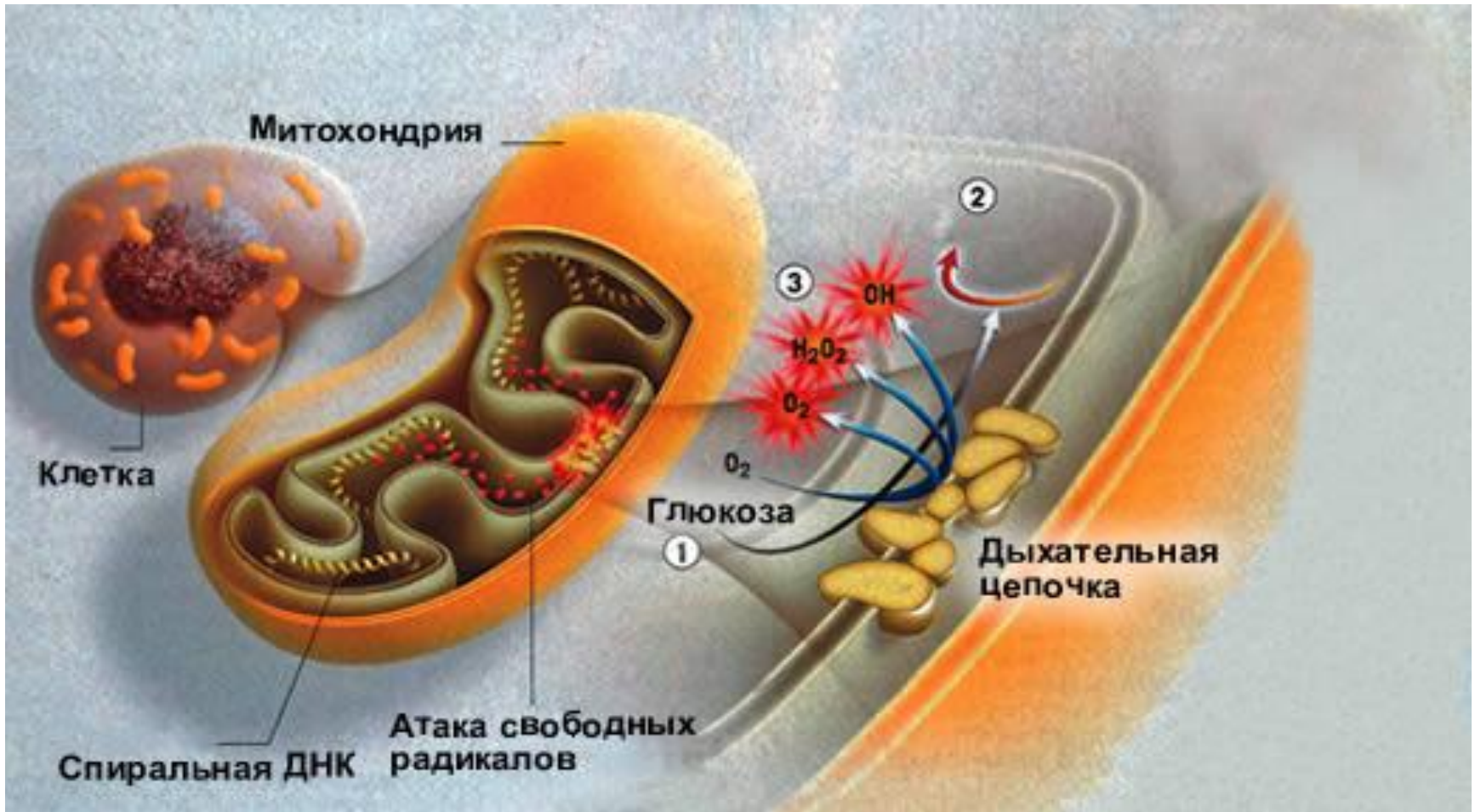


ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН

Лекция для студентов стоматологического факультета



План лекции

1. История учения о биологическом окислении.
2. Современные представления о биологическом окислении.
3. Тканевое дыхание, определение, этапы, общая схема.
4. Редоксистема, редокspotенциал.
5. Характеристика ферментов дыхательной цепи.
6. Укороченные (побочные) пути тканевого дыхания.
7. Дыхательный коэффициент.
8. Окислительное фосфорилирование. Теория Митчела.
9. Пункты сопряжения ТД и ОФ.
10. Коэффициент окислительного фосфорилирования.
11. Дыхательный контроль.
12. Виды фосфорилирования.
13. Роль АТФ
14. Макроэргические вещества
15. Гипоэнергетические состояния
16. Разобщение ТД и ОФ. Виды разобщения.
17. Ингибиторы тканевого дыхания.
18. Микросомальное окисление. Схема. Роль.
19. Активные формы кислорода
20. Вспомогательные ферменты ТД

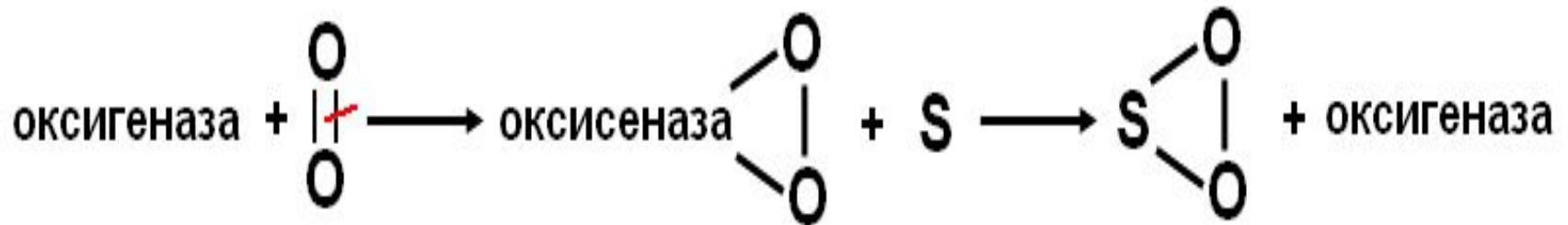
ИСТОРИЯ УЧЕНИЯ О БИОЛОГИЧЕСКОМ ОКИСЛЕНИИ

А.Н. Бах (1898 г) – теория активации кислорода
или теория перекисных соединений.

Основные положения:

- в окислении обязательно участвует O_2 ,
- при его активации разрывается только 1 связь;
- O_2 передается на субстрат через промежуточные вещества;
- участвуют ферменты - оксигеназы.

Схема:

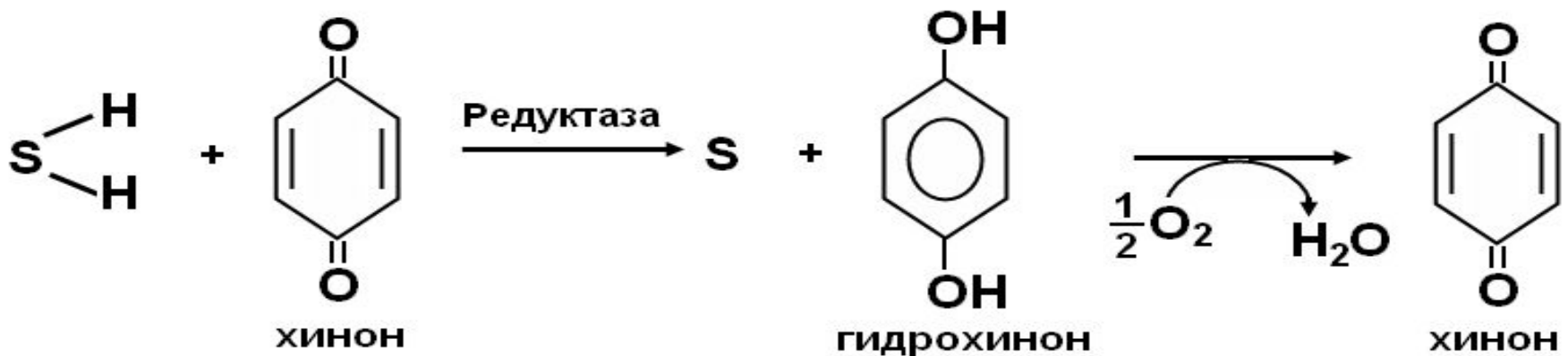


В.И. Палладин (1908 г) – теория активации водорода.

Основные положения:

- Окисление протекает путем отщепления атомов водорода без участия O_2 .
- Окисление может протекать как в присутствии, так и без O_2 .
- O_2 служит конечным акцептором атомов водорода.
- Участвуют промежуточные переносчики атомов водорода – хромогены.

Схема:



СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОЛОГИЧЕСКОМ ОКИСЛЕНИИ И ТКАНЕВОМ ДЫХАНИИ.

- **БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ –**
совокупность всех ОВР в живых
системах, протекающие в аэробных и
анаэробных условиях.

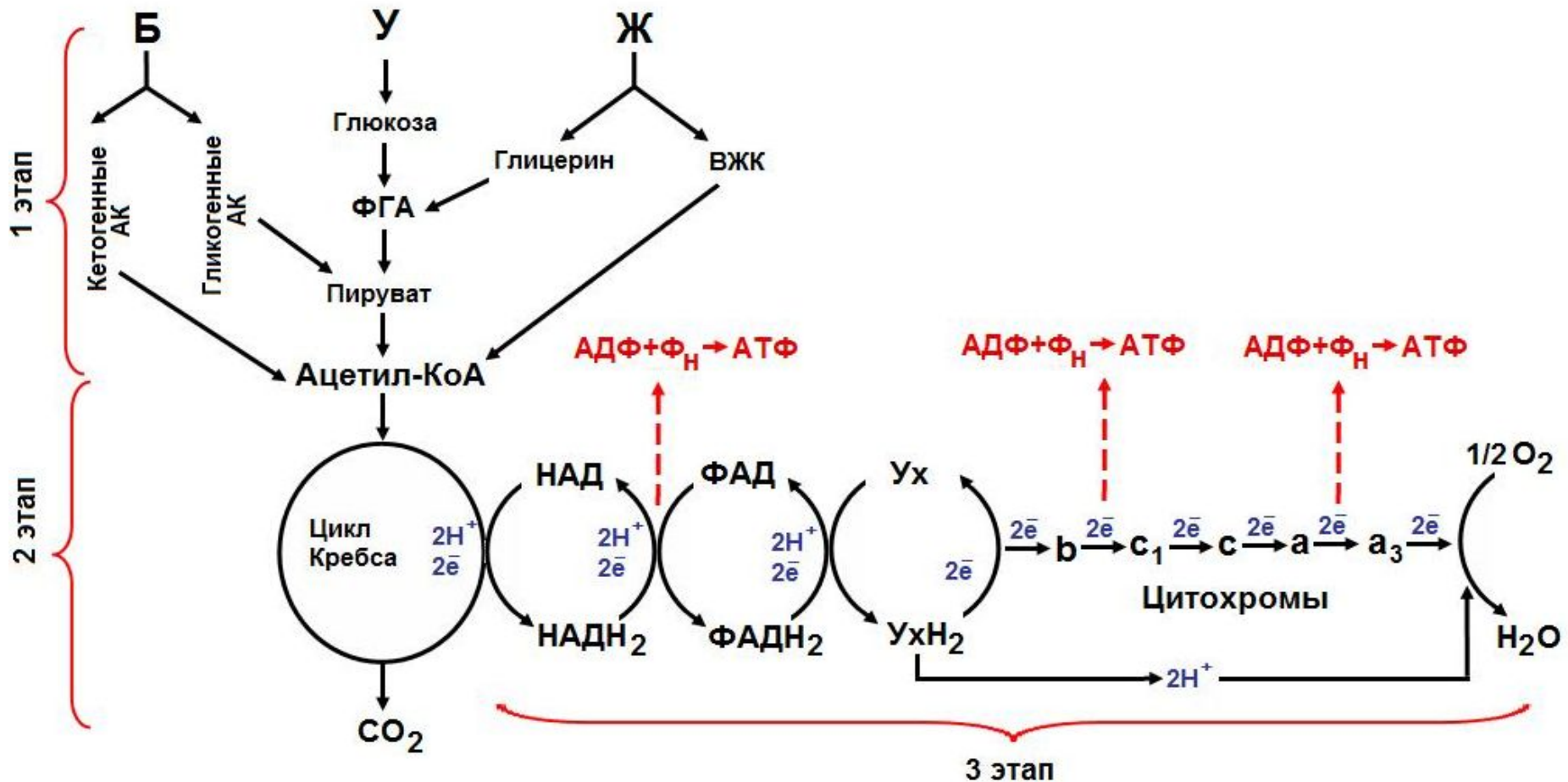
Тканевое дыхание

- комплекс **аэробных** окислительно-восстановительных реакций распада субстратов, сопровождающийся передачей протонов и электронов через дыхательную цепь ферментов на кислород и выделением энергии

Общая схема тканевого дыхания

Этапы:

1. Образование ацетил-КоА.
2. Окисление ацетил-КоА в цикле Кребса.
3. Энергетический – передача электронов и протонов по дыхательной цепи ферментов на кислород и образование воды.



Редокс-система

- Окисленная и восстановленная форма одного вещества.

Примеры:

- НАД/НАДН₂
- ФАД/ФАДН₂
- Ух/УхН₂

РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛ (Р-П)

- это химическая характеристика способности вещества принимать и удерживать электроны. Выражается в вольтах (В).
- Самый низкий Р-П имеет начальное звено дыхательной цепи НАД/НАДН₂ = - 0,32 В
- самый высокий Р-П у Н₂О/О₂ = 0,82 В, расположенного в конце цепи.
- Перенос протонов водорода и электронов возможен только в одном направлении - в порядке возрастания их Р-П.

Характеристика дыхательной цепи

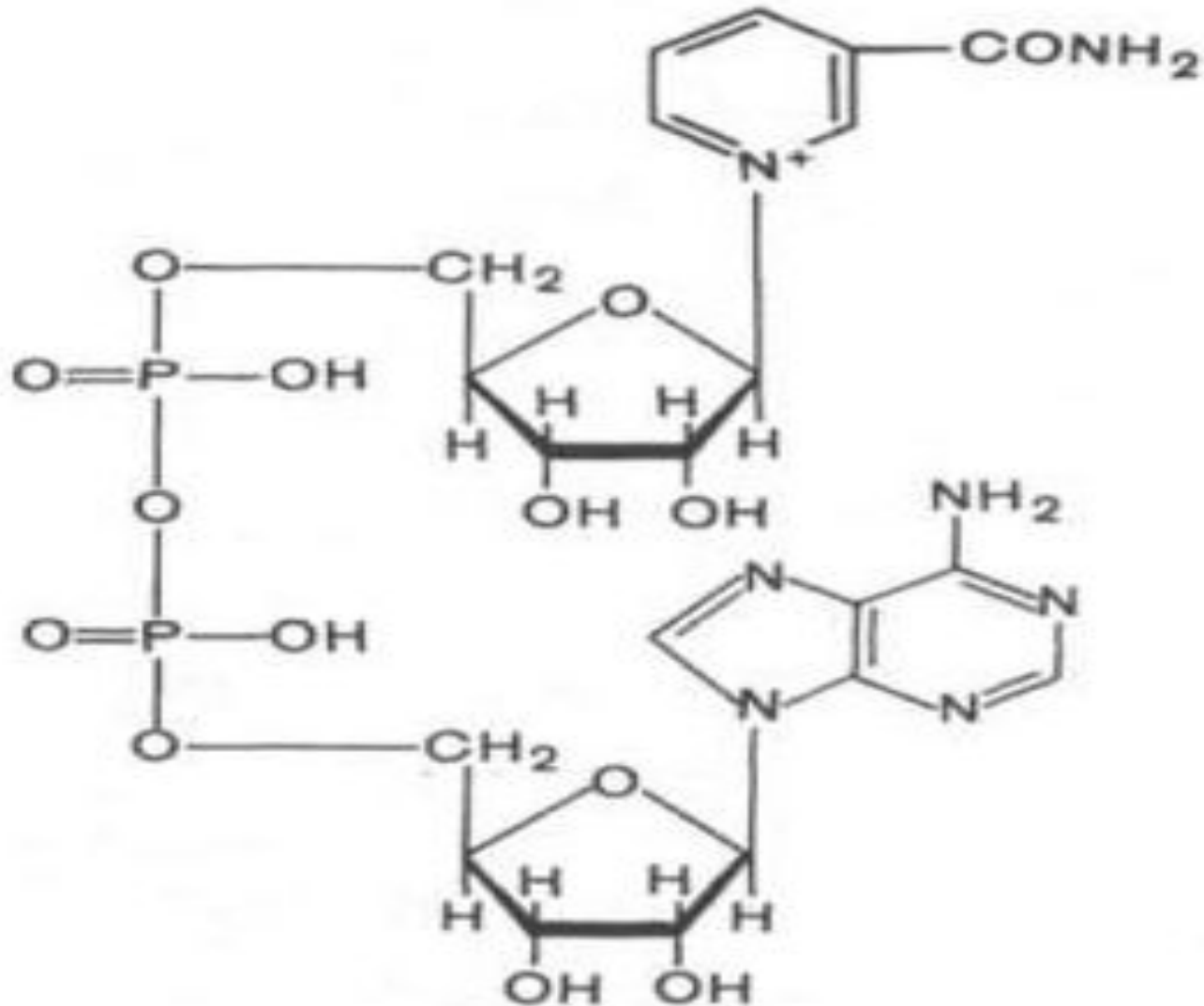
Состоит из 3 групп ферментов и низкомолекулярного витаминopodobного вещества – убихинона.

Локализована на внутренней мембране митохондрий.

Ферменты:

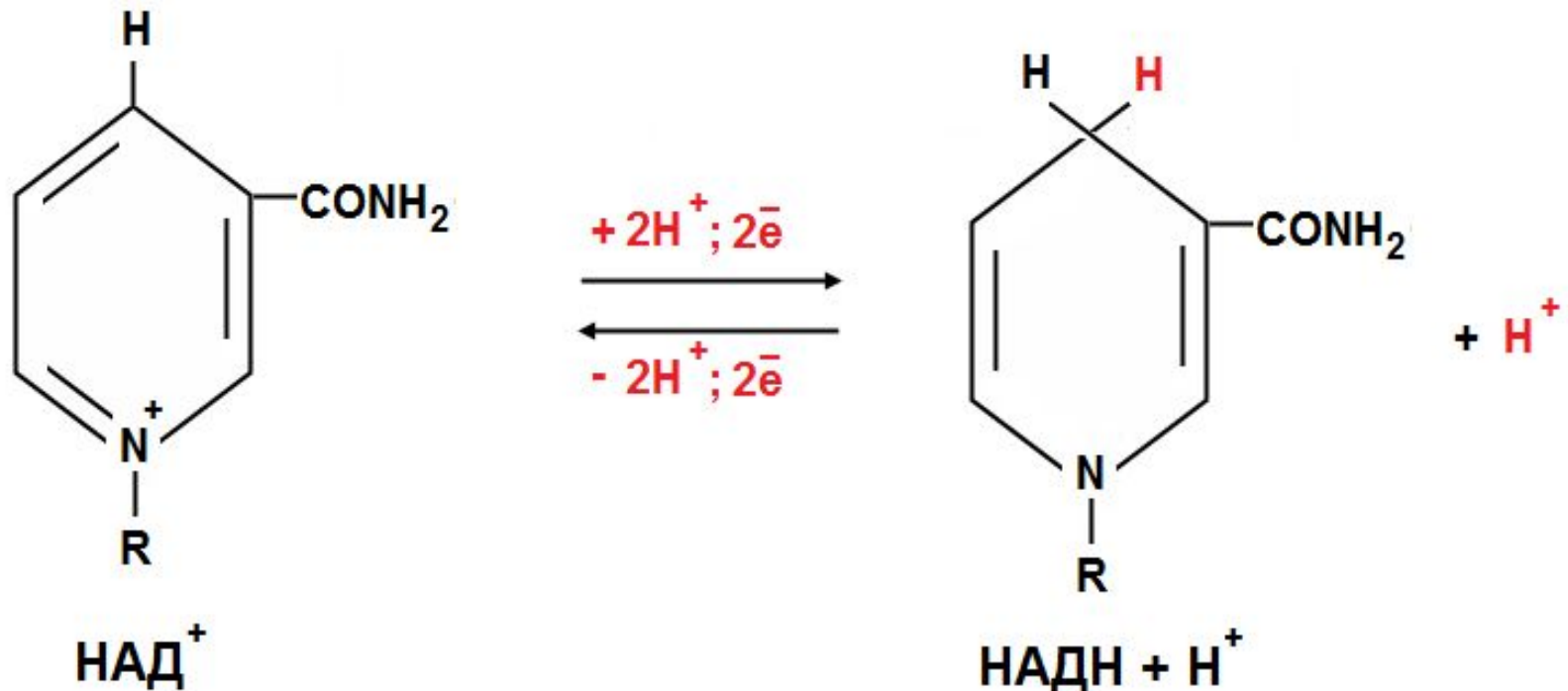
- НАД–зависимые ДГГ
- ФАД–зависимые ДГГ
- Цитохромы

НАД - никотинамидадениндинуклеотид

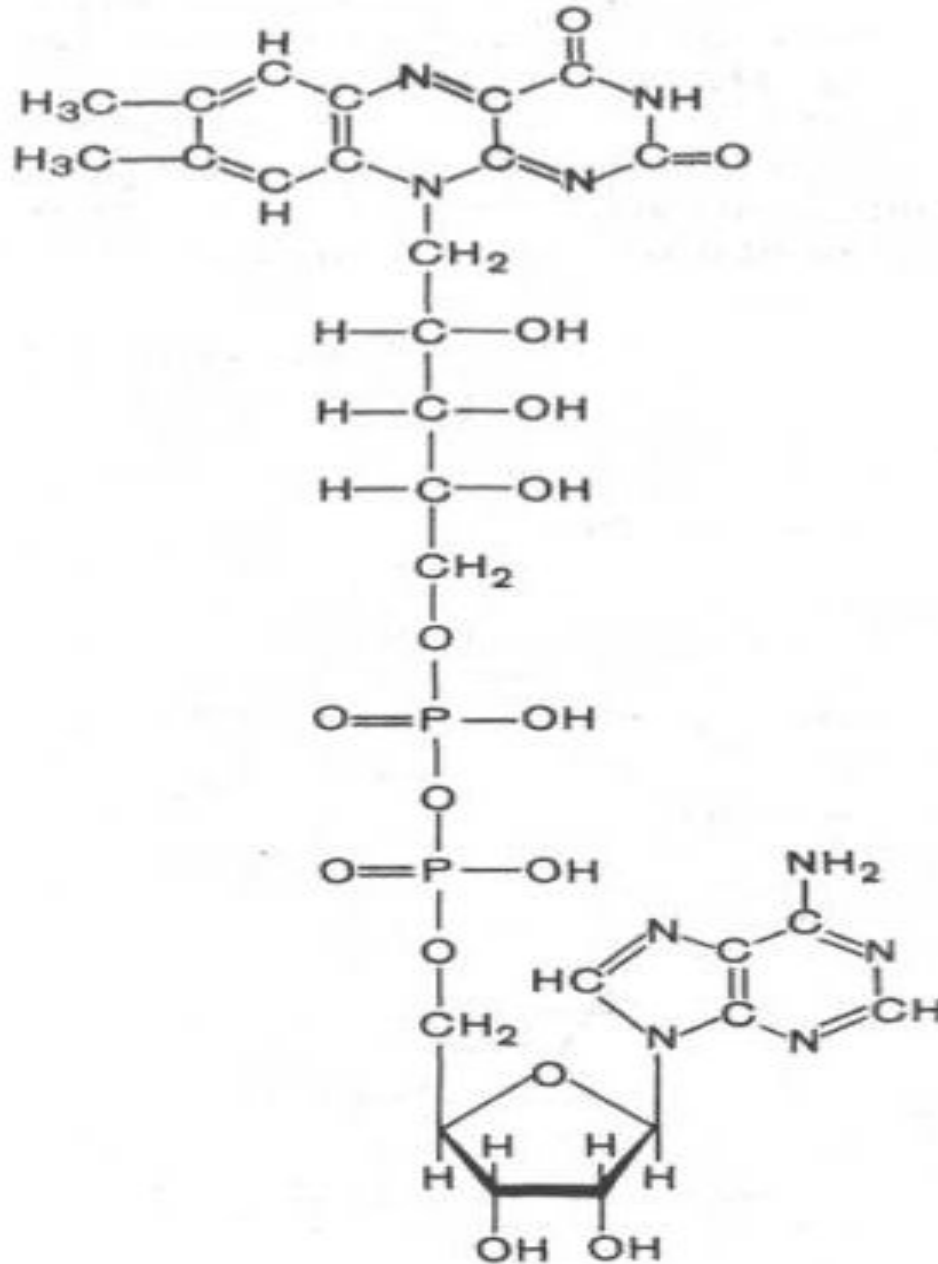


Роль НАД

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

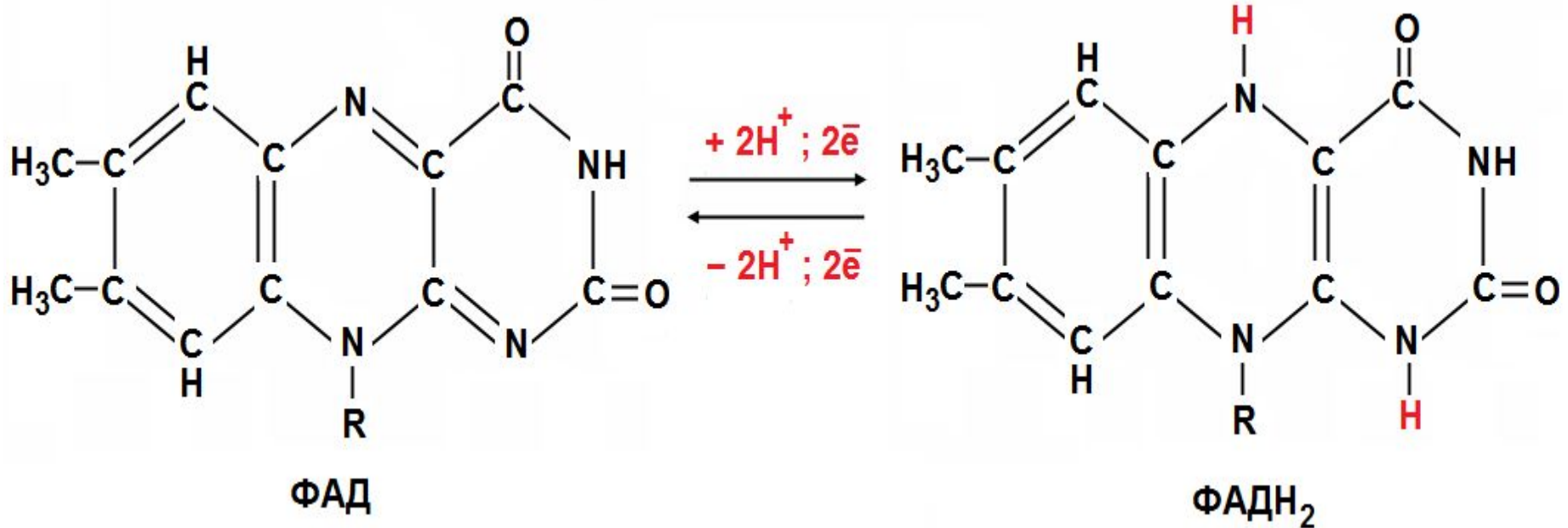


ФАД - флавинадениндинуклеотид



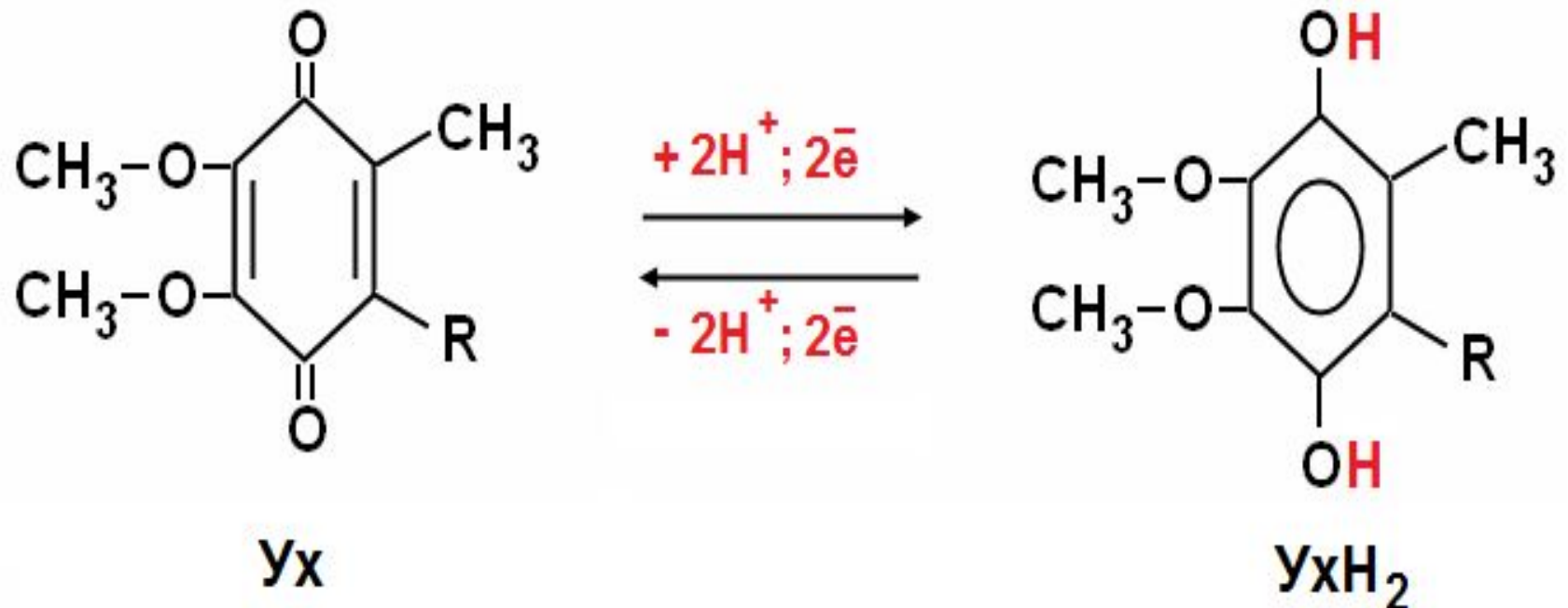
Роль ФАД (ФМН)

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



Роль убихинона

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



Цитохромы (Цх)

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

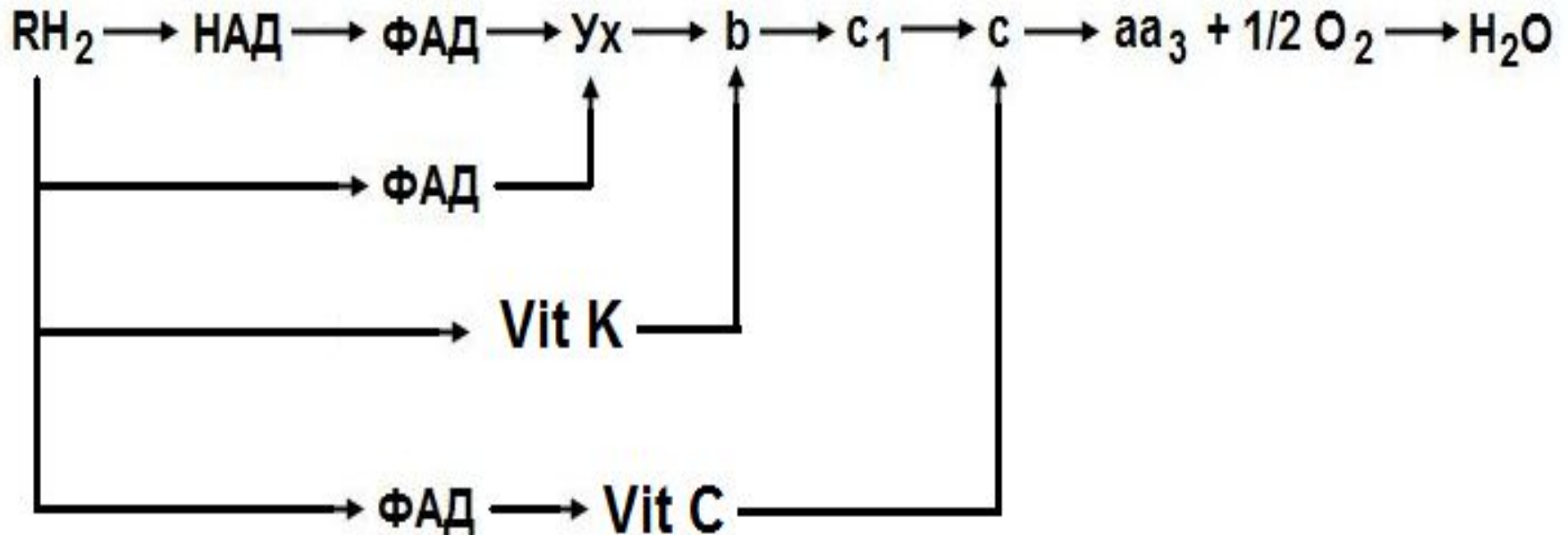


- **Аутооксидабельность** – способность передавать электроны непосредственно на кислород.
- Единственным аутооксидабельным является цитохром aa_3 – цитохромоксидаза.
- **Цитохромоксидаза** состоит из 6 субъединиц, каждая из которых содержит гем и атом меди.
- Ионы меди также могут переносить электроны:



Укороченные (побочные) пути тканевого дыхания

- Позволяют поддерживать энергообеспечение клетки на минимальном уровне при дефекте некоторых ферментов дыхательной цепи.



Дыхательный коэффициент

- отношение объема CO_2 , выделенного из легких, к объему поглощенного O_2 .

$$RQ = \text{CO}_2 / \text{O}_2$$

Для углеводов = 1;

белков = 0,8;

липидов = 0,7

Для мозга = 1

Миокарда = 0,74

Окислительное фосфорилирование

- синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4 с затратой энергии тканевого дыхания.

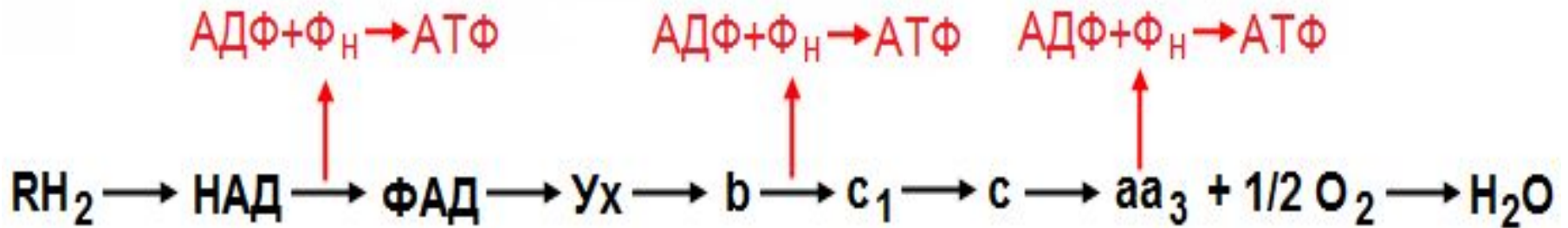
Сопрягающая мембрана

- это внутренняя митохондриальная мембрана, т.к. благодаря её работе происходит сопряжение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

Особенности:

- большое количество липидов, из которых 90% – фосфолипиды;
- митохондриальные фосфолипиды характеризуются высокой степенью ненасыщенности.

Пункты сопряжения ТД и ОФ в дыхательной цепи



1. Между НАД и ФАД
2. Между цитохромами b и c_1
3. Между цитохромами a и a_3

Это участки дыхательной цепи, где разность редокс-потенциалов между соседними редокс-системами более 0,2 В, достаточный для синтеза АТФ

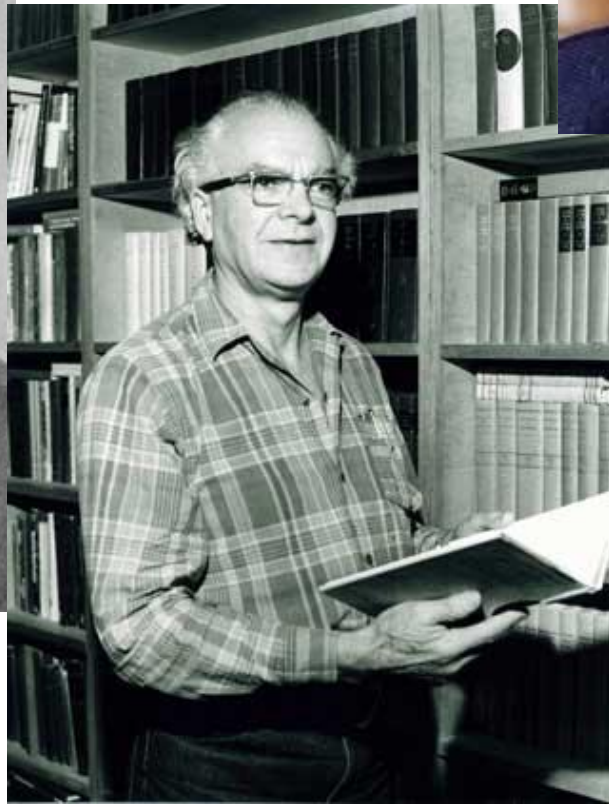
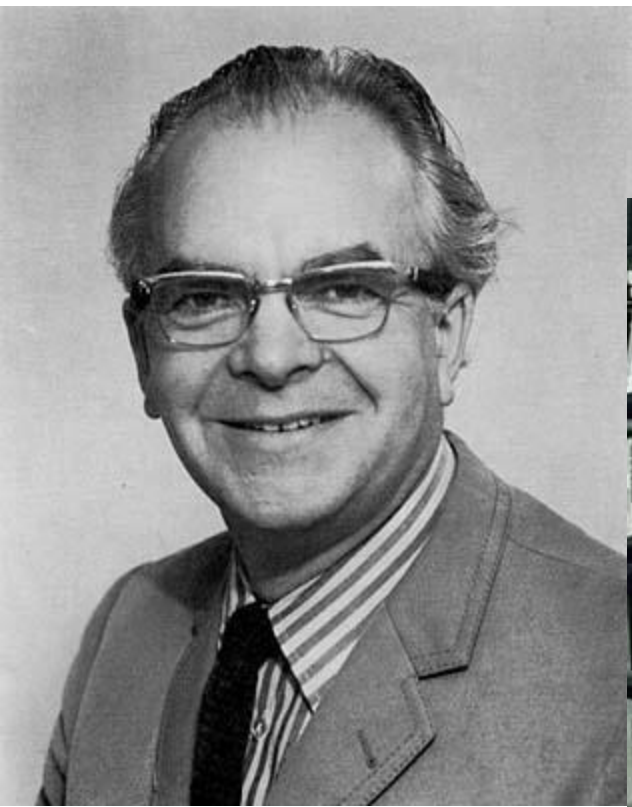
Хемиосмотическая теория П. Митчелла

(1961-1966 гг)

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

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

Процесс протекает следующим образом:

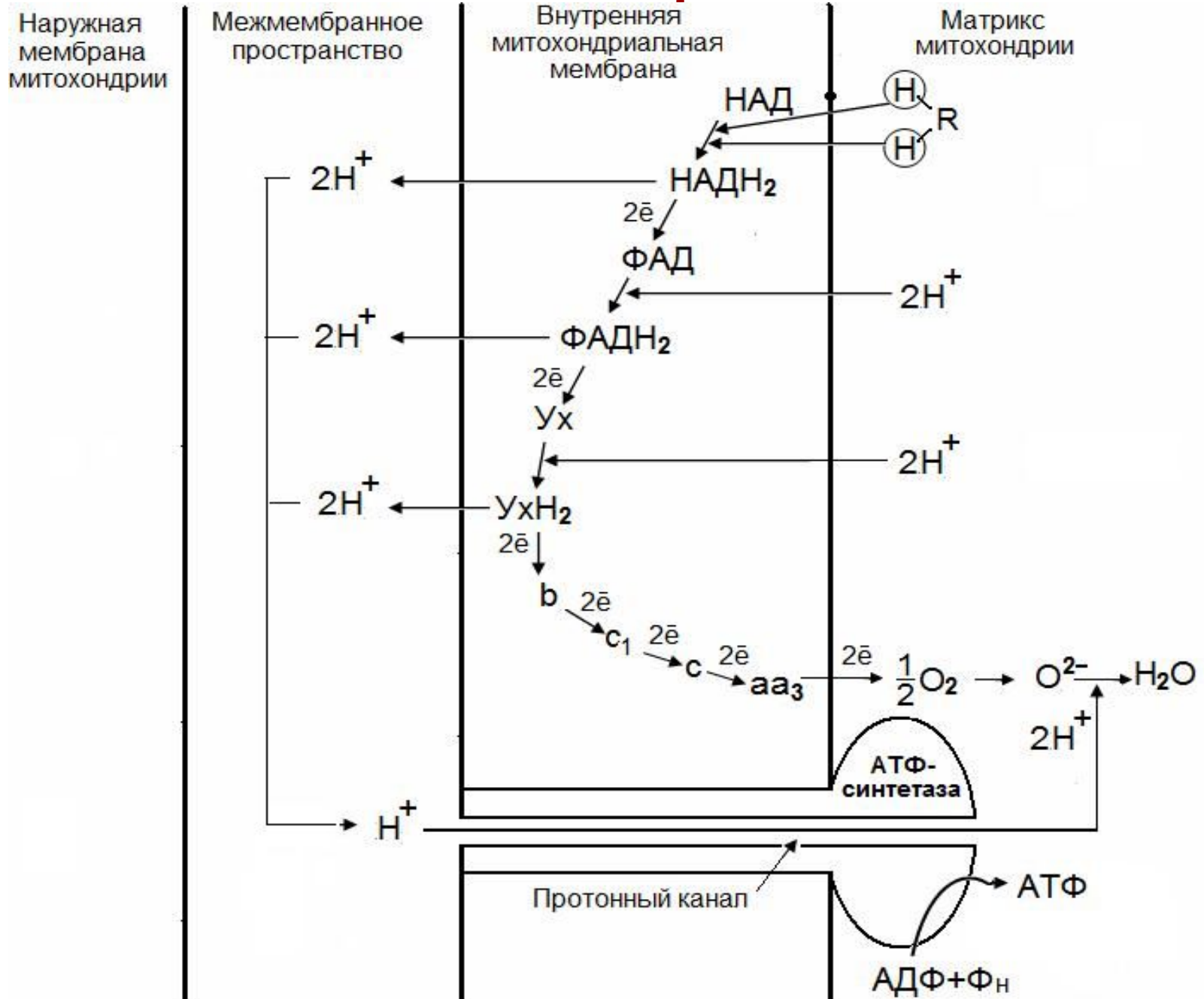


1. ДГГ НАДН₂ отдает пару \bar{e} на ДГГ ФАД, что позволяет ФАД принять пару протонов (H^+) из матрикса с образованием ФАДН₂. Пара H^+ , принадлежащих НАД выталкивается на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.
2. ДГГ ФАДН₂ выталкивает пару H^+ на наружную поверхность внутренней мембраны,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

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

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

Хемиосмотическая теория П. Митчелла



Коэффициент окислительного фосфорилирования (P/O) -

отношение количества связанной H_3PO_4 к количеству поглощенного атомарного кислорода.

P/O для субстратов, передающих H^+ и e^- на НАД = 3,

P/O для субстратов, передающих H^+ и e^- на ФАД = 2,

P/O для Vit «С» = 1

Дыхательный контроль -

усиление дыхания и фосфорилирования в митохондриях при увеличении концентрации АДФ

Виды фосфорилирования:

- **Окислительное**
За счет энергии тканевого дыхания
- **Субстратное**
2 реакции в гликолизе
- **Транс- (перифосфорилирование)**
Креатин ↔ креатинфосфат
- **Ионное**
при действии ионизирующего излучения
- **Фотофосфорилирование**
Только у растений

Роль АТФ:

Энергия АТФ тратится на работу

- **Механическую** (мышечное сокращение)
- **Химическую** (анаболические процессы - синтез веществ)
- **Осмотическую** (транспорт веществ против градиента концентрации)
- **Электрическую** (генерация нервного импульса)
- **Тепловую** (поддержание температурного гомеостаза)

Макроэргические соединения – соединения, при гидролизе которых высвобождается более 30 кДж/моль энергии.

1. АТФ, ГТФ, ЦТФ и т.д., АДФ
2. Креатинфосфат
3. 1,3-дифоглицериновая кислота
4. Фосфоенолпируват
5. Карбамоилфосфат
6. Сукцинил-КоА
7. Ацетил-КоА

Гипоэнергетические состояния - снижение синтеза АТФ.

Причины:

- **Гипоксия тканей** (недостаток O_2);
- **Гиповитаминозы** (образуется мало коферментов);
- **Голодание** (отсутствие субстратов окисления)
- **Действие разобщителей**
- **Действие ингибиторов ТД и ОФ**

Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования -

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

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

Виды разобщения

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

Ингибиторы ТД и ОФ

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

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

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

б) ингибиторы окислительного фосфорилирования

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

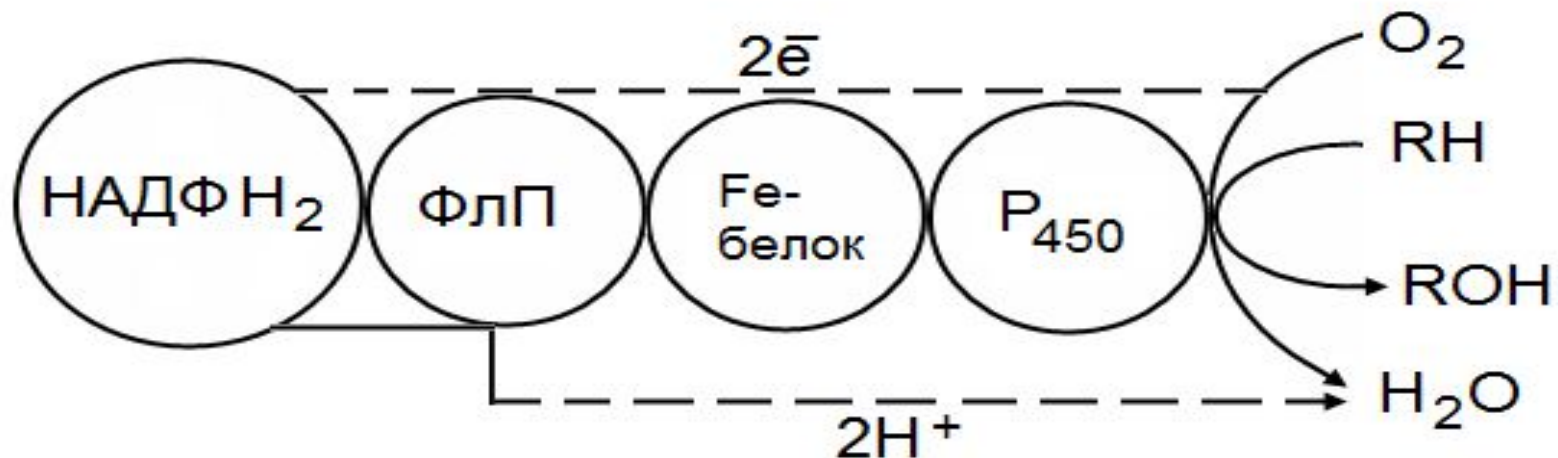
Микросомальное окисление

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

Схема микросомального окисления

Для протекания реакций необходимы:

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



Активные формы кислорода (АФК)

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

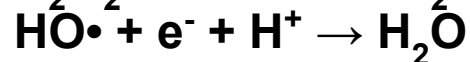
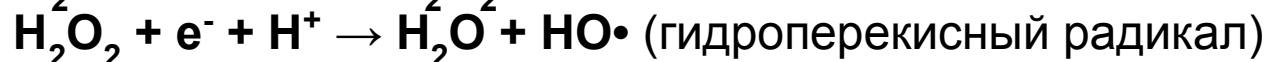
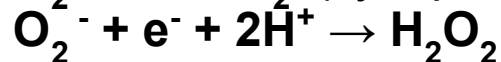
К активным формам кислорода относят:

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

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

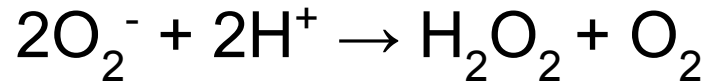


- Но присоединение электронов происходит поэтапно и при этом образуются АФК.

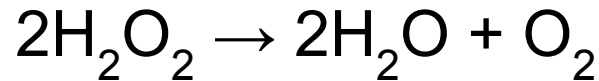


Вспомогательные ферменты тканевого дыхания

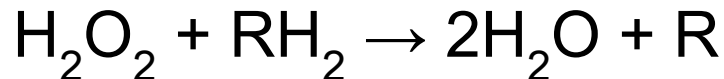
- 1) **Супероксиддисмутаза** (превращает супероксидные радикалы в менее токсичную перекись водорода);



- 2) **Каталаза**



- 3) **Пероксидаза**



Роль каталазы и пероксидазы – разрушение перекиси водорода.

Владимир Петрович Скулачев

(род. 21 февраля [1935](#), [Москва](#))

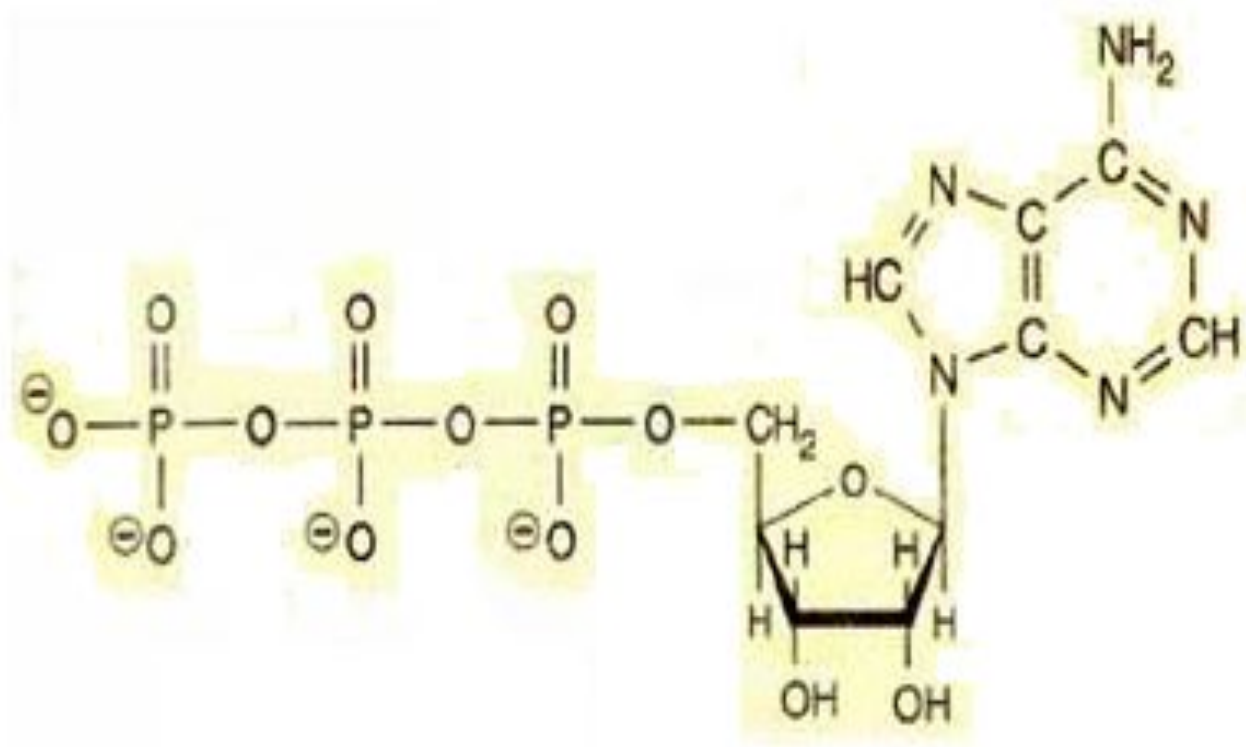
Направление научной деятельности

Механизмы биологического окисления: трансформации химической энергии в электрическую на мембранах митохондрий, роли мембранного потенциала как фактора, сопрягающего освобождение и аккумуляцию энергии в клетке.

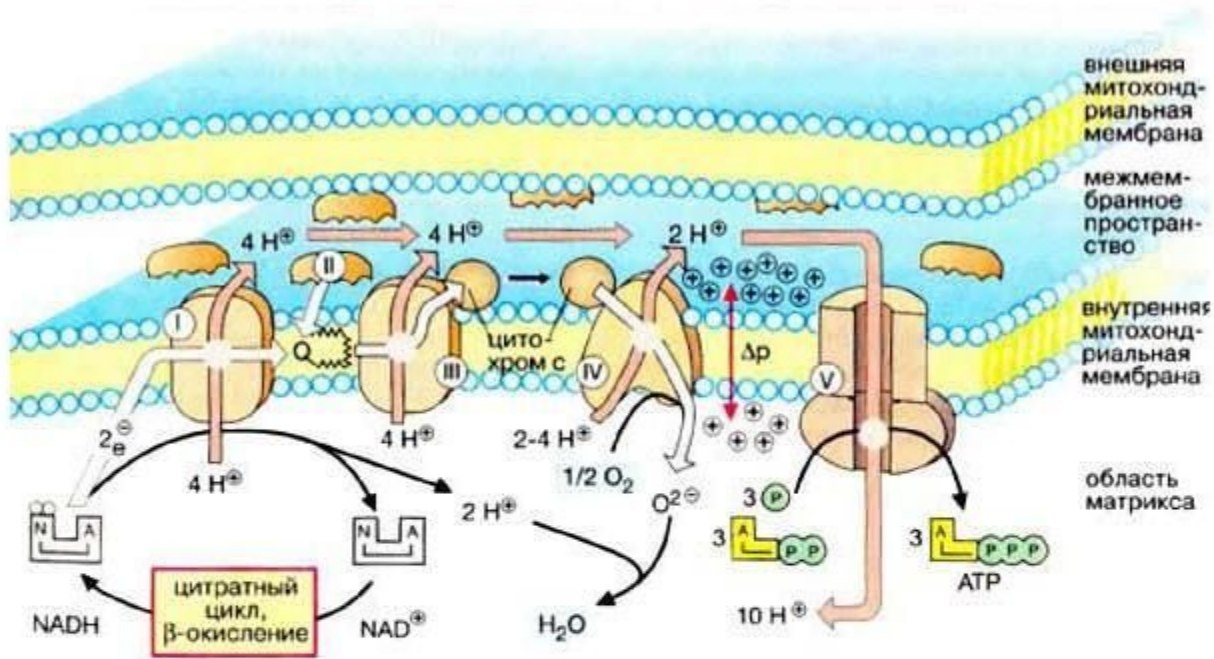
С 2005 года возглавляет проект по созданию препарата — геропротектора на основе митохондриально-адресованных антиоксидантов.



АТФ - аденозинтрифосфат



Энергетический обмен



Б. Организация дыхательной цепи

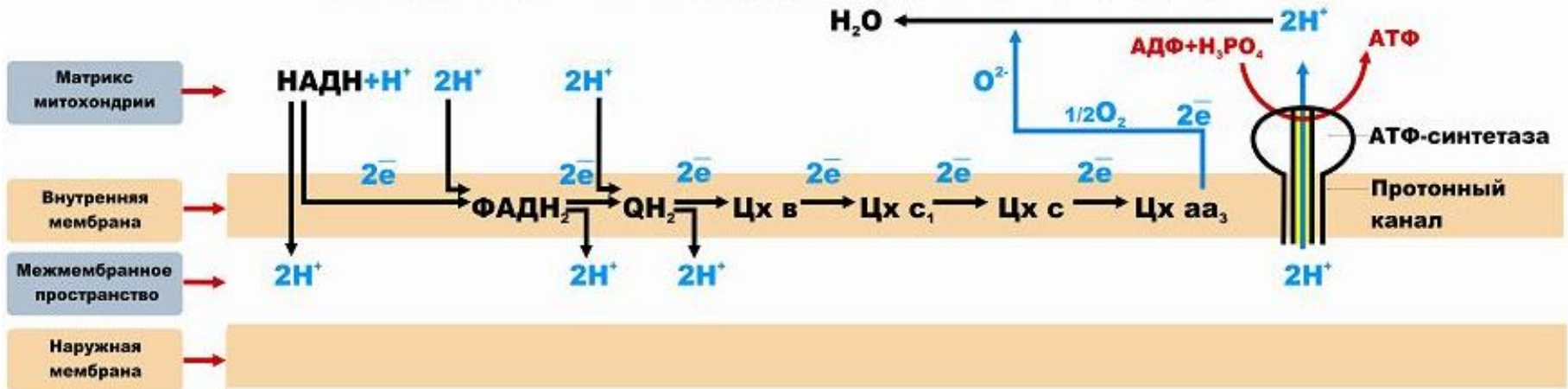
E ⁰ , В	Комплекс I
-0,3	NADH- дегидрогеназа (убихинон) 1.6.5.3
	700-800 кДа, 25-30 субъединиц, 1 FMN, 2 Fe ₂ S ₂ , 4 - 5 Fe ₄ S ₄
	Комплекс II
+0,1	сукцинатдегидрогеназа 1.3.5.1
	125 кДа, 4-6 субъединиц, 1 FAD, 1 Fe ₂ S ₂ , 1 Fe ₄ S ₄ , 1Fe ₃ S ₄ 2 убихинона, 1 гем b
	Комплекс III
+0,3	убихинол-цитохром с-редуктаза 1.10.2.2
	~400 кДа, 11 субъединиц 2 Fe ₂ S ₂ , 2 гема b, 1 гем c ₁
	Комплекс IV
+0,8	цитохром с-оксидаза 1.9.3.1
	~200 кДа, 8-13 субъединиц, 2 Cu, 1 Zn, 1 гем a, 1 гем a ₃
	Комплекс V
	H ⁺ -транспортирующая ATP-синтаза 3.6.1.34
	> 400 кДа, 8-14 субъединиц

⇨ поток электронов
⇨ поток протонов

А. Компоненты дыхательной цепи

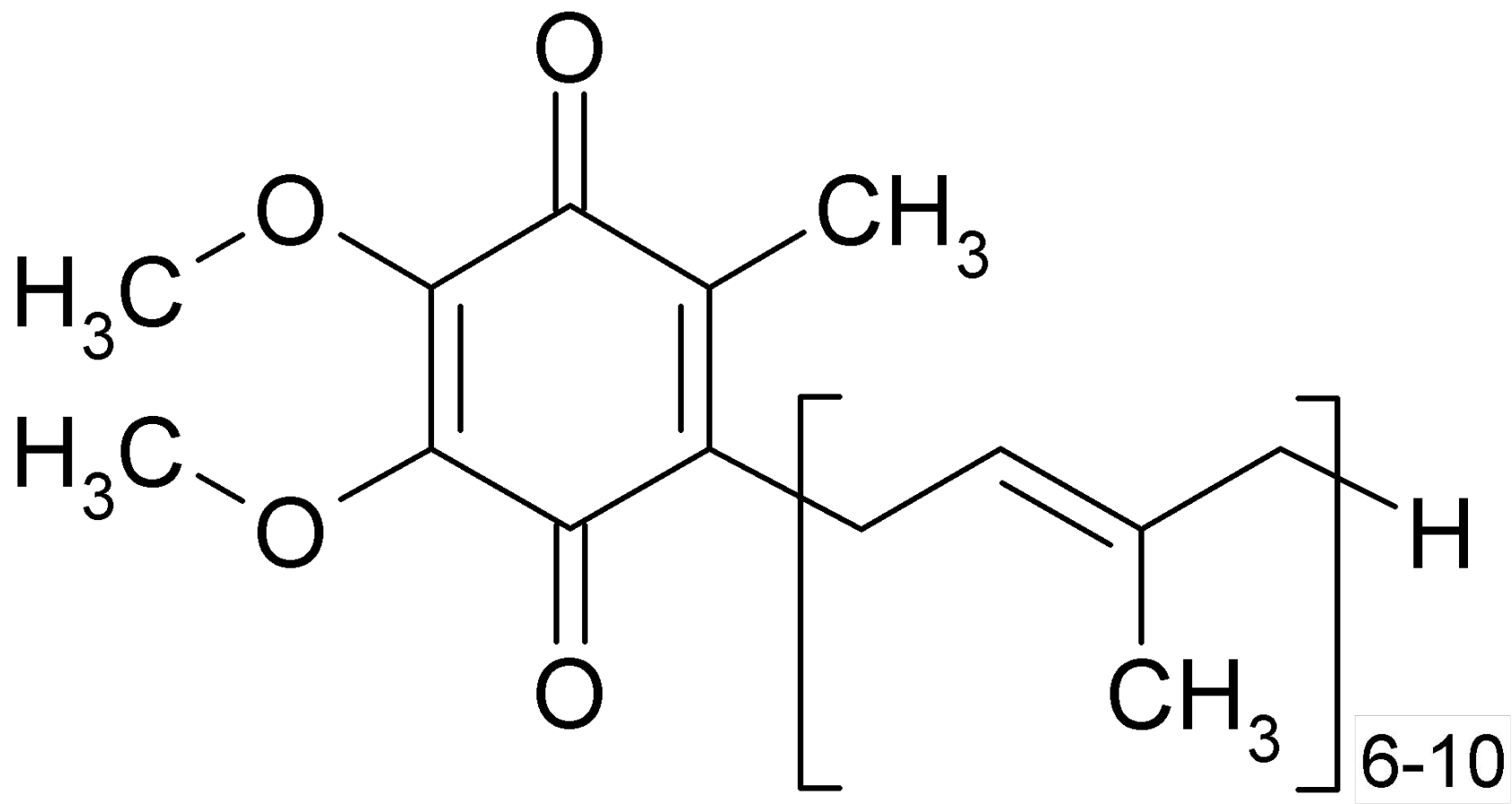
Теория окислительного фосфорилирования Митчела

Трансмембранный перенос протонов и синтез АТФ



- Тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование протекают сопряженно благодаря работе внутренней (сопрягающей) мембраны митохондрий
- АТФ-синтетаза активируется за счет движения протонов по протонному каналу.
- Протонный канал закрыт.
- Открывается тогда, когда накапливается достаточное количество протонов водорода в межмембранном пространстве и трансмембранный потенциал на внутренней мембране достигает величины 0,2 В.

Убихинон



Биохимические процессы протекающие в матриксе митохондрий и передающие водород в дыхательную цепь

1. Цикл Кребса.
2. Бета-окисление ВЖК.
3. Превращение пирувата в ацетил-КоА.

Таблица 9.1. Окислительно-восстановительный потенциал компонентов дыхательной цепи в стандартных условиях (концентрация компонентов 1М, рН 7,25°С)

Восстановленная форма	Окисленная форма	E° , В
НАДН + H^+	НАД ⁺	-0,32
ФАДН ₂	ФАД ⁺	-0,05
Убихинол (КоQ-H ₂)	Убихинон	+ 0,04
Цитохром <i>b</i> (Fe ²⁺)	Цитохром <i>b</i> (Fe ³⁺)	+ 0,07
» <i>c</i> ₁ (Fe ²⁺)	» <i>c</i> ₁ (Fe ³⁺)	+ 0,23
» <i>c</i> (Fe ²⁺)	» <i>c</i> (Fe ³⁺)	+ 0,25
» <i>a</i> (Fe ²⁺)	» <i>a</i> (Fe ³⁺)	+ 0,29
» <i>a</i> ₃ (Fe ²⁺)	» <i>a</i> ₃ (Fe ³⁺)	+0,55
H ₂ O	$\frac{1}{2}O_2$	+ 0,82

Гипоэнергетические состояния

Причины:

- **алиментарные** (голодание, гиповитаминозы РР, В2);
 - **гипоксические** (нарушения доставки O₂ в клетки);
 - **митохондриальные** (действие ингибиторов и разобщителей; митохондриальные болезни)
- **ингибиторы тканевого дыхания**
 - **ингибиторы окислительного фосфорилирования**
 - **разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования**

В живых клетках АФК образуются:

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

Негативное воздействие свободных радикалов на организм

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

Положительное воздействие свободных радикалов на организм:

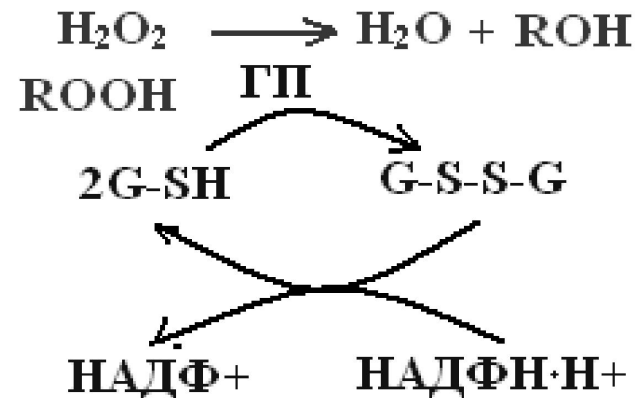
- **Обновление липидного состава мембран;**
- **Из арахидоновой кислоты образуются**
- **простагландины (ПГ) и их производные**
- **(простациклины и тромбоксаны,**
- **лейкотриены);**
- **Обезвреживание ксенобиотиков и токсичных**
- **продуктов метаболизма**
- **Функционирование иммунной системы**
-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

Антиоксидантная защита

- Неферментативная защита.
- Важнейшим компонентом является *витамин E (токоферол), витамин размножения.*
- *Токоферол защищает* ненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран от перекисного окисления
- Предохраняет от окисления SH-группы мембранных белков
- Защищает от окисления двойные связи в молекулах каротинов и витамина А.
- Токоферол (совместно с витамином С) способствует включению селена в состав активного центра глутатионпероксидазы — важнейшего фермента антиоксидантной защиты клеток.
- Контролирует синтез гема, цитохромов.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА КЛЕТКИ ОТ АФК

- **Супероксиддисмутаза** (превращает супероксидные радикалы в менее токсичную перекись водорода);
- **Каталаза** (разлагает перекись водорода на воду и кислород);
- **Система глутатиона:** трипептид глутатион (Г – SH), глутатионпероксидазу (ГП), глутатионредуктазу (ГР), НАДФН·Н⁺, селен.



Основные постулаты теории П. Митчела

(Нобелевская премия 1978 г.)

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