

Глава 4

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН

Основные вопросы, рассматриваемые в настоящей главе

1. Понятие о метаболизме
2. Пути утилизации энергии в организме
3. Механизмы ресинтеза АТФ
4. Биологическое окисление
 - 4.1. Пути биологического окисления
 - 4.2. Основные типы реакций, протекающих с участием кислорода
 - 4.3. Основные положения теории окислительно-восстановительных реакций
 - 4.4. Дыхательная цепь и витамины, участвующие в процессе биологического окисления
 - 4.4.1. Витамин РР
 - 4.4.2. Пиридиновые дегидрогеназы
 - 4.4.3. Витамин В₂
 - 4.4.4. Флавиновые дегидрогеназы
 - 4.4.5. Коэнзим (убихинон)
 - 4.4.6. Цитохромная система
 - 4.4.7. Железосерные белки
 - 4.5. Структурная функциональная организация дыхательной цепи в митохондриях
5. Окислительное фосфорилирование
 - 5.1. Сопряжение фосфорилирования с транспортом электронов по дыхательной цепи
 - 5.2. Механизм окислительного фосфорилирования (теория Митчелла)
 - 5.3. Регуляция окислительного фосфорилирования
 - 5.4. Разобщение окисления и фосфорилирования
6. Пероксидазный тип окислительных реакций
 - 6.1. Цианрезистентное дыхание
 - 6.2. Каталаза и пероксидаза
7. Оксигеназный тип окислительных реакций
 - 7.1. НАДФН₂-зависимое гидроксילирование
 - 7.2. Аскорбат-зависимое гидроксילирование
8. Фазы освобождения энергии из питательных веществ
9. Общий путь катаболизма
 - 9.1. Окислительное декарбоксилирование пирувата
 - 9.2. Витамины, участвующие в этом процессе

- 9.2.1. Витамин В₁
 - 9.2.2. Пантотеновая кислота
 - 9.2.3. Липоевая кислота
 - 9.3. Цикл трикарбоновых кислот Кребса
 - 9.3.1. Значение ЦТК в метаболизме клетки
 - 9.3.2. Характеристика реакций цикла трикарбоновых кислот
 - 9.3.3. Анаболические реакции цикла трикарбоновых кислот
 - 9.3.4. Регуляция цикла трикарбоновых кислот
 - 9.3.5. Причины нарушения цикла трикарбоновых кислот
- Вопросы для проверки усвоения

4.1. Понятие о метаболизме

Одним из основных отличий живых организмов от неживой природы является обмен веществ (метаболизм).

Обмен веществ – совокупность химических реакций, направленных на сохранение и самовоспроизведение живых систем

Различают две стороны обмена веществ – анаболизм и катаболизм

Анаболизм – синтез сложных молекул из более простых, направленный на образование и обновление структурно-функциональных компонентов клеток и тканей. Анаболические процессы являются ЭНДЕРГОНИЧЕСКИМИ, т.е. протекают с затратой свободной энергии.

Катаболизм – расщепление сложных молекул до более простых компонентов или конечных продуктов – CO_2 и H_2O . При этом выделяется свободная энергия (ЭКЗЕРГОНИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ), которая используется как для обеспечения анаболических процессов, так и для осуществления физиологических функций.

Эти две стороны метаболизма неразрывно связаны друг с другом. Однако ведущее значение принадлежит экзергоническим реакциям, поскольку их нарушение может привести также и к ослаблению анаболических процессов, сопровождающихся затратой свободной энергии.

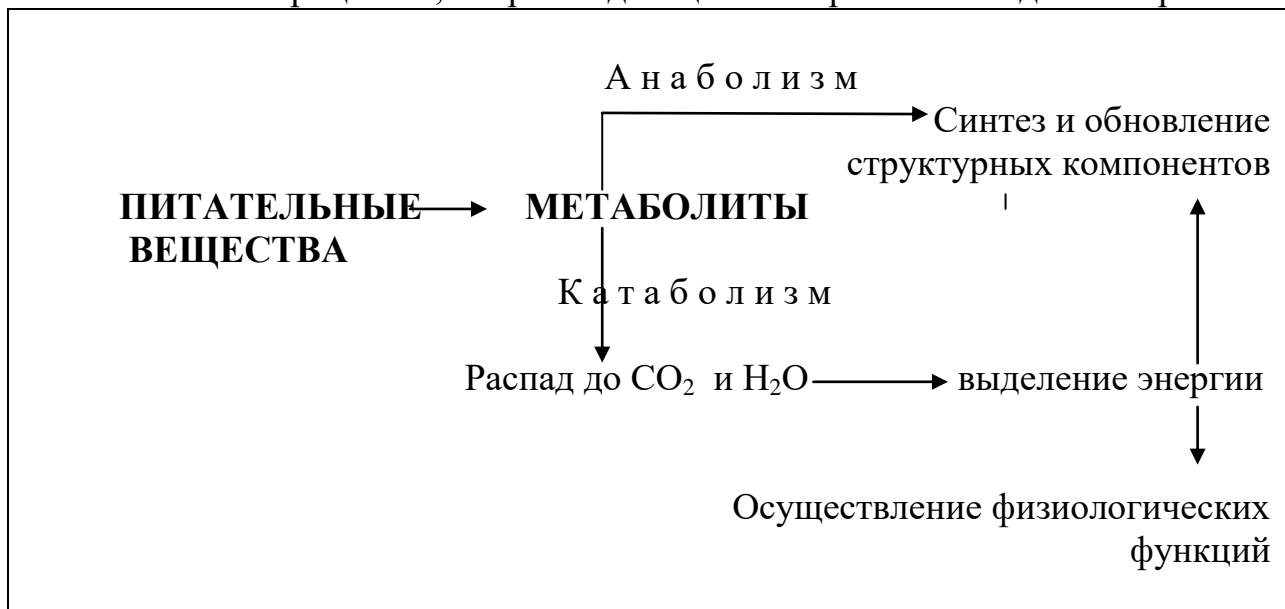
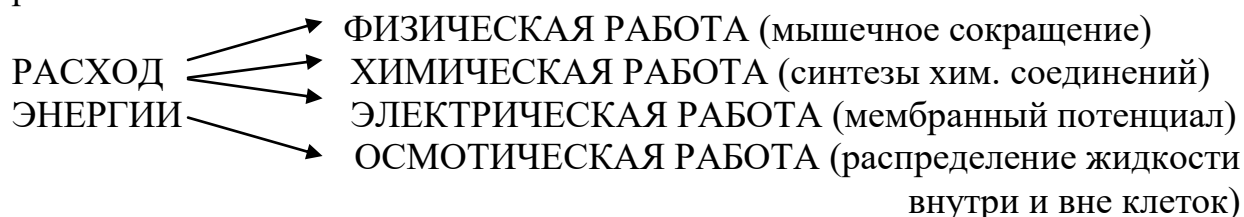


Рис. 15. Взаимосвязь анаболических и катаболических процессов.

4.2. Пути утилизации энергии в организме

Энергия, освобождающаяся при распаде веществ, постоянно расходуется в клетках и тканях для поддержания жизнедеятельности организма.



Даже в условиях полного покоя организм постоянно потребляет энергию, расходуя 1 кал/кг/час, т.е. 1500-2000 кал в сутки. При умственной и особенно при физической работе затраты энергии увеличиваются, составляя 3-5 тысяч кал/сутки.

Энергия, освобождаемая в процессах окисления питательных веществ, частично (50%) выделяется в виде тепла, а частично (50%) аккумулируется в макроэргических связях АТФ.

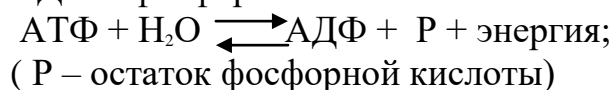
Для реакции фосфорилирования АДФ, т.е. образования одной молекулы АТФ необходимо не менее 7,3 ккал/моль (30,2 кДж/моль).

В молекуле АТФ содержатся две МАКРОЭРГИЧЕСКИЕ (обогащенные энергией) связи.

Молекула АТФ является универсальным донором свободной энергии, а не формой её депонирования

В клетке 1 молекула АТФ распадается в течение одной минуты после её образования. В состоянии полного покоя человек расходует за 24 часа 40 кг АТФ, а при физической нагрузке скорость утилизации АТФ возрастает до 0,5 кг в 1 минуту.

Основным путем освобождения энергии АТФ: является её гидролиз до АДФ и фосфорной кислоты



При гидролизе макроэргической связи АТФ выделяется от 40 до 60 кДж/моль (в среднем 50 кДж/моль).

4.3. Механизмы синтеза АТФ

Быстрый расход АТФ требует постоянного ресинтеза этого макроэрга в клетках, обеспечивающего возможность её интенсивной утилизации в организме.

Различают 2 механизма ресинтеза АТФ:

а) **окислительное фосфорилирование** – образование АТФ за счет освобождения и аккумуляции энергии, выделяемой в процессе окисления питательных веществ. Этот механизм протекает в митохондриях и является основным путем образования АТФ.

б) **субстратное фосфорилирование** – образование АТФ за счет энергии, заключенной в высокоэнергетических соединениях. (макроэргических субстратах). Этот механизм имеет второстепенное значение, не сопряжен с окислительным распадом веществ, протекает в основном в цитоплазме. К субстратам, богатым энергией, относятся фосфоглицериновая кислота, фосфоэнолпируват (ФЭП), сукцинил-СоА, креатинфосфат, и ряд других.

4.4. Биологическое окисление

Биологическое окисление в организме может протекать двумя путями:

а) путем дегидрирования – отщепления протонов и электронов от окисляемого субстрата. В зависимости от условий (аэробных или анаэробных) акцептором протонов и электронов может быть либо кислород, либо пируват, который восстанавливается в лактат. Аэробный путь окисления протекает в митохондриях и связан с процессами образования АТФ.

Распад органических соединений в живых тканях, сопровождающийся поглощением кислорода и выделением воды и углекислого газа называется тканевым дыханием

б) путем непосредственного присоединения кислорода к молекуле окисляемого субстрата. Этот путь протекает в микросомальной фракции, не связан с образованием АТФ и участвует в пластических и детоксикационных процессах, протекающих в организме.



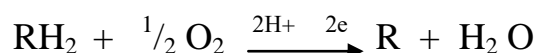
Рис.16. Пути биологического окисления.

4.4.2. Основные типы реакций, протекающих с участием кислорода

Кислород, акцептируя протоны и электроны от окисляемого субстрата, восстанавливается до различных конечных продуктов в зависимости от количества электронов, присоединяемых к его молекуле.

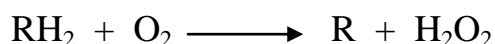
Различают 4 основных типа окислительных реакций:

1. Оксидазный, локализованный на внутренней мембране митохондрий. При этом молекула кислорода восстанавливается до молекулы воды за счет присоединения к нему 4 электронов и 4 протонов. Так как от окисляемого субстрата отщепляется лишь 2 электрона и 2 протона, то в реакции участвует $1/2$ молекулы кислорода.

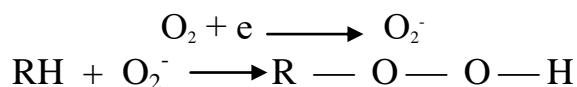


Этот тип реакций является основным путем биологического окисления, в котором используется 90 % поглощенного кислорода.

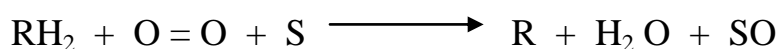
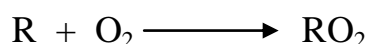
2. Пероксидазный, протекающий в основном в пероксисомах, продуктами которого являются окисленный субстрат и пероксид водорода. При этом молекула кислорода восстанавливается путем присоединения к нему двух протонов и двух электронов и поэтому конечным продуктом этого пути окисления является не вода, а перекись водорода.



3. Пероксидное окисление ненасыщенных жирных кислот (перекисное окисление липидов). При одноэлектронном восстановлении около 2% поглощенного кислорода превращаются в супероксидный анион, который отличается высокой активностью и инициирует перекисное окисление липидов.



4. Оксидазный, протекающий в микросомах (мембранах эндоплазматического ретикулума, рибосомах и др.) при участии моно- или диоксигеназ, катализирующих включение либо одного, либо обоих атомов кислорода непосредственно в молекулу окисляемого субстрата.



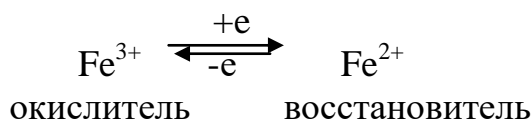
(RH_2 – донор водорода, S – окисляемый субстрат)

Этот путь окисления не приводит к образованию АТФ; он участвует в биосинтетических и детоксикационных процессах.

4.4.3. Основные положения теории окислительно-восстановительных реакций

1) Процесс окисления связан с транспортом водорода (электронов и протонов) от окисляемого субстрата на кислород. Соединения, отдающие электроны, называются восстановителями (донорами электронов), а соединения, присоединяющие электроны – окислителями (акцепторами электронов).

2) Окислители и восстановители всегда функционируют как единые сопряженные окислительно-восстановительные (редокс) системы.



3) Каждая окислительно-восстановительная система характеризуется стандартной величиной окислительно-восстановительного (редокс) потенциала, которая характеризует ее сродство к электрону.

4) Чем больше у системы отрицательная величина редокс-потенциала, тем она более легко отдает электроны и, наоборот, чем выше положительная величина, тем она легче присоединяет электроны.

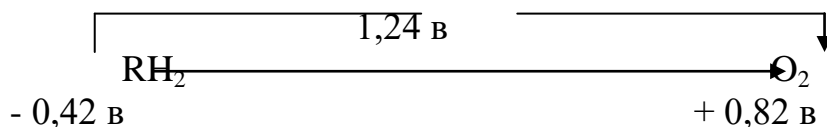
Субстраты окисления ($\text{H}_2/2\text{H}^+$) характеризуются большой величиной отрицательного потенциала, а кислород ($\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$) – положительного.

5) Перенос электронов с одного соединения на другое может осуществляться только в том случае, если эти вещества имеют близкие величины редокс-потенциалов.

6) Перенос электронов от одного вещества к другому сопровождается уменьшением величины свободной энергии.

4.4.4. Оксидазный тип окисления. Дыхательная цепь

Ввиду того, что редокс потенциал окисляемого субстрата ($\text{H}_2/2\text{H}^+$) составляет – 0,42 в., а O_2 ($\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$) – + 0,82 в. (разница – 1,24 в.), электроны от окисляемого вещества не могут быть непосредственно перенесены на кислород.



В связи с этим перенос электронов от окисляемого субстрата к кислороду осуществляется через ряд промежуточных переносчиков протонов и электронов, имеющих близкие величины редокс-потенциалов и получивших название дыхательной цепи.

Дыхательная цепь включает:

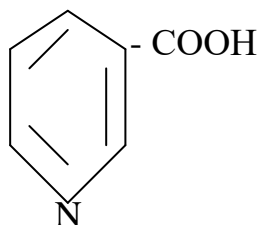
- 1) **пиридиновые дегидрогеназы, в состав коферментной группы которых входит НАД;**
- 2) **флавиновые дегидрогеназы, содержащие в качестве простетической группы ФАД или ФМН;**
- 3) **CoQ или убихинон;**
- 4) **цитохромную систему;**
- 5) **железо-серные белки (железо-серные комплексы)**

Так как в состав первых двух компонентов дыхательной цепи входят производные витаминов, целесообразно вначале дать характеристику структуры, свойств и биологической роли витаминов РР и В₂.

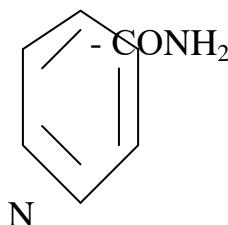
4.4.4.1. Витамин РР (никотинамид, ниацин, витамин В₅, антипеллагрический витамин)

Химическая структура.

В 1937г. было установлено, что известная с 1867г. никотиновая кислота оказывает выраженный эффект при лечении пеллагры, а позднее было выявлено, что более сильной биологической активностью обладает ее амид.



никотиновая кислота
(β-пиридинкарбоновая)



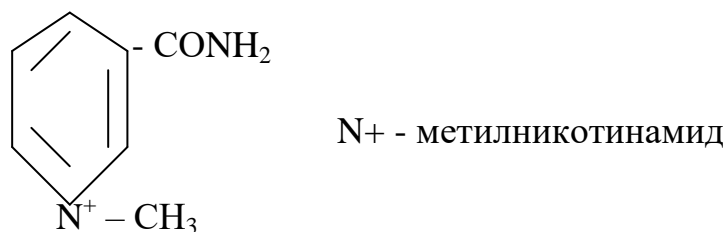
амид
никотиновой кислоты

Физико-химические свойства. Витамин РР – белое кристаллическое вещество, устойчивое к действию факторов внешней среды, хорошо выдерживающее длительное кипячение. Мало растворим в воде, но хорошо растворяется в щелочах.

Источники витамина и потребность. Источниками витамина РР являются отруби, дрожжи, злаки, печень. Хотя в молоке витамин Р отсутствует, он может синтезироваться (из 60 молекул триптофана образуется одна молекула никотинамида). Поэтому и другие продукты, богатые триптофаном (например, яйца), могут устранить дефицит витамина РР в организме, хотя сами не содержат этого витамина.

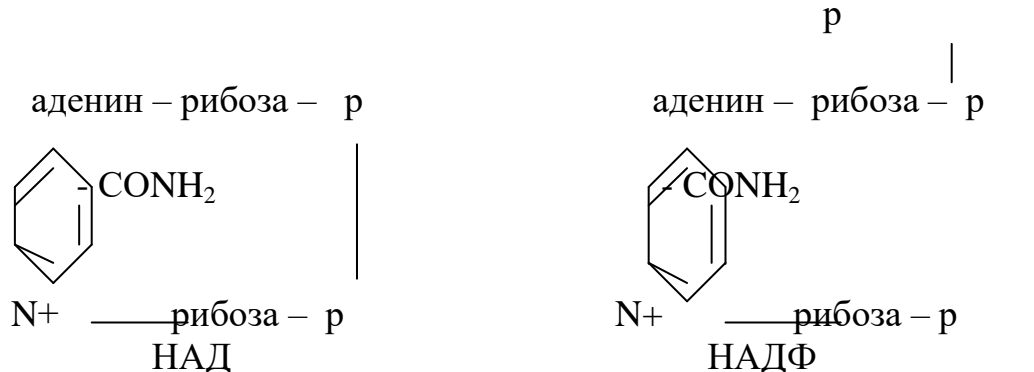
Суточная потребность в витамине РР составляет 15 – 25 мг.

Превращения в организме. Витамин РР всасывается в желудке и тонком кишечнике путем простой диффузии. С током крови он доставляется в ткани, где превращается в НАД или НАДФ; в их составе витамин РР содержится внутри клетки, так как НАД и НАДФ не проходят через биологические мембраны. При распаде этих коферментов никотинамид освобождается и выделяется с мочой в виде N⁺-метилникотинамида



Биологическая роль. Участие витамина РР в биохимических процессах реализуется через НАД и НАДФ.

НАД – никотинамидадениндинуклеотид – состоит из адениловой кислоты и никотинамидного нуклеотида.



В составе НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфата - содержится дополнительный остаток фосфорной кислоты, эстерифицирующий вторую гидроксильную группу рибозы адениловой кислоты.

Биологическая роль НАД и НАДФ заключается в следующем:

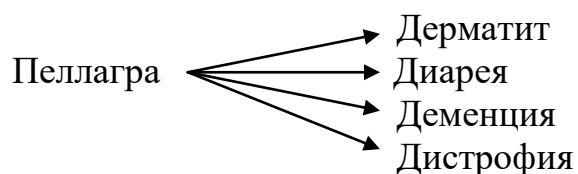
1. Они являются коферментами пиридиновых дегидрогеназ (НАД- и НАДФ-зависимых): НАД – зависимые дегидрогеназы участвуют в процессах окисления ряда субстратов путем переноса атомов водорода от окисляемого субстрата посредством дыхательной цепи митохондрий, на кислород и таким образом выполняют энергетическую функцию;

2. НАДФ – зависимые дегидрогеназы участвуют в микросомальном окислении; выполняют пластическую и дезинтоксикационную функцию.
3. НАД и НАДФ являются не только переносчиками водорода, но и **аллостерическими эффекторами ряда ферментов**, в частности, дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот)
4. НАД в качестве **субстрата ДНК-лигазной реакции** участвует в процессах репликации и репарации ДНК, обеспечивая нормальное деление клеток быстро пролиферирующих тканей (кожи, слизистых оболочек и др.)

Проявления недостаточности.

При недостатке витамина РР развивается **пеллагра** (pelle agra-шершавая кожа), в связи с чем и возникло название витамина (pp - preventive pellagra-предотвращающий пеллагру).

Пеллагра проявляется рядом симптомов, начинающихся на букву Д.



Дерматиты характеризуются симметричным расположением и локализуются на открытых участках тела;

Диарея. У больного появляются тошнота, боли в области живота, поносы. Слизистая оболочка толстого кишечника воспаляется, а затем изъязвляется. Присоединяются гингивиты, стоматиты, обезвоживание организма.

Деменция. Нарушения со стороны центральной нервной системы проявляются депрессией, а при прогрессировании заболевания – деменцией (слабоумием). Характерны головные боли, головокружение, повышенная раздражительность, галлюцинации и т. д.

Дистрофия. Нарушение питания, резкое понижение массы тела особенно часто наблюдаются в детском возрасте.

Гипервитаминоз РР. Характеризуется развитием жировой инфильтрации печени. Ее патогенез обусловлен усиленным выделением метильных групп из организма в составе N⁺-метилникотинамида. Это приводит к нарушению биосинтеза холина, входящего в состав фосфатидилхолинов, предотвращающих синтез жира в печеночных клетках

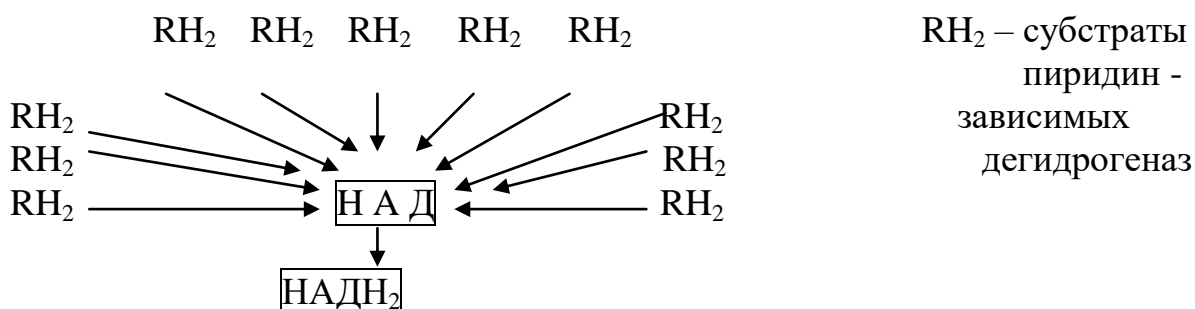
4.4.4.2 .Пиридиновые дегидрогеназы

Пиридиновые дегидрогеназы содержат в качестве кофермента НАД – никотинамидадениндинуклеотид. Являются первичными дегидрогеназами, акцептируют атомы водорода непосредственно от окисляемых субстратов (редокс потенциал НАД/НАДН₂ равен – 0,32в).



Восстановление пиридиновых дегидрогеназ происходит за счет никотинамидного кольца. При этом один атом водорода (H^+ и e^-) присоединяется непосредственно к ядру, электрон второго атома водорода нейтрализует положительный заряд азота, а протон остается в растворе.

Таким образом, НАД выполняет функцию своеобразного коллектора, собирающего атомы водорода от ряда субстратов (лактата, β -оксибутирата, глутамата, изоцитрата и ряда других).



Из состава НАДН_2 атомы водорода передаются на флавиновые дегидрогеназы, содержащие в качестве простетической группы витамин B_2

4.4.4.3. Витамин B_2 (рибофлавин)

В основе структуры витамина лежит гетероциклическое ядро изоаллоксазина, к которому в 9-ом положении присоединен остаток пятиатомного спирта рибитола – рибитил

Физико-химические свойства. Рибофлавин – кристаллическое вещество оранжево-желтого цвета, обладающий желто-зеленой флюоресценцией. Он устойчив в кислой среде, но легко разрушается в нейтральных и щелочных растворах, а также под действием ультрафиолетовых и инфракрасных лучей. Легко восстанавливается, превращаясь в бесцветную (лейко) форму.

Источники витамина и потребность. Источниками витамина являются дрожжи, хлеб, почки, сыр, молоко (лактофлавин), яйца (овофлавин), рыбные продукты. Однако в молоке и яйцах количество витамина незначительно (1 мг рибофлавина содержится в 5 л молока или в 330 яйцах).

Суточная потребность в витамине – 1-2 мг.

Биологическая роль витамина B_2

- входит в состав ФМН (флавиномононуклеотида) и ФАД (флавинаденидинуклеотида). ФМН и ФАД, соединяясь со специфическими белками, образуют флавиновые дегидрогеназы (ФМН- и ФАД-зависимые). Так как их связь с белками прочная, то ФМН и ФАД являются простетическими (а не коферментными) группами этих ферментов.

- способствует набуханию кератансульфата в роговице глаза, обуславливая ее прозрачность и препятствуя прорастанию кровеносных сосудов, а также проникновению инфекции;
- за счет способности отдавать и присоединять электроны участвует в восстановлении Fe^{3+} в Fe^{2+} , которое необходимо для синтеза гема и гемоглобина.

Проявление недостаточности (арибофлавиноза)

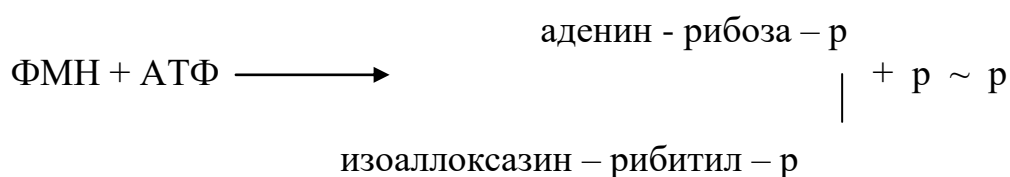
- **Нарушения со стороны глаз.** Характерна быстрая утомляемость глаз, васкуляризация роговицы, ее покраснение. Развиваются кератиты, наблюдается раннее появление катаракты (помутнение хрусталика);
- **Воспаление слизистой оболочки ротовой полости,** воспаление языка (географический язык, глоссит), появление трещин в углах губ (хейлоз). Повышено шелушение кожи, особенно лица из-за пониженного обновления эпителия;
- **Мышечная слабость, слабость сердечной мышцы.**
- **Гипохромная анемия,** связанная с участием витамина B_2 в биосинтезе гема и гемоглобина, так как рибофлавин входит в качестве простетической группы в состав гемсинтазы.

4.4.4.4. Флавиновые дегидрогеназы

Флавиновые дегидрогеназы в качестве простетической группы содержат в своем составе либо ФМН, либо ФАД.

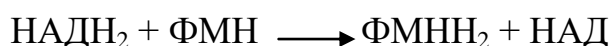
ФМН (флавиномононуклеотид) синтезируется в организме из рибофлавина (витамина B_2) и АТФ при участии флавинкиназы и представляет собой фосфорный эфир рибофлавина.

ФАД (флавинадениндинуклеотид) образуется в тканях из ФМН и АТФ.



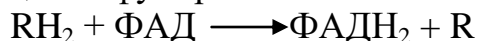
Величина редокс-потенциала флавиновых дегидрогеназ составляет $-0,05\text{В}$;

ФМН – зависимые дегидрогеназы принимают атомы водорода от НАДН_2 .



ФАД-зависимые дегидрогеназы, как и пиридиновые ферменты, выполняют функцию первичных дегидрогеназ и акцептируют атомы водорода от ряда окисляемых субстратов (сукцината, жирных кислот, глицерофосфата, холина и т.д.) с образованием ФАДН_2 . Эти субстраты

имеют относительно высокие окислительно-восстановительные потенциалы (например, потенциал сукцинат/фумарат составляет + 0,03В).

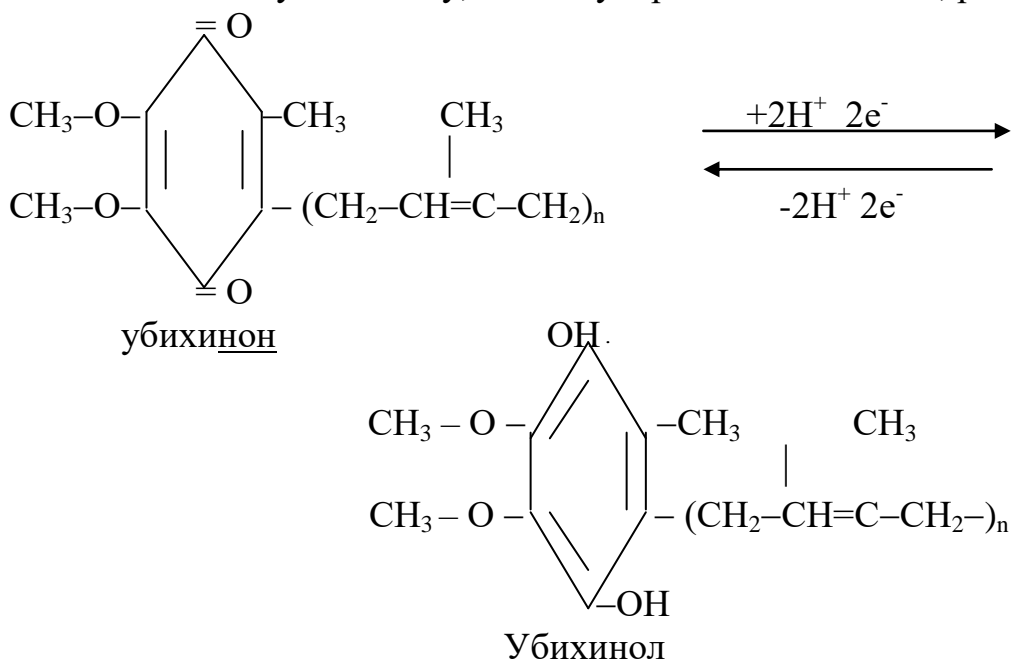


Восстановление ФАД – и ФМН - зависимых дегидрогеназ происходит за счет ядра изоаллоксазина.

Атомы водорода из их состава передаются на коэнзим Q (убихинон):

4.4.4.5. Коэнзим Q (убихинон)

Коэнзим Q назван убихиноном из-за его широкого распространения (ubiquitous - повсеместный). Он является производным бензохинона с длинной боковой цепью, состоящей из “n” изопреновых единиц (у человека n = 10). Коэнзим Q может существовать как в окисленной форме (убихинон), так и в восстановленной (убихинол), образуя окислительно-восстановительную систему, имеющую редокс-потенциал, равный +0,10 в.



Количество убихинона в клетке значительно превышает содержание других компонентов дыхательной цепи.

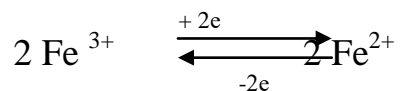
Убихинон отличается от остальных компонентов дыхательной цепи тем, что он:

- 1) не связан с белком,
- 2) растворим в липидах и поэтому может перемещаться в липидном слое как поперек, так и вдоль внутренней митохондриальной мембраны, акцептируя атомы водорода как от ФМНН₂, так и от ФАДН₂

Протоны, отщепляющиеся от убихинона, выбрасываются на цитоплазматическую сторону внутренней мембраны митохондрий, а электроны передаются на цитохромную систему.

4.4.4.6. Цитохромная система

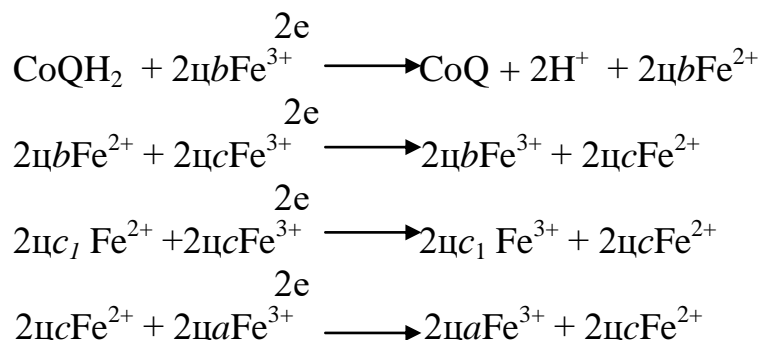
Цитохромная система состоит из ряда железосодержащих белков (гемопротеинов), открытых в 1888 году Мак-Мунном и детально изученных в 1925 г. Д.Кейлиным. Простетическая группа цитохромов близка к гему гемоглобина и содержит ядро протопорфирина, связанное с атомом железа. Однако в отличие от гемоглобина, в составе которого железо двухвалентно, в цитохромах оно изменяет свою валентность, присоединяя или отдавая электроны.



В транспорте электронов по дыхательной цепи принимают участие 5 цитохромов – цитохромы *b*, *c*₁, *c*, *a*, *a*₃, которые отличаются друг от друга характером простетического белка. За исключением цитохрома *c* они прочно связаны с внутренней мембраной митохондрии. Порядок расположения цитохромов в дыхательной цепи определяется величиной их редокс-потенциалов:

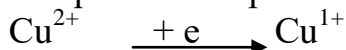
Цитохром *b* - +0,12
 Цитохром *c*₁ - + 0,21
 Цитохром *c* - + 0,25
 Цитохром *a* - + 0,29
 Цитохром *a*₃ - + 0,55

Каждая из молекул цитохромов способна переносить лишь по одному электрону; поэтому в дыхательной цепи принимают участие по 2 молекулы каждого из них.



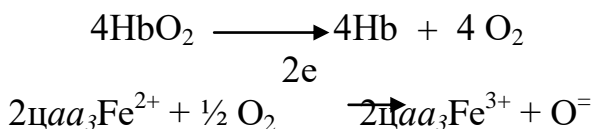
Цитохромы *a* и *a*₃ представляют собой единый белок – цитохромоксидазу. Она состоит из 6 субъединиц, две из которых составляет цитохром *a* и 4 – цитохром *a*₃. Цитохромоксидаза отличается от остальных цитохромов тем, что :

- 1) в состав ее простетической группы входит гем “а”, содержащий в своем составе формилпорфирин;
- 2) Помимо атомов железа, цитохромоксидаза содержит атомы меди, которая в процессе транспорта электронов также способна изменять свою валентность;



3) Имеет очень высокое сродство к кислороду, что позволяет дыхательной цепи функционировать до тех пор, пока последний не будет полностью исчерпан.

Электроны от цитохромоксидазы передаются непосредственно на кислород, доставляемый к клеткам в составе оксигемоглобина (HbO₂).



Активированный кислород вступает во взаимодействие с 2H⁺ с образованием воды – конечного продукта биологического окисления.



4.4.4.7. Железосерные белки

Железосерные белки имеют небольшую молекулярную массу (10000), находятся в липидном слое мембраны и отличаются друг от друга различными окислительными свойствами и величиной редокс-потенциалов. Они включаются в перенос электронов на двух участках дыхательной цепи – между флавиновыми дегидрогеназами и CoQ, а также между цитохромами *b* и *c*₁.

Таким образом, транспорт электронов и протонов по дыхательной цепи от окисляемого субстрата до кислорода можно представить в виде следующей схемы:

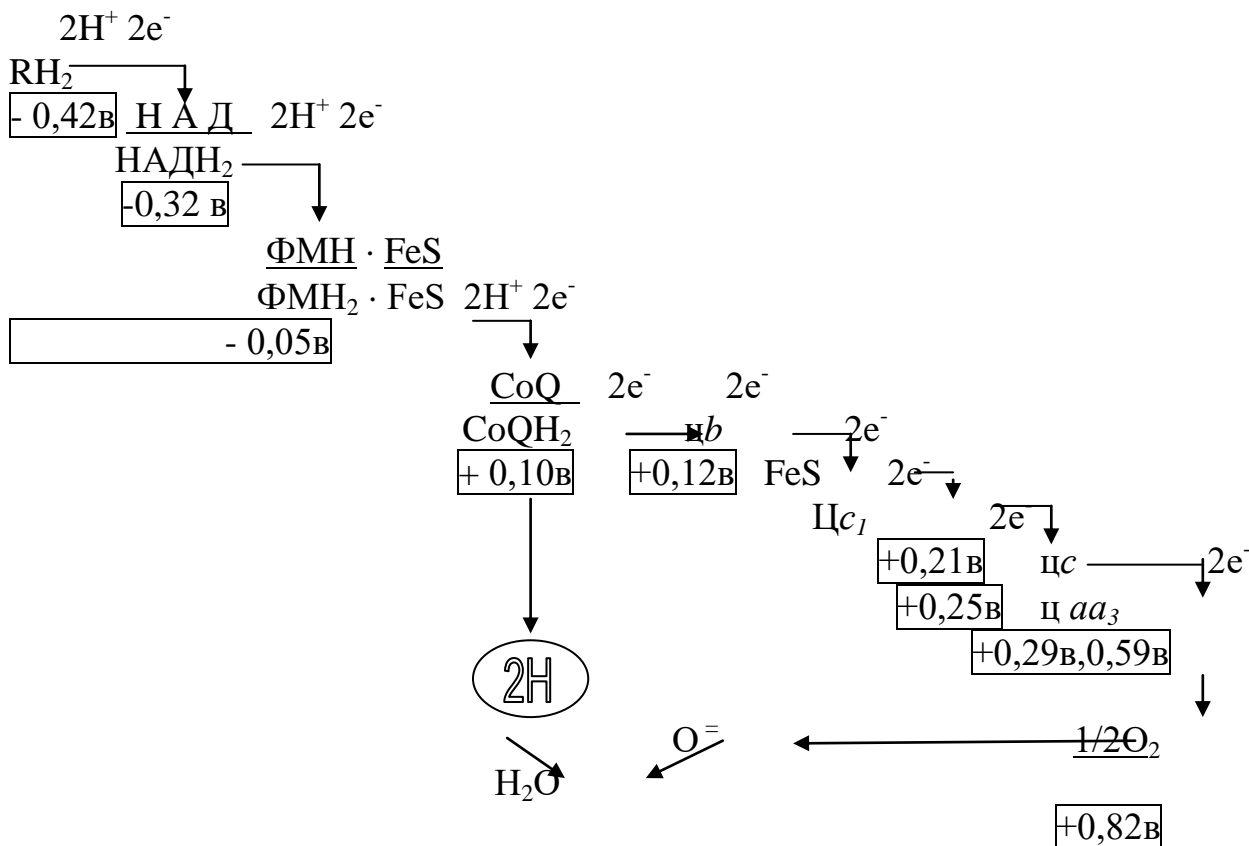


Рис.17. Схема транспорта электронов и протонов по дыхательной цепи.

4. 4. 5. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ В МИТОХОНДРИЯХ

Дыхательная цепь имеет определенную структурную организацию: ее компоненты встроены во внутреннюю мембрану митохондрий и за исключением цитохрома *c* прочно с ней связаны.

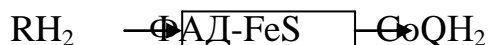
Все компоненты дыхательной цепи объединяются в несколько дыхательных ансамблей.

1. **НАД-Н – дегидрогеназа, (НАДН-Q – оксидоредуктаза)** с молекулярной массой 10^6 , состоит из 16 субъединиц и содержит в качестве простетической группы ФМН - акцептор протонов и электронов от НАДН₂. С ним же связан железосерный белок, участвующий в передаче электронов на убихинон. НАД-Н-дегидрогеназа пересекает поперек внутреннюю мембрану митохондрии, находясь в окружении липидов. Активный центр ее обращен в сторону матрикса



2. **Сукцинатдегидрогеназа (сукцинат:убихинон-оксидоредуктаза).**

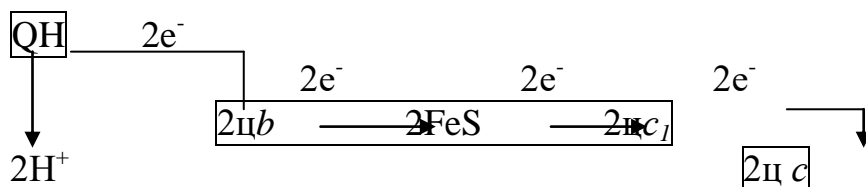
Этот ансамбль включает ФАД и железосерный белок. Подобно НАДН-дегидрогеназе является интегральным компонентом внутренней мембраны митохондрии. Передает атомы водорода от ряда субстратов (см. стр.127) на коэнзим Q.



Протоны водорода освобождаются из состава CoQH₂.

3. **Убихинолдегидрогеназа (QH₂ –цитохром-с -редуктаза).**

Этот комплекс передает электроны от убихинона, принявшего их как от первого, так и от второго ансамблей, на цитохром *c* и включает цитохромы *b*, *c*₁ и железосерный белок.



Роль цитохрома *c* аналогична роли коэнзима Q: он является единственным растворимым цитохромом и служит лабильным переносчиком электронов. Цитохром *c* фиксирован на наружной поверхности мембраны между III и IV дыхательными ансамблями. По сравнению с другими цитохромами он

наименее прочно связан с наружной поверхностью внутренней мембраны митохондрии и относительно легко извлекается водными растворами.

4. Цитохром- *c*-оксидаза.

Она является терминальным участком дыхательной цепи и включает цитохромы *a* и *a₃*, передающие электроны непосредственно на кислород. Этот ансамбль пересекает мембрану поперек от наружной стороны, где находится цитохром *a* до внутренней стороны, где расположен цитохром *a₃*, активный центр которого обращен в матрикс.

Итак, всю организацию дыхательной цепи можно представить в виде следующей схемы (рис.18):

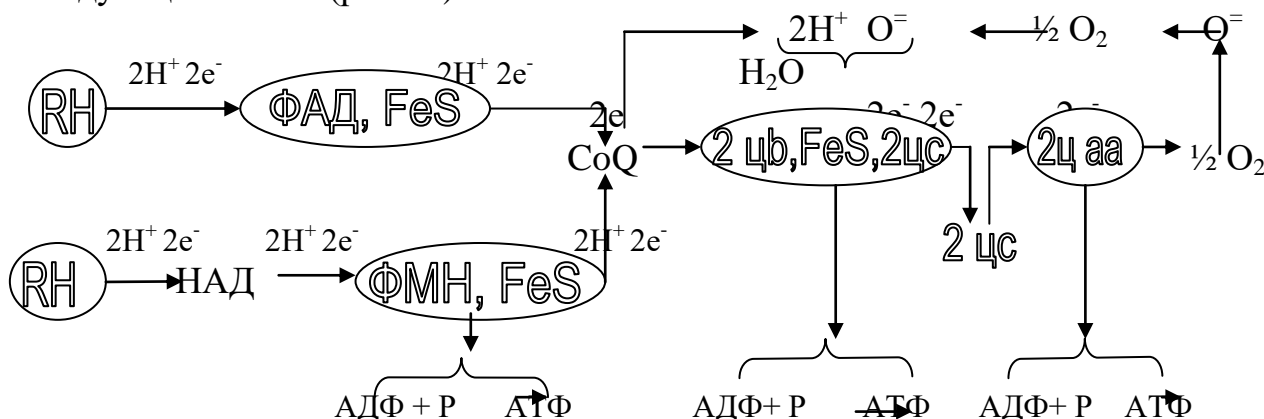


Рис.18. Структурное изображение организации компонентов дыхательной цепи митохондрий.

Количество дыхательных цепей в митохондриях разных тканей и органов неодинаково. В печени их число, приходящееся на 1 митохондрию, составляет около 5000, в сердечной мышце – около 20000, что объясняет более активное дыхание в митохондриях сердца, чем печени.

4.5.Окислительное фосфорилирование

4.5.1.Сопряжение фосфорилирования с транспортом электронов по дыхательной цепи

При прохождении электронов по дыхательной цепи происходит освобождение энергии. Однако благодаря большому количеству переносчиков выделение свободной энергии, которым сопровождается перенос одной пары электронов от НАДН₂ на кислород, происходит не одновременно, а разбивается на ряд относительно небольших порций. Поэтому

дыхательную цепь можно рассматривать как каскад, при помощи которого клетка получает свободную энергию, извлекаемую из питательных веществ, в «расфасованном виде».

Наибольшее количество энергии выделяется при переносе электронов между НАДН-дегидрогеназой (в области 1-го дыхательного ансамбля) и убихиноном (11,5 ккал), между цитохромами b и c_1 – в 3-ем дыхательном ансамбле - (15,5 ккал) и в области цитохромов aa_3 - 4-ом дыхательном ансамбле - (25 ккал). Этой энергии вполне достаточно для биосинтеза АТФ, т.к. для реакции фосфорилирования АДФ необходимо 7,3 ккал (30 кДж). Освобождение энергии при транспорте электронов на других участках дыхательной цепи слишком мало для синтеза АТФ и рассеивается в виде тепла.

Следовательно, при транспорте по дыхательной цепи, электронов отщепляемых от НАД-зависимых субстратов, имеется три пункта сопряжения окисления и фосфорилирования и происходит образование трех молекул АТФ. При окислении же ФАД-зависимых субстратов синтезируются лишь две молекулы АТФ, т.к. в этом случае электроны переносятся по дыхательной цепи, минуя первый пункт сопряжения.

Предположение о наличии сопряжения между дыханием и фосфорилированием впервые было высказано академиком В.А.Энгельгардтом в 1931 году.

Процесс образования АТФ, сопряженный с транспортом электронов по дыхательной цепи от НАДН₂ или ФАДН₂ к кислороду, называется окислительным фосфорилированием

Для оценки сопряжения окисления с фосфорилированием В.А. Белицер и Е.Т. Цыбакова в 1939 г. предложили рассчитывать коэффициент окислительного фосфорилирования – Р/О.

Р/О – отношение грамм-атомов эстерифицированного фосфата к количеству грамм-атомов поглощенного кислорода

Нетрудно подсчитать, что при окислении субстрата по полной дыхательной цепи (I, III и IV ансамбль) он равен 3 (точнее, около трех), а при участии II, III и IV ансамбля – около двух.

4.5.2. Механизм окислительного фосфорилирования

Общепризнанной теорией окислительного фосфорилирования является хемиосмотическая (протондвижущая) теория П.Митчелла, за которую ему в 1978 г. была присуждена Нобелевская премия.

Согласно этой теории движущей силой окислительного фосфорилирования является протонный потенциал (μH^+). Он возникает за счет того, что компоненты дыхательной цепи, присоединяя электроны, одновременно переносят протоны водорода как от окисляемого субстрата, так и из митохондриального матрикса на цитоплазматическую сторону внутренней мембраны. Такому перекачиванию протонов способствуют

сопутствующие переносу электронов перемежающиеся конформационные изменения внутри дыхательных ансамблей. Перенос двух электронов по дыхательной цепи приводит к выбросу на наружную сторону мембраны трех пар протонов (одной – от окисляемого субстрата, а двух – из матрикса).

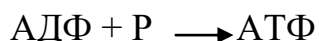
Таким образом в межмембранном пространстве на наружной поверхности внутренней мембраны митохондрии создается протонный (концентрационный) градиент. Так как протоны являются носителями положительных зарядов, появляется разность потенциалов по обе стороны внутренней мембраны: она приобретает избыточный положительный заряд, (рН на наружной поверхности внутренней мембраны на 1,4 единицы ниже, чем на внутренней), что приводит к возникновению протонного потенциала.

Следовательно, **цепь переноса электронов функционирует как протонный насос, перекачивая протоны на наружную сторону мембраны.** Следовательно, дыхание совершает осмотическую работу (концентрирует протоны во внешней среде) и электрическую (создает разность электрических потенциалов). Энергия разности окислительно-восстановительных потенциалов трансформируется в энергию протонного электрохимического потенциала.

Возникающий протонный градиент заставляет протоны двигаться в обратном направлении – из мембранного пространства внутрь в матрикс. Однако так как внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для протонов, их движение в обратном направлении возможно только через особые каналы митохондриального белка $F_0, F_1 - H^+ATP$ -азы (АТФ-синтазы).

Этот белок состоит из двух частей F_0 и F_1 , имеет форму гриба или дверной ручки, включает 9 субъединиц 5 типов. F_0 (олигомицин зависимый) – гидрофобный белок цилиндрической формы, состоящий из 4 полипептидных цепей, пронизывает всю внутреннюю мембрану митохондрий и образует канал для переноса протонов в матрикс; белок F_1 имеет округлую форму и под электронным микроскопом выглядит как грибовидный вырост, которыми усеяна вся внутренняя мембрана. Этот белок обладает H^+ - АТФ-азной (или АТФ-синтазной) активностью. При его разрушении (например, при сильном механическом встряхивании суспензии митохондрий) дыхание митохондрий сохраняется, а способность образовывать АТФ полностью исчезает.

Возникающий электрохимический потенциал заставляет протоны двигаться по каналу белка F . Проходя через канал они изменяют конформацию белка F в результате чего фермент приобретает АТФ-синтазную активность.



Таким образом, энергия протонного градиента переходит в энергию макроэргической связи АТФ. При прохождении через АТФ- синтазу одной пары протонов синтезируется одна молекула АТФ, трёх пар – соответственно три молекулы АТФ.

Синтез АТФ требует, с одной стороны, постоянного поступления в митохондрий АДФ, а с другой – удаления из них образующейся АТФ. Однако ни АТФ, ни АДФ не могут свободно диффундировать через внутреннюю мембрану митохондрий, а транспортируются с участием специального переносчика, причем АДФ поступает в митохондрию только при условии выхода АТФ и наоборот. Таким переносчиком является особый фермент **адениннуклеотидтранслоказа**, на долю которого приходится до 6 % общего белка митохондрий. Его активность, по-видимому, также индуцируется протонным градиентом. Второй необходимый компонент образования АТФ – неорганический фосфат - транспортируется из цитоплазмы внутрь митохондрий **фосфат-транслоказой**.

Синтез одной молекулы АТФ из АДФ и фосфата сопровождается проникновением двух протонов из внешней среды внутрь митохондрий. Разность концентраций ионов H^+ выравнивается, и происходит разрядка мембраны (исчезает электрический потенциал).

4.5.3. Регуляция окислительного фосфорилирования

Скорость окислительного фосфорилирования определяется потребностями организма в АТФ и, следовательно, скоростью ее распада до АДФ.

Интенсивность потока электронов по дыхательной цепи зависит от уровня АДФ

При добавлении АДФ к тканевым гомогенатам скорость поглощения O_2 значительно повышается, а затем, когда вся АДФ превратится в АТФ, возвращается к исходному уровню.

Зависимость скорости дыхания митохондрий от содержания АДФ называется дыхательным контролем

Физиологическое значение этого регуляторного механизма очевидно. При усиленном потреблении АТФ (например, при интенсивной физической работе) концентрация АДФ увеличивается, что приводит к повышению интенсивности дыхания и, следовательно, скорости ресинтеза АТФ. При уменьшении потребности в АТФ перенос электронов по дыхательной цепи, наоборот, замедляется.

4.5.4. Разобщение окисления и фосфорилирования

Условием, необходимым для окислительного фосфорилирования, является абсолютная непроницаемость внутренней мембраны митохондрий для протонов, поскольку возникновение протонного градиента возможно лишь при наличии замкнутого компартмента. В результате вещества, нарушающие целостность митохондриальной мембраны, препятствуют возникновению протонного градиента и разобщают процессы окисления и фосфорилирования. При этом возрастает доля свободного окисления, и вся

энергия, освобождающаяся в процессе транспорта электронов, выделяется в виде тепла. Поэтому все разобщители обладают пирогенным действием, т.е. повышают температуру тела.

К разобщителям окислительного фосфорилирования относятся **протонофоры**, переносящие H^+ - ионы через мембраны в обход протонных каналов. Протонофорами являются липофильные вещества, проходящие через липидный слой мембраны: жирные кислоты, 2,4-динитрофенол, салицилаты, тироксин, билирубин и др. Так, жирные кислоты, которые в форме аниона $R-COO^-$ связывают протоны на внешней стороне мембраны, транспортируют их в виде недиссоциированной формы ($R-COOH$) внутрь митохондрии, где диссоциируют, освобождая ионы H^+ и таким образом ликвидируют протонный градиент.

Большую группу разобщителей составляют **ионофоры** – вещества, повышающие проницаемость мембраны для одного из катионов (Na^+ или K^+) или для H^+ и катиона. Примером их является антибиотик валиномицин, который связывает ионы калия на наружной стороне митохондриальной мембраны, переносит их внутрь митохондрий, чем полностью компенсируется разность зарядов на различных сторонах мембраны. Подобным же действием обладает другой антибиотик - грамицидин. При этом хотя протонный градиент сохраняется протонный потенциал не возникает и АТФ синтезироваться не может.



Разобщение окисления и фосфорилирования сопровождается лихорадочные состояния (токсины микроорганизмов являются разобщителями), понижение температуры тела (холодовое разобщение), авитаминоз Е.

В ряде случаев разобщение может быть биологически целесообразным, так как является способом генерирования тепла для поддержания температуры тела у зимнеящих животных, у новорожденных и у млекопитающих, адаптированных к холоду

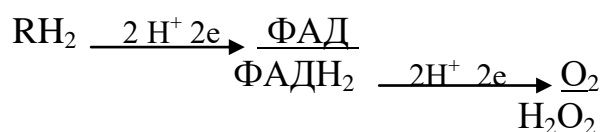
Так, для процесса термогенеза в организме человека (особенно у новорожденных) и животных специализирована бурая жировая ткань, богатая митохондриями, содержащими приблизительно в 10 раз больше ферментов дыхания, чем фосфорилирования, и поэтому в меньшей степени

настроенная на производство АТФ, чем на свободное окисление. С возрастом у человека содержание бурого жира уменьшается.

4.6. Пероксидазный путь окисления

4.6.1. Цианрезистентное дыхание

Помимо основного пути биологического окисления, включающего все компоненты дыхательной цепи, некоторые субстраты (биогенные амины, пуриновые нуклеотиды, оксикислоты, альдегиды и др.) окисляются коротким путем, протекающим по пероксидазному типу. В этом случае единственным переносчиком водорода с окисляемого субстрата на кислород является ФАД и образование АТФ не происходит.



Так как в этом случае молекула кислорода присоединяет лишь два электрона (а не 4, как при функционировании полной дыхательной цепи), то конечным продуктом окисления является не вода, а пероксид водорода.

Ввиду того, что этот путь протекает без участия цитохромов, у которых Fe^{3+} может блокироваться цианистым калием, он получил название цианрезистентного дыхания.

Наиболее интенсивно цианрезистентное дыхание протекает в специальных органоидах клетки - пероксисомах, в которых продуцируется до 80% пероксида водорода.

В лейкоцитах и других клетках, способных к фагоцитозу, образовавшаяся перекись водорода используется для обезвреживания поглощенных ими болезнетворных бактерий и распада неинфекционного материала. Однако для подавляющего большинства других клеток H_2O_2 является токсическим соединением и поэтому разрушается при участии двух ферментов – каталазы и пероксидазы

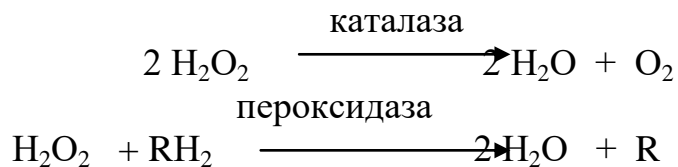
4.6.2. Каталаза и пероксидаза

Каталаза и пероксидаза по своей структуре относятся к гемопротейнам и содержат в своем составе трехвалентное железо. Основные различия между ними заключаются в следующем:

- а) каталаза является ферментом индивидуальной специфичности, пероксидаза – групповой, т.к. расщепляет не только H_2O_2 , но и органические перекиси;
- б) каталаза содержится в животных клетках (печени, почках, эритроцитах и др.); пероксидаза является в основном ферментом растительного

происхождения (богатым источником для её получения являются хрен и редька), в то время как в животных организмах содержится в малых количествах (в молоке, лейкоцитах, тромбоцитах);

в) каталаза расщепляет пероксид водорода с образованием воды и молекулярного кислорода, пероксидаза – разрушает H_2O_2 , одновременно окисляя какой-либо субстрат.



Однако, как считает ряд авторов, в животных тканях, в которых концентрации пероксида водорода относительно невелики, каталаза действует исключительно как пероксидаза.

Определение активности каталазы используется с диагностической целью: она уменьшается при железодефицитных анемиях, доброкачественных и злокачественных новообразованиях, полностью отсутствует при врожденном заболевании – акаталаземии. Повышается активность каталазы при гипоксических состояниях, что носит компенсаторный характер, так как эндогенный кислород, образующийся при разложении перекиси водорода, улучшает оксигенацию тканей.

4.7. Оксигеназный путь окисления **(микросомальное окисление)**

Окисление субстратов путем непосредственного присоединения кислорода к молекуле протекает в основном в микросомах (мембранах рибосом, эндоплазматического ретикулума), а также и в митохондриях коры надпочечников и печени.

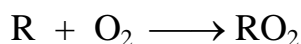
Таким путем окисляются гидрофобные субстраты, которые не могут быть дегидрированы. В настоящее время насчитывается около 7000 таких соединений. К ним относятся многие биологически активные вещества (холестерин, кортикостероиды, насыщенные жирные кислоты и др.), а также ряд ксенобиотиков (лекарственных и токсических веществ и др.). При этом последние превращаются в растворимые соединения, которые выделяются с мочой.

Этот путь окисления не имеет непосредственной связи с биоэнергетикой, так как вся энергия, выделяемая в процессе окисления (около 400 кДж/моль), рассеивается в виде тепла.

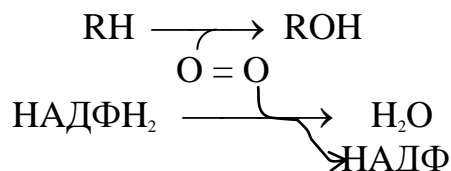
<p>Микросомальное окисление выполняет в организме пластическую и обезвреживающую функции</p>

В зависимости от того, один или оба атома кислорода присоединяются к молекуле окисляемого вещества, в процессе окисления принимают участие две ферментативные системы:

а) диоксигеназы, которые присоединяют к молекуле органического субстрата оба атома кислорода;



б) монооксигеназы (гидроксилазы), присоединяющие к субстрату лишь один из двух атомов кислорода.



В зависимости от того, каким образом восстанавливается второй атом кислорода, различают два пути гидроксилирования: НАДФН₂ - и аскорбат-зависимое

4.7.1. НАДФН₂ – зависимое гидроксилирование

В этом процессе участвует цепь дыхательных переносчиков, включающая ФАД, белок (аденодоксин), содержащий негемовое железо, цитохромы *b*₅ и *p*₄₅₀ (рис.40).

НАДФН₂ поставляет протоны для образования воды, а электроны – для восстановления цитохрома *p*₄₅₀.

Цитохром *p*₄₅₀ является, как и другие цитохромы, гемопротеином с молекулярной массой около 50 тыс. Он способен образовывать комплексы с оксидом углерода (СО), имеющие максимум поглощения при 450 нм. Цитохром *p*₄₅₀ выполняет двойную функцию: он связывает субстрат гидроксилирования (RH), а также активирует молекулу кислорода путем переноса на него электронов. В результате один атом кислорода включается в окисляемое вещество, а другой, связывая два протона из среды, входит в состав воды.

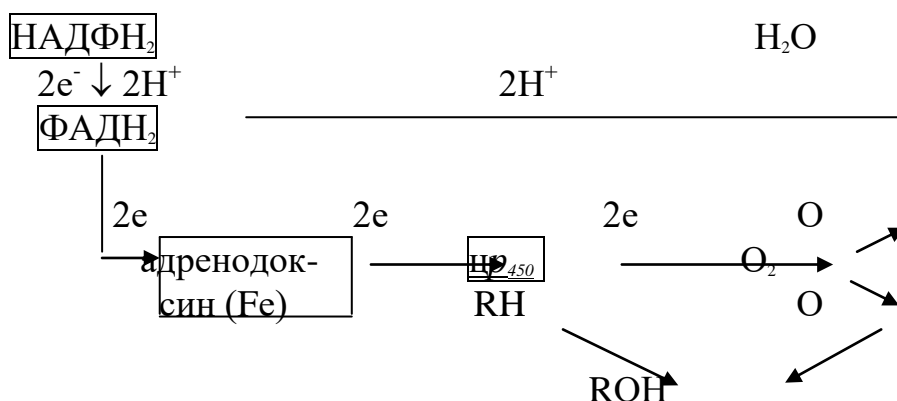


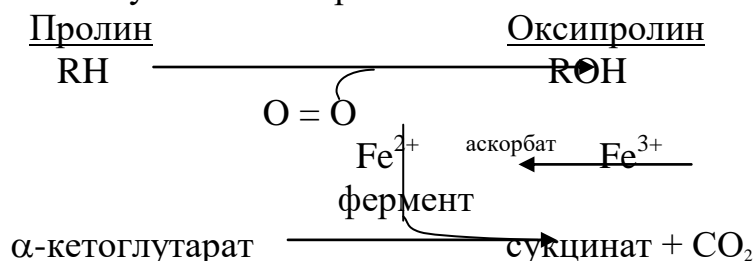
Рис.19. Дыхательная цепь, участвующая в НАДФН₂-зависимом гидроксилировании.

В печени существует большая группа изоферментов цитохрома p_{450} , осуществляющих окисление разнообразных органических веществ, что позволяет обезвредить широкий круг ксенобиотиков.

Однако иногда в процессе гидроксилирования окисляемое вещество, наоборот, может приобрести токсические свойства: например, бензпирен, содержащийся в табачном дыму и копченых продуктах, не обладающий токсическими свойствами, при участии монооксигеназы превращается в токсичный гидроксибензпирен, являющийся канцерогеном.

4.7.2. Аскорбат-зависимое гидроксилирование

Субстратами для аскорбат-зависимого гидроксилирования являются пролин и лизин, превращающиеся в ходе окисления в оксипролин и оксилизин. При этом второй атом кислорода используется для окисления α -кетоглутарата в сукцинат при участии фермента, содержащего в составе простетической группы Fe^{2+} , которое восстанавливается из Fe^{3+} при непосредственном участии аскорбата.



Так как оксипролин и оксилизин являются специфическими компонентами коллагена, то этот путь окисления необходим для поддержания нормального состояния соединительной ткани. Поэтому при недостатке витамина С в организме развивается цинга, основные проявления которой обусловлены нарушением реакций гидроксилирования.

Итак, основные отличия микросомального окисления от митохондриального и его биологическая роль заключаются в следующем:

микросомальное окисление

- а) протекает в основном вне митохондрий;
- б) энергия, выделяемая при окислении, рассеивается в виде тепла;
- в) наиболее интенсивно протекает в печени и надпочечниках;
- г) выполняет пластическую функцию, участвуя в синтезе холестерина, стероидных гормонов, желчных кислот, простагландинов и других соединений;
- д) принимает участие в детоксикации чужеродных веществ, так как при этом из гидрофобных соединений образуются продукты, хорошо

растворимые в воде и поэтому быстрее выводимые из организма через почки;
е) необходимо для синтеза коллагена.

4.8. Фазы освобождения энергии из питательных веществ

Энергетические потребности клеток животных, растений и микроорганизмов удовлетворяются за счет энергии, освобождающейся при катаболизме питательных веществ – белков, жиров и углеводов.

Однако ни одно из этих соединений не является непосредственным донором протонов и электронов для дыхательной цепи. Они образуются в ходе катаболизма пищевых веществ.

Катаболизм белков, жиров и углеводов протекает в три этапа, в ходе которых происходит **унификация субстратов окисления**, т.е. потеря ими специфических свойств и образование общих продуктов распада.

I этап – превращение полимеров, поступивших с пищей или находящихся внутри клеток, в мономеры. с помощью гидролаз желудочно-кишечного тракта и тканей. В результате переваривания белков образуются 20 аминокислот; углеводы распадаются до моносахаридов, а жиры – до глицерина и жирных кислот. На данном этапе освобождается лишь 0,1% энергии, и она полностью рассеивается в виде тепла.

II этап – специфические пути катаболизма всосавшихся мономеров. В ходе последовательных тканевых превращений из аминокислот, моносахаридов, глицерина и жирных кислот образуется лишь 4 общих метаболита – ацетил-СоА, пируват, оксалоацетат и α -кетоглутарат. На этом этапе выделяется 40% энергии.

III этап – общий путь катаболизма, включающий окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил СоА и дальнейший его распад до CO_2 и H_2O в цикле трикарбонных кислот Кребса. Именно на этом этапе образуется больше всего соединений, являющихся донорами протонов и электронов для дыхательной цепи, и выделяется 60% энергии (рис.20).

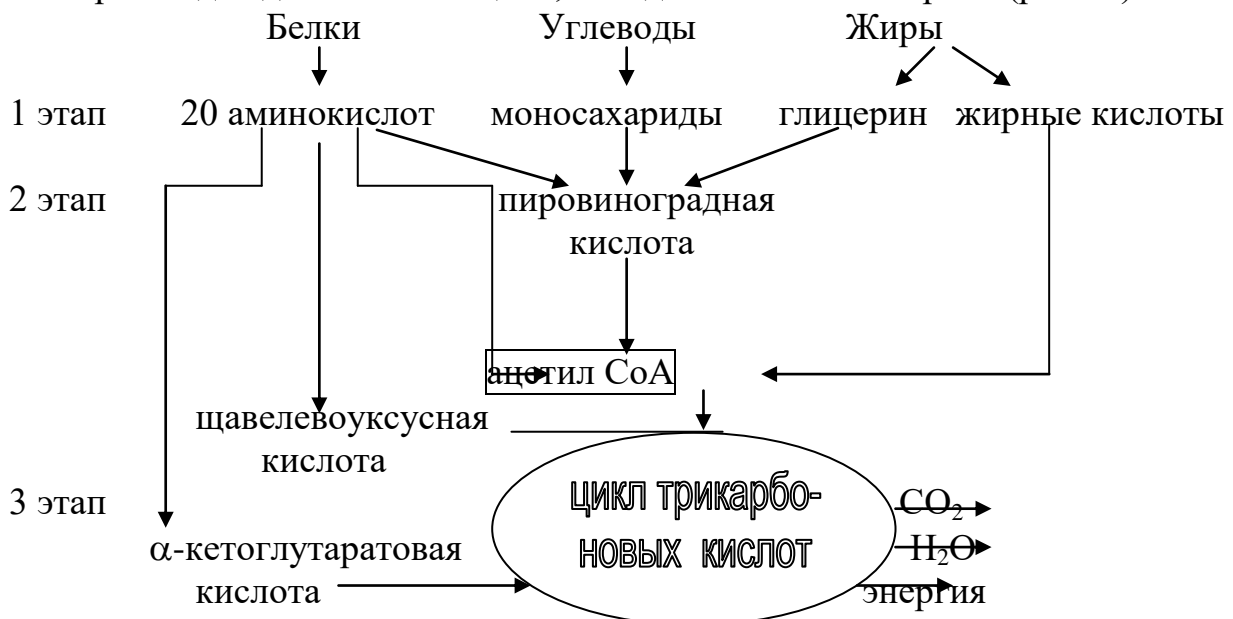


Рис.20. Основные этапы катаболизма.

4.9.Общий путь катаболизма

4.9.1. Окислительное декарбоксилирование пирувата

Окислительное декарбоксилирование пирувата протекает при участии ряда ферментов и коферментов, объединенных в сложную мультиферментную систему - пируватдегидрогеназный комплекс. Этот комплекс находится в матриксе митохондрий и тесно связан с дыхательной цепью, локализованной во внутренней мембране.

В состав пируватдегидрогеназного комплекса входит 3 фермента (пируватдекарбоксилаза, ацетилтрансфераза и ФАД-зависимая дигидролипоилдегидрогеназа) и 5 коферментов: НАД, ФАД, CoASH, тиаминдифосфат (ТДФ) и липоат. Три из них (ФАД, ТДФ и липоат) прочно связаны с ферментами комплекса, а НАД и CoASH находятся в растворенном состоянии и служат акцепторами двух конечных продуктов процесса – ацетильного остатка и атомов водорода.

Пируватдегидрогеназный комплекс – крупная молекула с молекулярной массой 7-10 млн. Центральное положение в комплексе занимают полипептидные цепи субъединиц ацетилтрансферазы, вокруг которых располагаются молекулы дигидролипоилдегидрогеназы и пируваткарбоксилазы. Отдельные ферменты соединены друг с другом таким образом, что могут забирать и переносить промежуточные продукты реакций последовательно к активным центрам каждого из трех ферментов. Поэтому весь комплекс функционирует по принципу конвейера, в котором образующиеся продукты передаются от одной машины к другой.

В общем виде процесс окислительного декарбоксилирования можно представить следующим образом:



Так как процесс сопровождается значительным уменьшением свободной энергии, он является необратимым.

Окислительное декарбоксилирование пирувата активируется высоким содержанием субстрата, инсулином, АДФ, НАД и CoASH и подавляется НАДН₂, АТФ и ацетил-CoA.

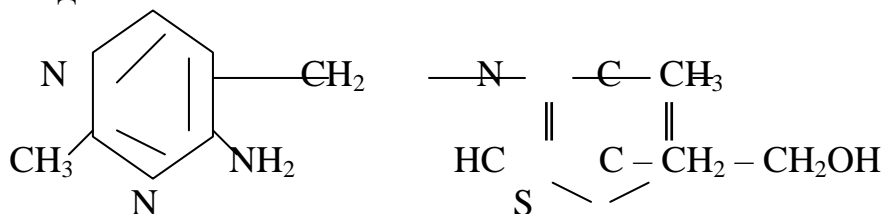
Образовавшийся в ходе реакции ацетил-CoA вступает в цикл Кребса.

4.9.2. Витамины, участвующие в окислительном декарбоксилировании пирувата

4.9.2.1. Витамин В₁ (тиамин, антинеуритный витамин)

Витамин В₁ был первым витамином, выделенным в кристаллическом состоянии из рисовых отрубей в 1912 году Казимиром Функом. Исходя из структуры этого соединения, содержащего в своем составе аминогруппу, и было дано название **в и т а м и н о в** (аминов жизни) всему классу подобных соединений

Тиамин состоит из производных двух гетероциклов – тиазола и пиримидина



Витамин В₁ представляет собой белое кристаллическое вещество с характерным запахом. Он устойчив к нагреванию в кислой среде, в щелочной среде быстро разрушается. Поэтому при кулинарной обработке пищи без NaHCO₃ потери этого витамина небольшие, однако необходимо учитывать, что при варке он может вымываться из продуктов.

При окислении витамин В₁ легко превращается в тиохром, обладающий голубой флуоресценцией. На этой способности тиамина основаны методы его качественного и количественного определения.

Потребность в витамине составляет 1,5 – 2 мг. Он поступает в организм с пищевыми продуктами преимущественно растительного происхождения. Много его содержится в дрожжах, злаках, крупах (гречневой, ячневой и др.), неочищенном рисе, муке грубого помола, черном хлебе. Мясные продукты не являются богатыми источниками витамина.

После всасывания в тонком кишечнике витамин В₁ фосфорилируется в печени, превращаясь в тиаминдифосфат (ТДФ) при участии АТФ и тиаминфосфокиназы.

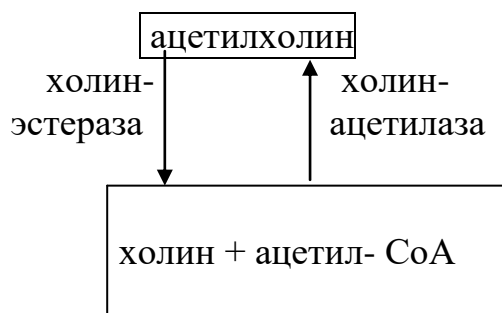
ТДФ (ТПФ) является **коферментной группой декарбоксилаз α-кетокислот**, рыхло связанной с апоферментом, и поэтому называется кокарбоксилазой. ТДФ (ТПФ) входит в состав следующих ферментов:

- дрожжевой декарбоксилазы, содержащейся исключительно в дрожжах, принимает участие в брожении сахара под влиянием грибов;

- пируватдегидрогеназного и α -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов, катализирующих окислительное декарбоксилирование пирувиноградной и α -кетоглутаровой кислот;
- транскетолазы, участвующей в апотомическом окислении глюкозы.

Наряду с коферментными функциями витамин В₁ выполняет также **некоферментные функции:**

- угнетает активность ацетилхолинэстеразы, расщепляющей ацетилхолин;
- активирует холинацетилазу, участвующую в его биосинтезе.



Проявления недостаточности. Отсутствие витамина в пище приводит к развитию заболевания, получившего название бери – бери, распространенного в странах Индокитая, население которых использует в пищу полированный рис.

Для этого заболевания характерны следующие синдромы:

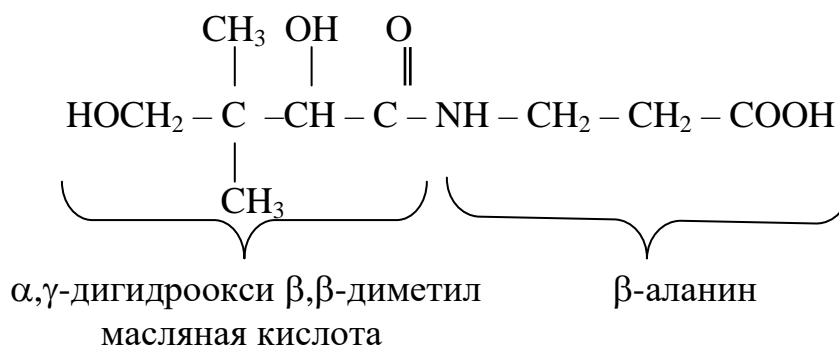
- резкие изменения в центральной нервной системе, связанные с накоплением α -кетокислот в головном мозге. Наблюдается потеря памяти на недавние события, склонность к галлюцинациям и судорогам;
- изменения со стороны периферической нервной системы – возникают полиневриты, обусловленные разрушением ацетилхолина и подавлением его синтеза, приводящим к нарушению проведения нервного импульса: появляется резкая боль по ходу нервов, расстройство чувствительности, снижаются рефлексы. В результате развивается атрофия мышечной ткани, контрактуры и параличи верхних и нижних конечностей;
- изменения со стороны сердечной деятельности: увеличение размеров сердца, сверлящие боли, могут появиться участки некроза;
- нарушение секреторной и моторной функций желудочно-кишечного тракта. У больных понижен аппетит (развивается чувство «ложной сытости» в результате накопления кетокислот в крови), снижается кислотность желудочного сока, появляются поносы;
- нарушение водного обмена, появление отеков.

Однако в настоящее время классическое течение бери-бери практически не встречается, а недостаточность витамина В₁ проявляется в виде отдельных ее синдромов – **синдрома Вернике** (энцефалопатии) и **синдрома Вейса** (поражения сердечной деятельности), которые часто наблюдается у хронических алкоголиков.

4.9.2.2. Пантотеновая кислота (витамин В₃)

Пантотеновая кислота получила свое название из-за широкого распространения в природе (pantoten –вездесущий).

В состав витамина входит β-аланин и α,γ-дигидроокси, β,β-диметилмасляная кислота.

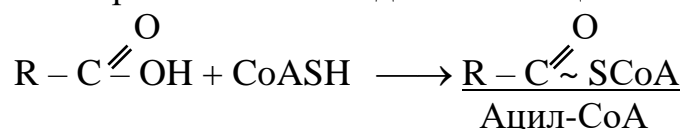


Представляет собой вязкую маслянистую жидкость желтоватого цвета. Нестойка при кулинарной обработке, легко гидролизуется и разрушается под действием физических факторов.

Содержится в печени, почках, желтках яиц, а также в зеленых растениях, оболочках зерен, дрожжах, картофеле, томатах, цветной капусте. Синтезируется микрофлорой кишечника. Потребность – 3 – 5 мг.

Недостаточность витамина В₃ описана лишь в экспериментальных условиях у животных. При этом появляются характерные дерматиты, взъерошивается и местами выпадает шерсть (алопеция), воспаляется нос, склеиваются усы, нарушается координация движений. Характерные изменения обнаруживаются со стороны коры надпочечников и головного мозга. У людей–добровольцев, получавших с пищей антагонисты пантотеновой кислоты, недостаточность витамина проявлялась депрессией, вялостью, нарушениями со стороны сердечной деятельности, болями в икроножных мышцах жгучего характера, особенно выраженными в ночное время.

Биологическая роль витамина В₃ заключается в том, что он входит в состав коэнзима ацилирования (CoA), образующегося из адениловой кислоты, двух остатков фосфорной кислоты, пантотеновой кислоты и тиоэтиламина, содержащего реакционноспособную SH- группу(поэтому CoA обозначается как CoASH. CoASH является коферментом **ацилфераз**, катализирующих активирование и перенос остатков органических кислот (ацилов). Кислоты присоединяются карбоксильной группой к SH-группе CoA, образуя высокоэнергетическое соединение – ацил CoA



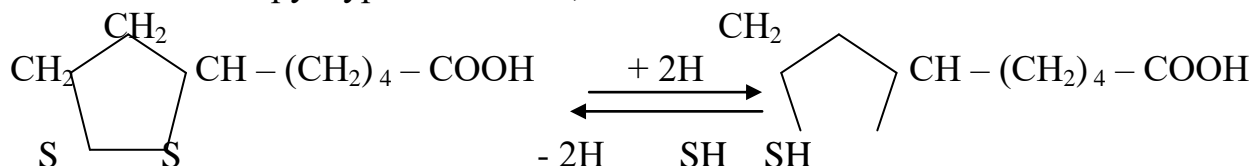
При этом карбоновая кислота поднимается на более высокий энергетический уровень, создавая выгодные термодинамические предпосылки для ее дальнейшего использования в реакциях, протекающих с потреблением энергии.

4.9.2.3. Липоевая кислота

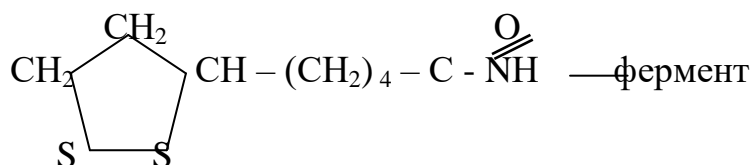
Была обнаружена в дрожжах как фактор роста молочнокислых бактерий.

Может существовать как в окисленной, так и в восстановленной форме

По своей структуре является 6,8-дитиооктановой кислотой.



В виде амида (липоамида) входит в состав ферментов, участвующих в окислительном декарбоксилировании кетокислот.



4.9.3. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса, лимоннокислый цикл)

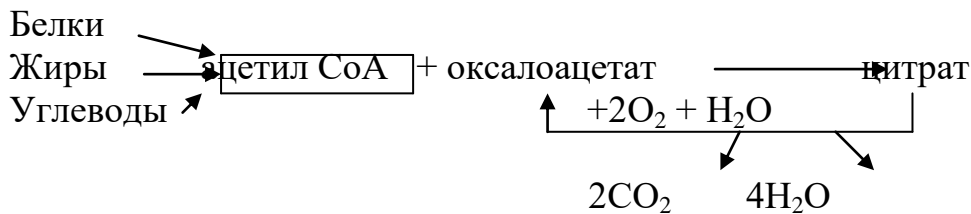
Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) был впервые описан Гансом Кребсом в 1937 году.

4.9.3.1. Значение ЦТК в метаболизме клетки

- 1) ЦТК является конечным этапом окисления всех веществ, поступивших в клетку. Его можно сравнить со своеобразным “метаболическим котлом”, в котором в организме полностью сгорают все питательные вещества до своих конечных продуктов.
- 2) ЦТК является основным энергопоставляющим процессом в организме, т.к. в ходе реакций освобождается 60% энергии, заключенной в питательных веществах.
- 3) В ЦТК образуются вещества, являющиеся донорами водорода для дыхательной цепи. Все ферменты ЦТК локализованы в матриксе митохондрий, откуда протоны и электроны. Отщепляемые от интермедиатов цикла, поступают в дыхательную цепь, локализованную на внутренней мембране.
- 4) Промежуточные интермедиаты ЦТК могут быть использованы для синтеза ряда биологически важных соединений – аминокислот, углеводов, гемоглобина и др.

Об определяющем значении ЦТК в энергетическом обмене свидетельствует, в частности, тот факт, что у человека неизвестны энзимопатии, обусловленные нарушением активности ферментов цикла.

В ЦТК протекает распад ацетил - CoA, что в конечном итоге приводит к образованию двух молекул CO₂ и 4-х пар атомов водорода, включающихся в дыхательную цепь с выделением воды и энергии:

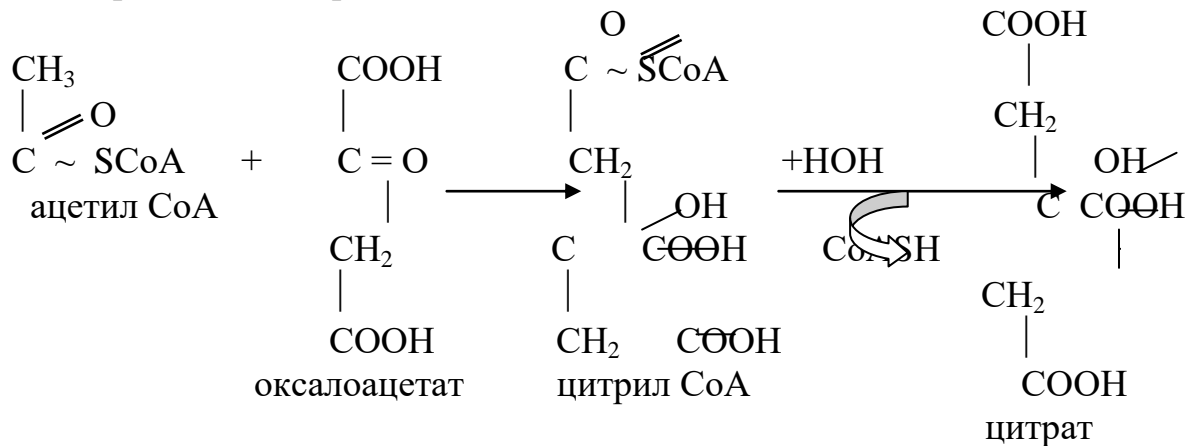


Так как оксалоацетат выходит из ЦТК в неизменном виде и присутствует в клетках в незначительных количествах, можно сравнить его роль с функцией катализатора.

4.9.3.2. Характеристика реакций цикла трикарбоновых кислот

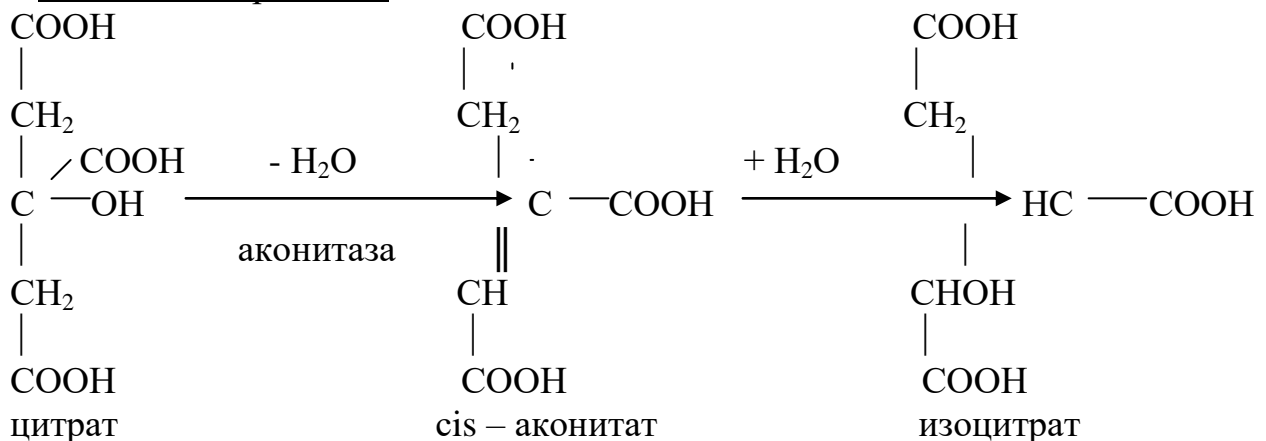
Цикл трикарбоновых кислот включает восемь ферментативных реакций, протекающих в матриксе митохондрий.

1. Цитратсинтазная реакция.



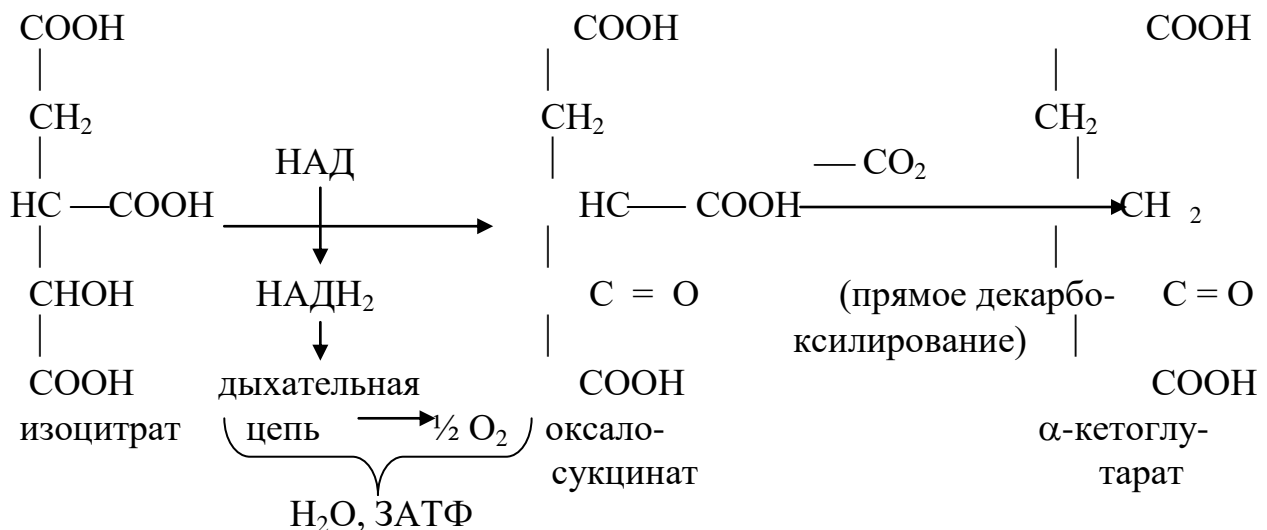
Цитратсинтаза является аллостерическим ферментом, активность которого повышается инсулином, ацетил - CoA, витамином Д. Ингибируется цитратом и АТФ.

2. Аконитазная реакция.



3. Изоцитратдегидрогеназная реакция.

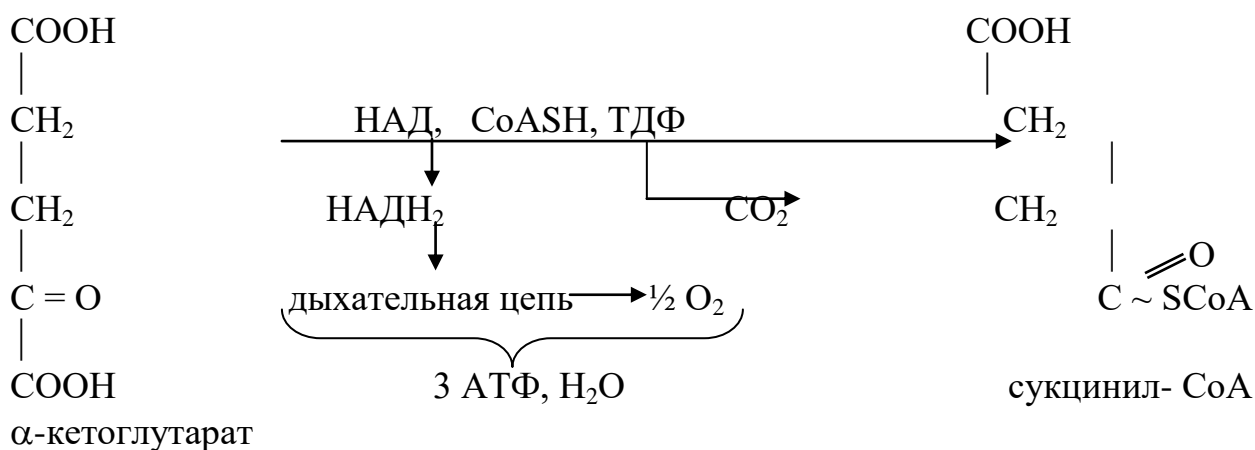
Изоцитратдегидрогеназная реакция - первая энергодающая реакция ЦТК. Изоцитратдегидрогеназа является НАД-зависимым ферментом, и поэтому атомы водорода, отщепляемые от изоцитрата, передаются на кислород с участием полной дыхательной цепи, в результате чего образуется молекула H_2O и три молекулы АТФ. Помимо этого на данном этапе выделяется первая молекула CO_2 .



Изоцитратдегидрогеназа - аллостерический фермент. Активность ее повышается в присутствии ионов Mg^{2+} или Mn^{2+} , при увеличении концентрации АДФ и НАД; а понижается - под влиянием АТФ и НАДН_2 , а также гормона паращитовидной железы - паратгормона.

Различают НАД- и НАДФ-зависимый изоферменты изоцитратдегидрогеназы. НАД-зависимый изофермент локализован только в митохондриях и участвует в ЦТК. НАДФ-зависимый фермент содержится как в митохондриях, так и в цитоплазме и продуцирует НАДФН_2 , используемый на пластические цели.

4. α -кетоглутаратдегидрогеназная реакция (окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата)

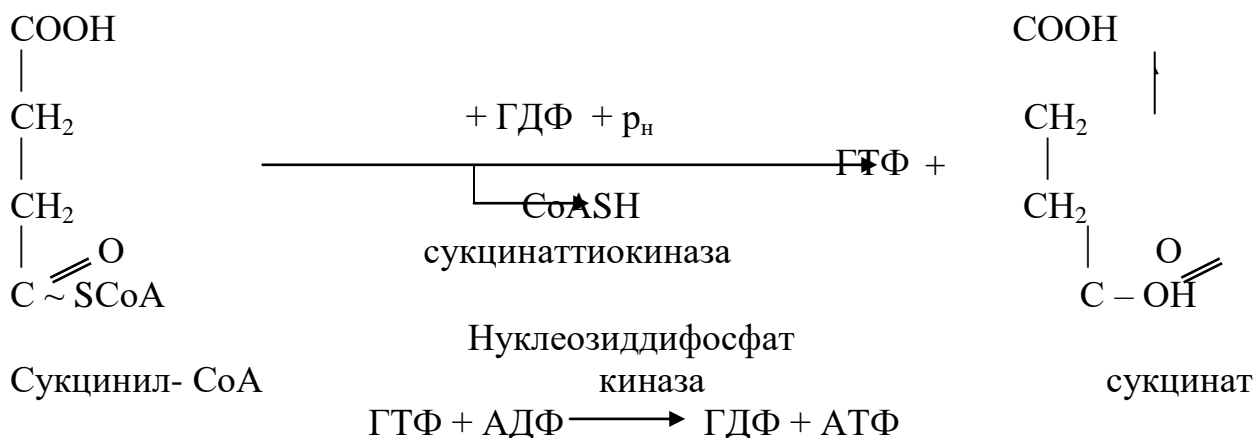


Протекает при участии α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, структура и механизм действия которого аналогичны пируватдегидрогеназному.

*) Окончание – **ат**, используемое обычно для названия промежуточных продуктов ЦТК (например, цитрат) обозначает смесь свободной кислоты и ее ионизированной формы (без указания природы присутствующих катионов).

Данная реакция является второй энергодающей реакцией цикла Кребса. Здесь же выделяется вторая молекула CO_2 .

5. Сукцинаттиокиназная реакция.



Реакция протекает при участии ГДФ. За счет разрыва макроэргической связи в молекуле сукцинил CoA и выделения заключенной в ней энергии происходит реакция фосфорилирования ГДФ с образованием ГТФ. Образовавшаяся молекула ГТФ затем перефосфорилируется с АДФ, в результате чего образуется седьмая молекула АТФ (путем субстратного фосфорилирования).

6. Сукцинатдегидрогеназная реакция.



В отличие от других ферментов ЦТК сукцинатдегидрогеназа является не НАД-, а ФАД-зависимым ферментом, в связи с чем транспорт ионов водорода от сукцината осуществляется с участием II дыхательного ансамбля. На этой стадии выделяется не 3, а 2 молекулы АТФ. Она отличается от других дегидрогеназ также и тем, что погружена своей гидрофобной частью в липидный слой внутренней мембраны митохондрий и лишь частично выступает в матрикс. В матриксной части расположен центр связывания субстрата, а в части, погруженной в мембрану – центр связывания убихинона.

Сукцинатдегидрогеназа отщепляет атомы водорода, находящиеся в транс-положении, в результате чего образуется транс-форма непредельной кислоты – фумарат, а не её цис-форма – малеат.

7. Фумаразная реакция.



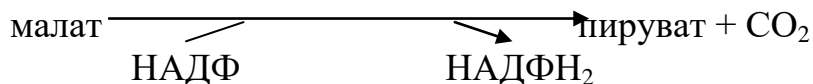
Фумараза относится к классу лиаз, подклассу гидратаз. На этой стадии поглощается вторая молекула H_2O .

8. Малатдегидрогеназная реакция.

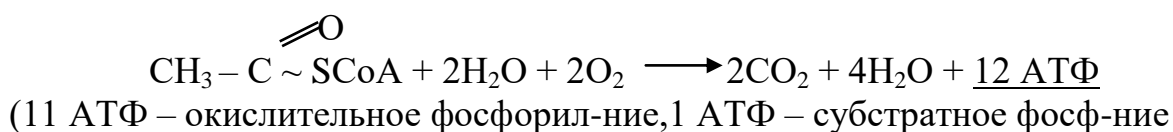


В ходе этой реакции выделяется последняя порция энергии (3 АТФ). Образовавшаяся молекула оксалоацетата вновь вступает в ЦТК, связывая следующую молекулу ацетил СоА.

Существует также НАДФ-зависимый изофермент малатдегидрогеназы, локализованный в основном в цитоплазме. Одновременно с дегидрированием субстрата он катализирует также его декарбоксилирование с образованием пирувата. Поэтому этот изофермент называется НАДФ-зависимой малатдегидрогеназой декарбоксилирующей или “малик” ферментом. Он принимает участие в процессе глюконеогенеза (синтезе глюкозы и гликогена из продуктов неуглеводной природы).



Общий баланс цикла трикарбоновых кислот



4.9.3.3. Анаболические реакции цикла Кребса

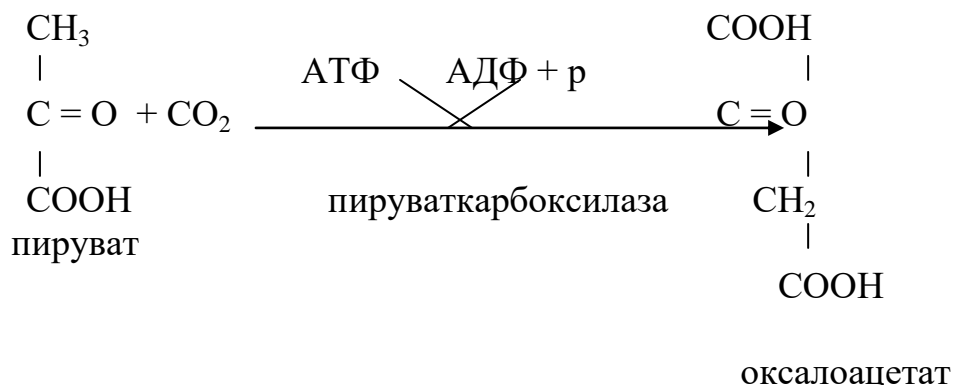
Помимо того, что ЦТК является конечным этапом окисления всех веществ, поступивших в клетку, и обеспечивает продукцию АТФ, он поставляет промежуточные продукты для биосинтетических процессов. Так, сукцинил-СоА используется для биосинтеза порфиринов, оксалоацетат и α-кетоглутарат, вступая в реакции переаминирования, превращаются в аминокислоты – аспарагиновую и глутаминовую; кислоты ЦТК могут утилизироваться и по пути глюконеогенеза.

Поэтому утилизация промежуточных метаболитов цикла на цели биосинтеза должна обязательно сопровождаться их дополнительным

образованием за счет других источников – **анаплеротическими реакциями (от греч. – “пополнять”)**.

Одной из основных анаплеротических реакций является образование оксалоацетата путем карбоксилирования пирувата при участии пируваткарбоксилазы.

Пируваткарбоксилаза локализована в митохондриях, состоит из 4 субъединиц, каждая из которых содержит связанный ион Mn^{2+} и витамин Н (биотин), выполняющий коферментную функцию.



4.9.3.4. Регуляция цикла трикарбоновых кислот

Основным регулятором цикла трикарбоновых кислот является АТФ.

Течение цикла Кребса в целом неразрывно связано с функционированием дыхательной цепи митохондрий. Скорость протекания отдельных реакций ЦТК определяется скоростью транспорта электронов по дыхательной цепи. Скорость же дыхания определяется концентрацией АДФ (дыхательный контроль) и в конечном итоге – интенсивностью расходования АТФ. Суммарная концентрация адениловых нуклеотидов и их соотношение в клетке является постоянной величиной. Однако относительные концентрации нуклеотидов могут изменяться вследствие их взаимопревращений. Учитывая, что в клетке соотношение АТФ:АДФ:АМФ равно 100:10:1, даже небольшое уменьшение содержания АТФ приводит к выраженным изменениям концентрации других адениловых нуклеотидов. Так, например, если лишь 1/10 часть (10 молекул) имеющейся АТФ превратится в АДФ, то концентрация АДФ соответственно увеличится по сравнению с исходной в 2 раза, а следовательно, скорость транспорта электронов по дыхательной цепи и скорость реакций цикла трикарбоновых кислот возрастет вдвое.

4.9.3.5 Причины нарушений цикла трикарбоновых кислот

Нарушения ЦТК приводят к возникновению **гипоэнергетического состояния**, обусловленного снижением синтеза АТФ. Оно может возникнуть в результате недостаточного поступления кислорода в клетку (гипоксии), недостатка отдельных компонентов цикла и витаминов, необходимых для его нормального функционирования, голодания – отсутствия пищевых веществ – субстратов окисления.

Вопросы для проверки усвоения

Выберите из предложенных ответов один правильный

1. Коферментной группой НАДН-дегидрогеназы является
 - а) ФМН + FeS
 - б) ФАД + FeS
 - в) НАД
 - г) НАДФ
2. Донором восстановительных эквивалентов для убихинона в полной дыхательной цепи служит
 - а) ФАДН₂
 - б) ФМНН₂
 - в) ФМН
 - г) НАДН₂
3. Энергетическая эффективность транспорта пары восстановительных эквивалентов в дыхательной цепи, где первичными дегидрогеназами являются флавиновые дегидрогеназы составляет
 - а) 1 АТФ
 - б) 2 АТФ
 - в) 4 АТФ
 - г) 3 АТФ
4. Энергия, достаточная для синтеза 1 АТФ, выделяется на следующем этапе переноса электронов в дыхательной цепи
 - а) цитохром *c* ~~цитохром *aa*₃~~
 - б) ФМНН₂ ~~СсQ~~
 - в) цитохром *aa*₃ ~~Q~~
 - г) цитохром *c*₁ ~~цитохром *c*~~
5. Образование H₂O₂ происходит вследствие передачи на молекулу кислорода
 - а) 1 электрона
 - б) 2 электронов
 - в) 3 электронов
 - г) 4 электронов
6. Донором восстановительных эквивалентов для 1-го дыхательного ансамбля является
 - а) ФАДН₂
 - б) ФМНН₂
 - в) ФАДН₂, ФМНН₂
 - г) НАДН₂

7. Возрастание уровня АТФ в клетке приведет к

- а) угнетению окисления, угнетению фосфорилирования
- б) усилению окисления, угнетению фосфорилирования
- в) угнетению окисления, усилению фосфорилирования
- г) разобщению окисления с фосфорилированием

8. В качестве разобщителя окислительного фосфорилирования может выступать

- а) гипервитаминоз РР
- б) авитаминоз В₂
- в) авитаминоз РР
- г) авитаминоз Е

9. Энергетическая эффективность цианрезистентного дыхания составляет

- а) 0 АТФ
- б) 2 АТФ
- в) 3 АТФ
- г) 1 АТФ

10. Порядок расположения компонентов дыхательной цепи относительно друг друга обусловлен

- а) молекулярной массой
- б) величиной окислительно-восстановительного потенциала
- в) характером боковых радикалов
- г) степенью липофильности

11. Донором восстановительных эквивалентов для цитохромоксидазы является

- а) убихинон
- б) цитохром *c*
- в) цитохром *b*
- г) цитохром *c*₁

12. Самым сильным восстановителем из компонентов дыхательной цепи является

- а) НАДН₂
- б) ФМНН₂
- в) ФАДН₂
- г) цитохромоксидаза

13. Последствиями действия 2,4-динитрофенола являются

- а) усиление окисления и фосфорилирования
- б) угнетение окисления и фосфорилирования
- в) усиление окисления, угнетение фосфорилирования
- г) угнетение фосфорилирования, окисление на прежнем уровне

14. Наиболее слабым восстановителем является тот компонент дыхательной цепи, который имеет окислительно-восстановительный потенциал, равный

- а) + 0,365

б) - 0,432

в) - 0,60

г) + 0,40

15. Возрастание уровня АДФ в клетке приведет к

- а) усилению процессов окислительного фосфорилирования
- б) усилению окисления, угнетению фосфорилирования
- в) угнетению окисления, усилению фосфорилирования
- г) разобщению окисления с фосфорилированием

16. Укажите основной внутриклеточный компартмент, где осуществляется синтез АТФ путем субстратного фосфорилирования

- а) микросомы
- б) внутренняя мембрана митохондрий
- в) цитозоль
- г) межмембранное пространство митохондрий

17. К какому классу ферментов относятся компоненты дыхательной цепи

- а) трансферазы
- б) гидролазы
- в) оксидоредуктазы
- г) лигазы

18. Что характеризует величина окислительно-восстановительного потенциала

- а) способность переносчика быть донором протонов
- б) способность переносчика быть акцептором протонов
- в) конформационное сродство к предыдущему компоненту
- г) сродство к электрону

19. Коэффициент фосфорилирования Р/О при действии 2,4-динитрофенола

- а) уменьшится
- б) увеличится
- в) останется прежним

20. Интенсивность потока восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи в наибольшей степени зависит от

- а) величины электрохимического потенциала
- б) уровня АДФ
- в) величины протонного градиента
- г) уровня АМФ

21. Конечные продукты в виде гидроксиглиоксилированного производного, воды и НАДФ образуются в результате функционирования

- а) полной дыхательной цепи
- б) неполной дыхательной цепи
- в) микросомального окисления
- г) цианрезистентного дыхания

22. Цитратсинтезная реакция цикла Кребса ингибируется:

- а) инсулином, АТФ

- б) цитратом, АТФ
- в) АДФ, паратгормоном
- г) витамином Д, АДФ

23. На активности какого фермента цикла Кребса в первую очередь скажется недостаточность витамина В₂

- а) малатдегидрогеназа
- б) сукцинатдегидрогеназа
- в) цитратсинтаза
- г) фумараза

24. Окисление 1 молекулы пирувата в цикле Кребса сопровождается синтезом

- а) 3 АТФ
- б) 2 АТФ
- в) 15 АТФ
- г) 12 АТФ

25. Какая реакция цикла Кребса сопровождается образованием АТФ путем субстратного фосфорилирования

- а) ацетил-СоА + ЩУК — ~~цитрат~~
- б) сукцинил-СоА + Н О — ~~сукцинат~~
- в) фумарат + Н₂О — ~~малат~~
- г) цитрат — ~~изоцитрат~~

26. Малатдегидрогеназная реакция цикла Кребса

- а) сопровождается синтезом 3 АТФ путем окислительного фосфорилирования
- б) сопровождается синтезом 1 АТФ путем субстратного фосфорилирования
- в) сопровождается синтезом 2 АТФ путем окислительного фосфорилирования
- г) не сопровождается синтезом АТФ

27. Ферменты цикла трикарбоновых кислот локализованы в

- а) митохондриальном матриксе
- б) межмембранном пространстве митохондрий
- в) внутренней мембране митохондрий
- г) цитоплазме

28. Укажите, к какому из перечисленных ниже типов относится реакция, катализируемая фумаразой

- а) конденсации (образование углерод-углеродной связи)
- б) окисления – восстановления
- в) дегидратации (отщепление Н₂О)
- г) гидратации (присоединение Н₂О)

29. Реакция ацетил СоА + ЩУК — ~~лимонная кислота~~

- а) не сопряжена с синтезом АТФ
- б) сопровождается синтезом 1 АТФ путем субстратного фосфорилирования
- в) сопряжена с синтезом 3 АТФ путем окислительного фосфорилирования

г) сопряжена с синтезом 2 АТФ путем окислительного фосфорилирования

30. Окисление 1 молекулы ацетил - СоА в цикле Кребса сопровождается синтезом за счет субстратного фосфорилирования

- а) 12 АТФ
- б) 11 АТФ
- в) 1 АТФ
- г) 3 АТФ

31. Укажите реакцию Кребса, сопряженную с функционированием II дыхательного ансамбля

- а) изоцитратдегидрогеназная
- б) сукцинатдегидрогеназная
- в) фумаразная
- г) малатдегидрогеназная

32. Пируватдегидрогеназный комплекс локализован в

- а) митохондриальном матриксе
- б) межбранном пространстве митохондрий
- в) внутренней мембране митохондрий
- г) цитоплазме

33. Укажите, на активности какого фермента цикла Кребса в первую очередь отразится недостаточность витамина В₁

- а) цитратсинтаза
- б) изоцитратдегидрогеназа
- в) альфа-кетоглутаратдегидрогеназа
- г) сукцинатдегидрогеназа

ОТВЕТЫ:

1 а, 2 б, 3 б, 4 в, 5 б, 6 в, 7 б, 8 д, 9 а, 10 б, 11 б, 12 а, 13 в, 14 д, 15 а, 16 в, 17 в, 18 д, 19 а, 20 б, 21 в, 22 б, 23 б, 24 в, 25 б, 26 а, 27 а, 28 д, 29 а, 30 в, 31 б, 32 а, 33 в,

