПЛЕКС, ЦИТОХРОМ C – КИСЛОРОД-ОКСИДОРЕДУКТАЗА

IV комплекс – цитохромы aa3 или цитохромоксидаза, всего содержит 6 полипептидных цепей. В комплексе также имеется 2 иона меди.

Функция

1. Принимает электроны от цитохрома c и передает их на кислород с образованием воды.
2. Переносит 4 иона H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.

V КОМПЛЕКС

V комплекс – это фермент **АТФ-синтаза**, состоящий из множества белковых цепей, подразделенных на две большие группы: Одна группа формирует **субъединицу F₀** (произносится со звуком "о", а не "ноль" т.к **олигомицин-чувствительная**) – ее функция каналобразующая, по ней выкачанные наружу протоны водорода устремляются в матрикс. Другая группа образует **субъединицу F₁** – ее функция каталитическая, именно она, используя энергию протонов, синтезирует АТФ.

Для синтеза 1 молекулы АТФ необходимо прохождение приблизительно 3-х протонов H⁺.

РАБОТА КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

На основании вышеизложенного построена схема **окислительного фосфорилирования:**

1. Ферменты дыхательной цепи расположены в **строго определенной последовательности: каждый последующий белок обладает большим сродством к электронам, чем предыдущий** (он более электроположителен, т.е. обладает более положительным окислительно-восстановительным потенциалом). Это обеспечивает **однонаправленное движение электронов.**

РАБОТА КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

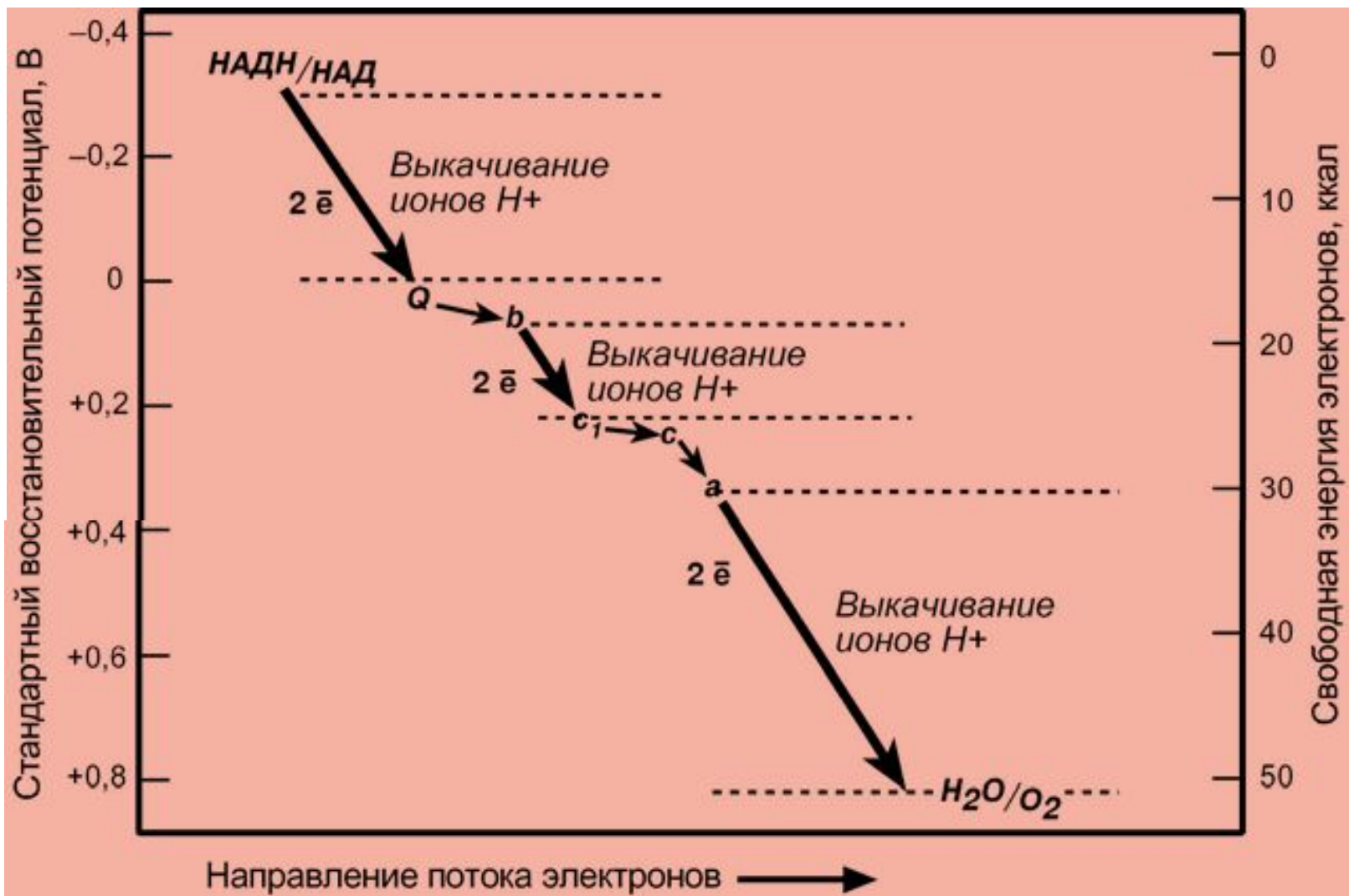
2. Все атомы водорода, отщепленные дегидрогеназами от субстратов в аэробных условиях, достигают внутренней мембраны митохондрий в составе **НАДН** или **ФАДН₂**.

3. Здесь атомы водорода (от НАДН и ФАДН₂) передают свои электроны в дыхательную ферментативную цепь, по которой электроны движутся (50-200 шт/сек) к своему конечному акцептору – **кислороду**. В результате образуется **вода**.

РАБОТА КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Можно провести аналогию со смесью водорода и кислорода, которая получила название "гремучая смесь". При малейшей искре эта смесь взрывается с образованием воды и выделением тепла. В организме такая реакция происходит постоянно, но при этом она идет порционно, "ступеньками", что позволяет использовать часть выделяемой энергии для выкачивания протонов водорода в межмембранное пространство.

4. Поступающие в дыхательную цепь **электроны богаты свободной энергией**. По мере их продвижения по цепи они теряют энергию. Эта энергия используется I, III, IV комплексами дыхательных ферментов для перемещения ионов водорода через мембрану в межмембранное пространство.

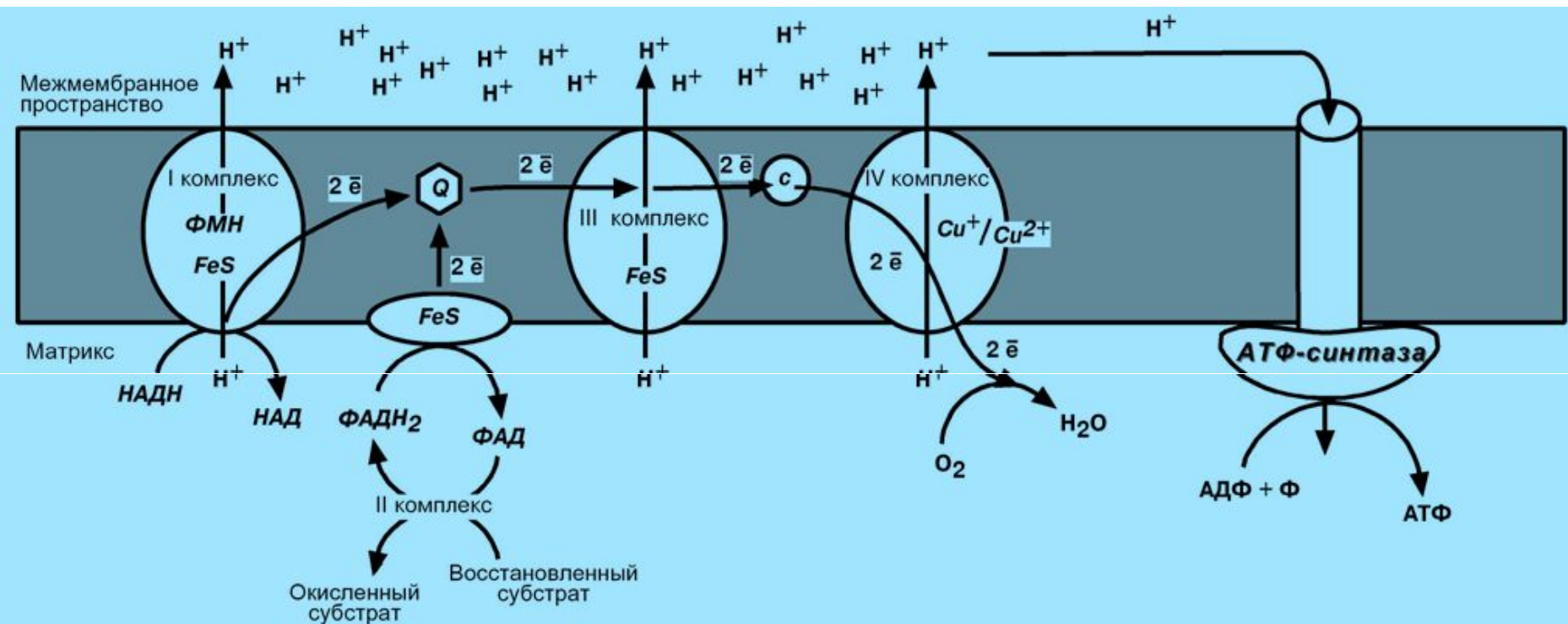


Энергетические соотношения в дыхательной цепи митохондрий и участки переноса ионов H⁺ через мембрану

Как известно из физики, энергией называется способность тела совершать работу. При перемещении электрического заряда энергия электронов убывает и частично превращается в теплоту.

$$\text{Изменение энергии электронов} = \text{Совершение работы (выкачивание ионов H}^+) + \text{Выделение тепла}$$

Другая часть энергии затрачивается на выкачивание водорода из матрикса в межмембранное пространство и создание градиента.



Строение и работа дыхательной цепи

РАБОТА КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

5. Перенос ионов водорода через мембрану (выкачивание) происходит не случайно, а в строго определенных участках мембраны. Эти участки называются **участки сопряжения** (или, не совсем точно, пункты фосфорилирования). Они представлены I, III, IV комплексами дыхательных ферментов. В результате работы этих комплексов формируется градиент ионов водорода между внутренней и наружной поверхностями внутренней митохондриальной мембраны. Такой **градиент обладает потенциальной энергией**. Градиент получил название **электрохимический или протонный градиент** ($\Delta\mu$, "дельта мю"). Он имеет две составляющие – электрическую ($\Delta\Psi$, "дельта пси") и концентрационную (ΔpH):

$$\Delta\mu = \Delta\Psi + \Delta pH$$

РАБОТА КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

6. Протоны теряют свою энергию, проходя через **АТФ-синтазу (H⁺-транспортирующая АТФ-аза, КФ 3.6.3.14.)**. Часть этой энергии тратится на **синтез АТФ**. Так же как в случае с электронами, энергия ионов водорода (протонного градиента) не расходуется зря. Двигаясь по электрохимическому градиенту, ионы водорода выделяют энергию, часть которой используется на синтез АТФ.

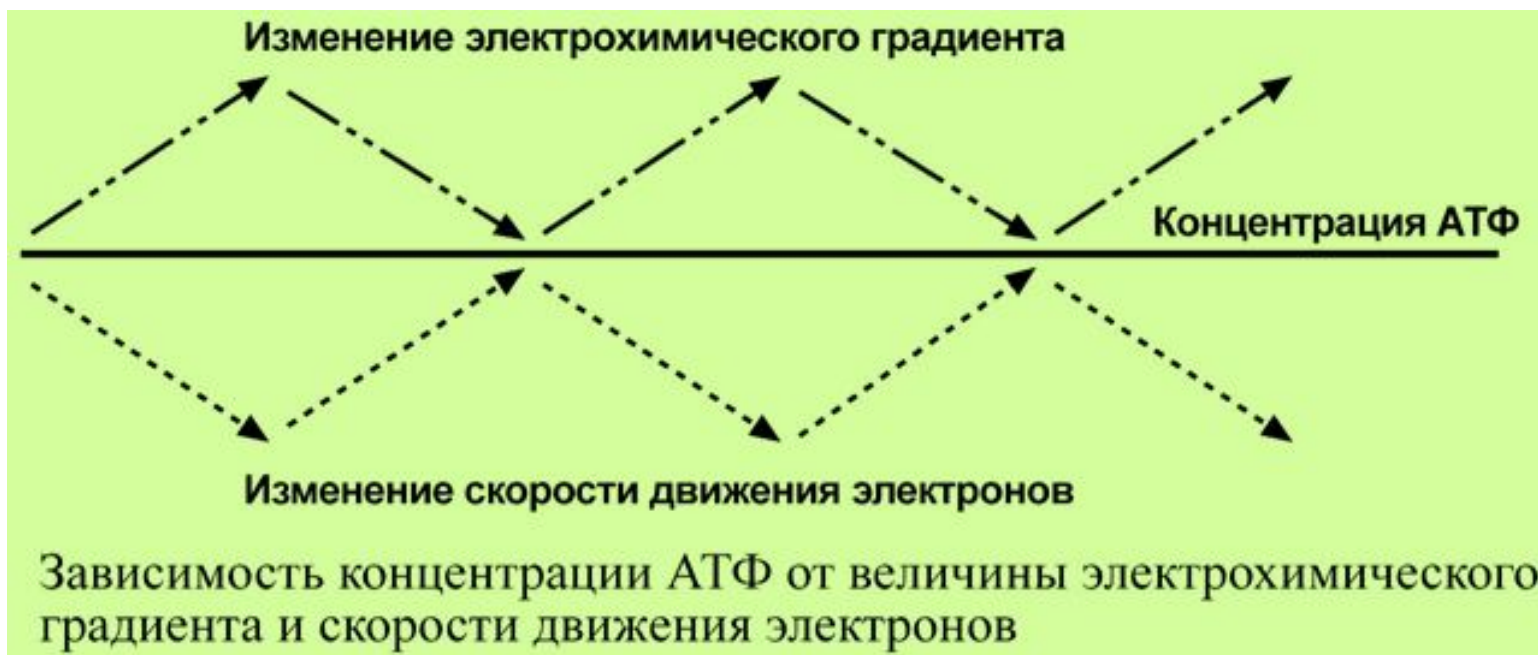
РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Работа дыхательных ферментов регулируется с помощью эффекта, который получил название дыхательный контроль.

Дыхательный контроль – это прямое влияние электрохимического градиента на скорость движения электронов по дыхательной цепи (величину дыхания).

В свою очередь, величина градиента напрямую зависит от соотношения АТФ и АДФ,
количественная сумма которых в клетке постоянна ($[АТФ] + [АДФ] = \text{const}$).

Возрастание протонного градиента возникает при исчерпании запасов АДФ и накоплении АТФ, т.е. когда АТФ-синтаза лишена своего субстрата и ионы H^+ не проникают в матрикс митохондрии. При этом ингибирующее влияние градиента усиливается и продвижение электронов по цепи замедляется. Ферментные комплексы остаются в восстановленном состоянии. Следствием является уменьшение окисления НАДН и ФАДН₂ на I и II комплексах и замедление катаболизма в клетке.



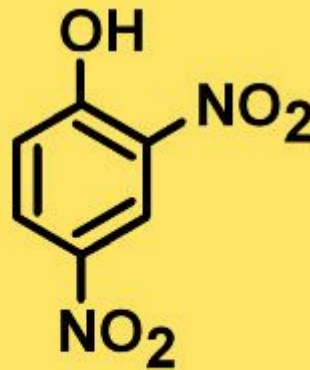
Снижение протонного градиента возникает при активной работе АТФ-синтазы (т.е. прохождении ионов H^+ в матрикс). В этом случае градиент снижается, поток электронов возрастает, в результате повышается выкачивание ионов H^+ в межмембранное пространство.

Ферментные комплексы I и II усиливают окисление НАДН и ФАДН₂ (как источников электронов) и снимается ингибирующее влияние НАДН на цикл лимонной кислоты и пируватдегидрогеназный комплекс — **активируются реакции катаболизма углеводов и жиров, как источника энергии.** Таким образом, количество АТФ остается на постоянном уровне.

Р А З О Б Щ И Т Е Л И

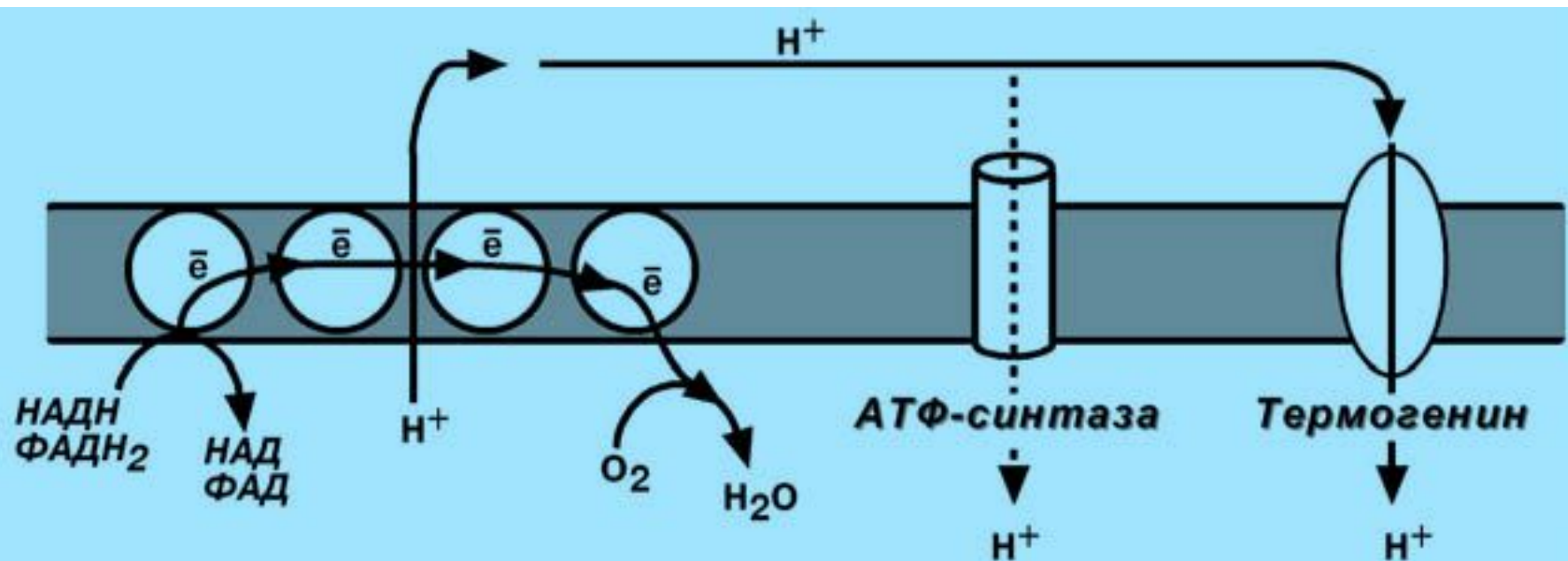
Разобшители – это вещества, которые снижают величину электрохимического градиента, что приводит к увеличению скорости движения электронов по ферментам дыхательной цепи. В результате этого уменьшается синтез АТФ и возрастает катаболизм. Так как электрохимический градиент состоит из двух компонентов (электрического и химического), то существуют два принципиальных способа его уменьшить – нивелировать разность зарядов или разность концентрации ионов водорода.

К разобщителям в первую очередь относят "**протонофоры**" – **вещества переносящие ионы водорода**. При этом уменьшаются оба компонента электрохимического градиента. Классическим протонофором является **динитрофенол**, жирорастворимое соединение, присоединяющие ионы водорода на внешней поверхности внутренней митохондриальной мембраны и отдающие их на внутренней поверхности. Протонофоры одновременно снижают электрическую и химическую составляющую протонного градиента, энергия которого рассеивается в виде тепла.



Динитрофенол

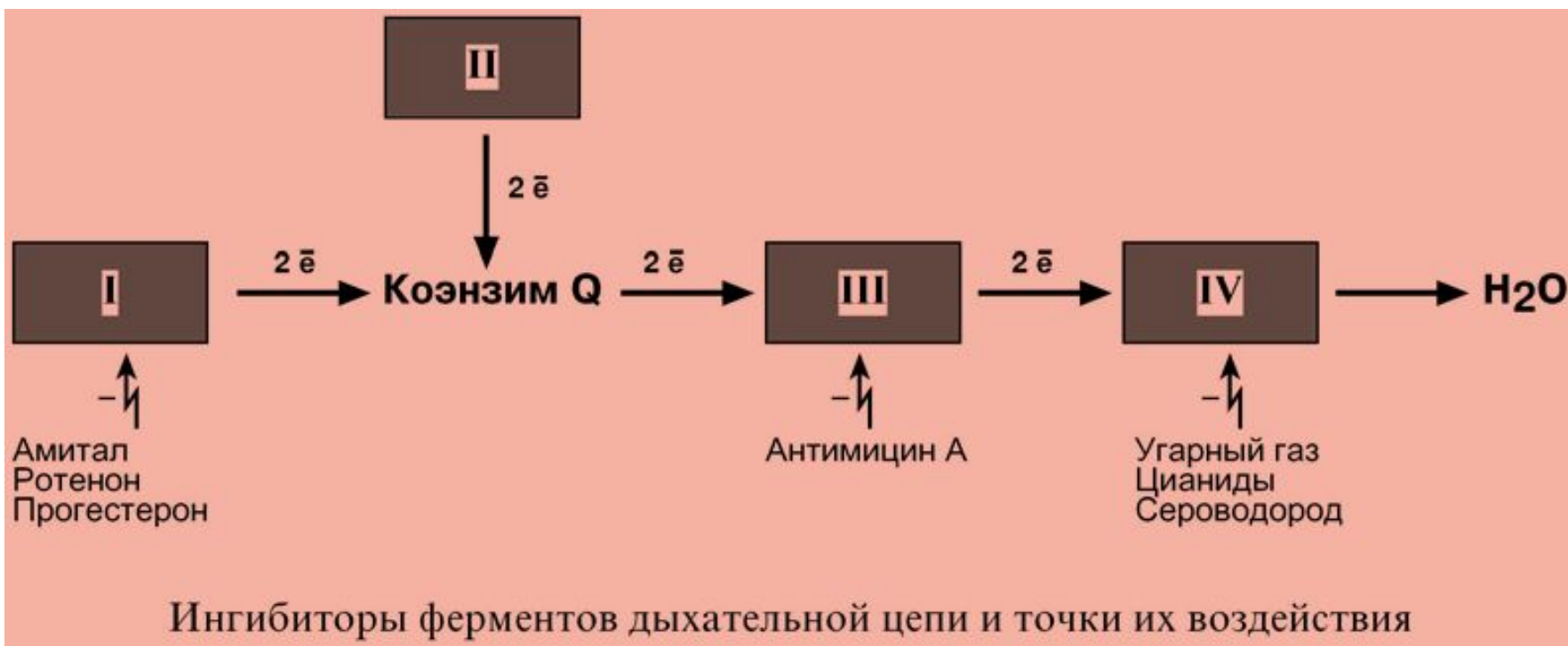
Физиологическим протонофором является белок "термогенин", в изобилии имеющийся в клетках бурой жировой ткани (до 15% от всех белков митохондрий). Существенным отличием бурой жировой ткани от белой является большое количество митохондрий, которые придают клеткам буро-красный цвет. При охлаждении организма эти клетки получают сигналы по симпатическим нервам, и в них активируется расщепление жира – липолиз. Окисление жиров приводит к получению НАДН и ФАДН₂, активизации работы дыхательной цепи и возрастанию электрохимического градиента. Однако АТФ-синтазы в мембранах митохондрий этих клеток мало, зато много термогенина. Благодаря ему, большая часть энергии ионов водорода рассеивается в виде тепла, обеспечивая поддержание температуры тела при охлаждении. Кроме динитрофенола и термогенина протонофорами, к примеру, являются салицилаты, жирные кислоты и трийодтиронин



Роль термогенина в митохондрии

ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Ряд веществ может ингибировать ферменты дыхательной цепи и блокировать движение электронов от НАДН и ФАДН₂ на кислород.



Выделяют три основных группы ингибиторов:

- действующие на I комплекс, например, амитал, ротенон, прогестерон,
- действующие на III комплекс, например, антимицин А,
- действующие на IV комплекс, например, сероводород (H_2S), угарный газ (CO), цианиды ($-\text{CN}$).

К О Э Ф Ф И Ц И Е Н Т Р / О

Энергетическую ценность и выгодность окисления вещества можно подсчитать. Количество запасенной энергии при окислении того или иного соединения характеризует **количество АТФ, а эффективность использования энергии вещества и ее захвата – коэффициент Р/О.** Коэффициент Р/О – это отношение количества неорганического фосфата, включенного в молекулу АТФ АТФ-синтазой к количеству атомов кислорода, включенного в молекулу H_2O , при переносе одной пары электронов по дыхательной цепи.

К О Э Ф Ф И Ц И Е Н Т Р / О

Экспериментально установлено, что при окислении веществ с участием НАД-зависимых дегидрогеназ, соотношение количества включенного в АТФ фосфата относится к количеству использованных атомов кислорода как 3 к 1, т.е. коэффициент Р/О равен трем. Аналогично для ФАД-зависимых дегидрогеназ коэффициент Р/О равен двум.

Для расчета Р/О при окислении какой-либо молекулы необходимо знать:

- восстановленный эквивалент (молекула **НАДН** или **ФАДН₂**) передает в цепь переноса электронов по 2 электрона.
- для восстановления **кислорода в воду необходима 1 пара электронов.**

К О Э Ф Ф И Ц И Е Н Т Р / О

- при прохождении пары электронов через **всю дыхательную цепь (т.е. через I, III, IV комплексы)** выкачивается столько ионов H^+ , сколько необходимо для синтеза **3 молекул АТФ**, или по-другому, в **состав АТФ включается три атома неорганического фосфата**.
- при прохождении пары электронов через **III и IV комплексы дыхательных ферментов** ионов H^+ выкачивается столько, сколько необходимо для синтеза **2 молекул АТФ**, или, по-другому, в состав АТФ включается два атома неорганического фосфата. Таким образом, коэффициент Р/О для НАДН равен 3, коэффициент Р/О для ФАДН₂ равен 2.

ГИПОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

Причинами гипогенергетических состояний может быть следующее:

- гиповитаминозы экзогенные и/или эндогенные – снижается скорость и эффективность окислительных реакций. Возникает обычно при нехватке витаминов группы В – В1, В2, никотиновой кислоты, В6, пантотеновой кислоты и аскорбиновой кислоты.

- дефицит белка в пище – снижается синтез всех ферментов и ферментов катаболизма в частности.

- снижение потребления углеводов и липидов как основных источников энергии.

- дефицит кислорода – отсутствие акцептора для электронов вызывает "переполнение» дыхательных ферментов, повышение электрохимического градиента, накопление НАДН и ФАДН2 в клетке и прекращение катаболизма.

- дефицит железа – компонента цитохромов, миоглобина и гемоглобина, и меди – компонента цитохромоксидазы.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТФ И ЕГО ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В МЕДИЦИНЕ

- 1. Внутримышечные инъекции раствора АТФ используют при мышечной дистрофии и атрофии, спазме периферических сосудов (болезнь Рейно, облитерирующий тромбоангиит), для стимулирования родовой деятельности.**
- 2. Фосфаден – лекарственное название АМФ. Особенностью препарата является его сосудорасширяющий эффект и способность улучшать периферическое кровообращение. Фосфаден применяют при свинцовом отравлении, острой перемежающейся порфирии, сосудистых нарушениях и ишемической болезни сердца, болезнях печени.**
- 3. Рибоксин или Инозин является непосредственным предшественником АТФ. Инозин способен проникать в клетки и повышать их энергетический баланс. Имеются данные о способности препарата повышать активность ферментов ЦТК, стимулировать синтез нуклеотидов и улучшать коронарное кровообращение.**

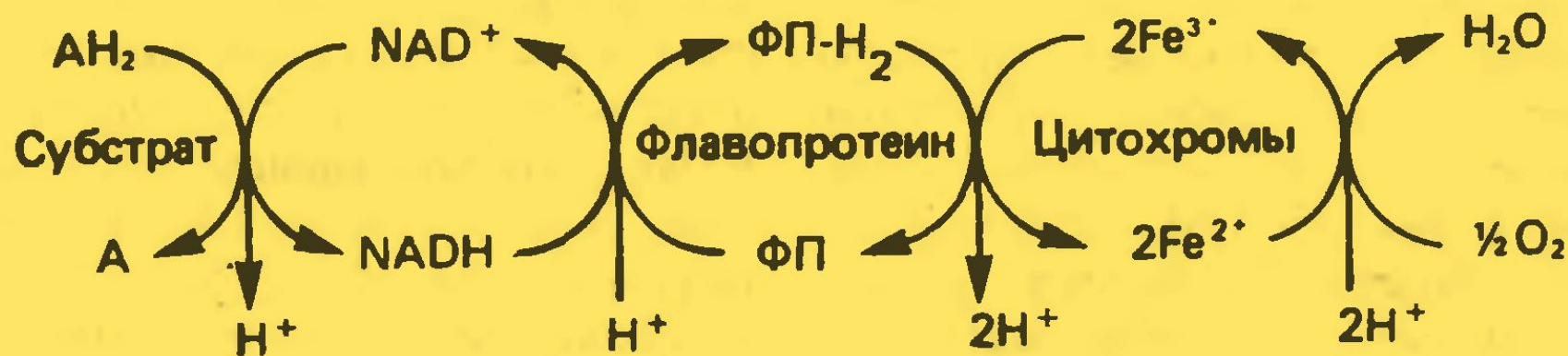


Рис. 13.2. Транспорт восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи.