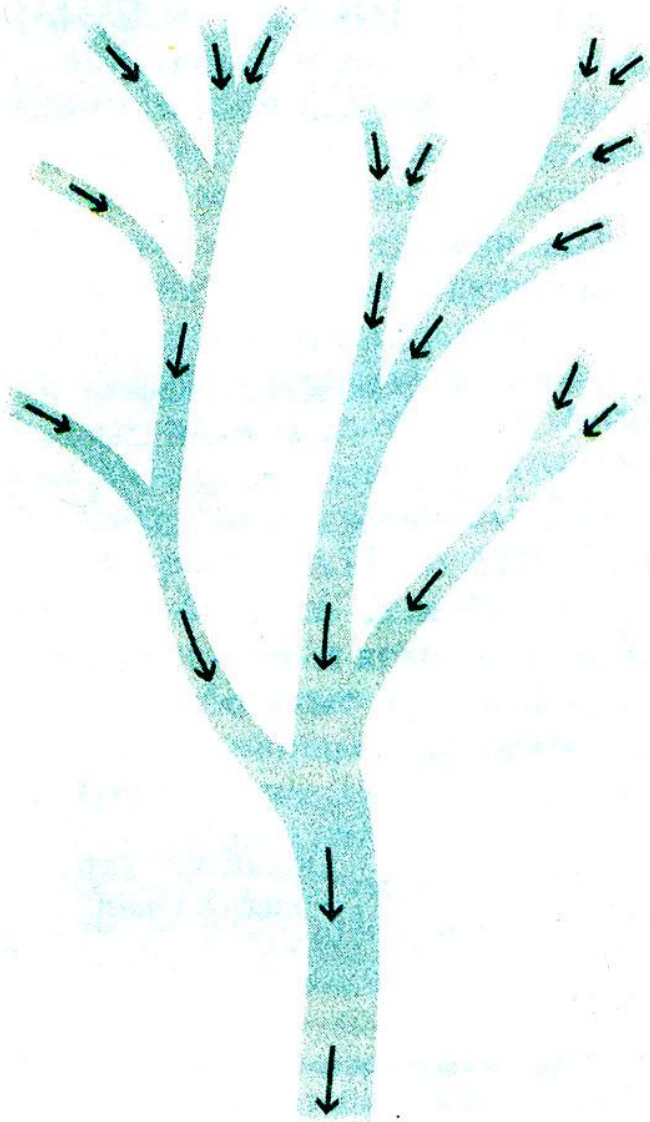


Метаболизм. Взаимосвязь различных путей обмена веществ.

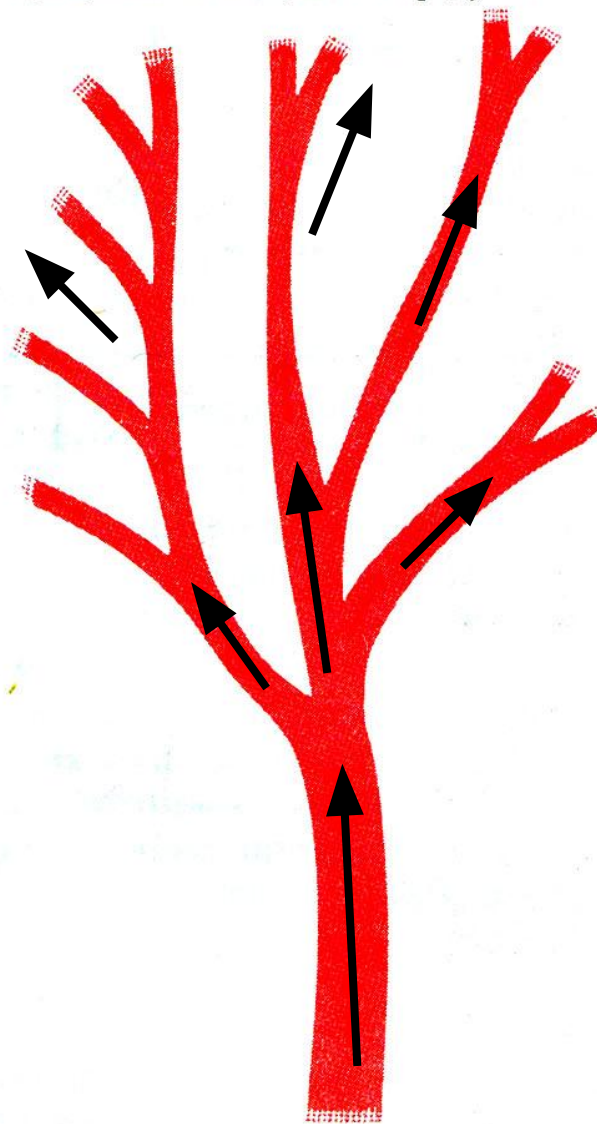
- **Метаболизм** – совокупность химических превращений, катализируемых ферментами.
- Реакции **внешнего обмена** (внеклеточный компартмент).
- Реакции **промежуточного обмена** (внутриклеточный компартмент).
- **Две стороны обмена**: **Катаболизм** (диссимиляция, энергетический обмен); **Анаболизм** (ассимиляция, пластический обмен). Взаимосвязаны **анаплеротическими** (пополняющими) реакциями, когда метаболиты одного пути служат субстратами для другого: **глю** \square **ПВК + CO₂** \square **ОА** \square ЦТК и **амфиболическими**, объединяющими пути синтеза и распада (**ПФП, ЦТК**).

Сходящиеся катаболические пути



Конечные продукты катаболизма

Расходящиеся биосинтетические пути – из небольшого числа предшественников образуется много разных продуктов



Предшественники продуктов биосинтеза

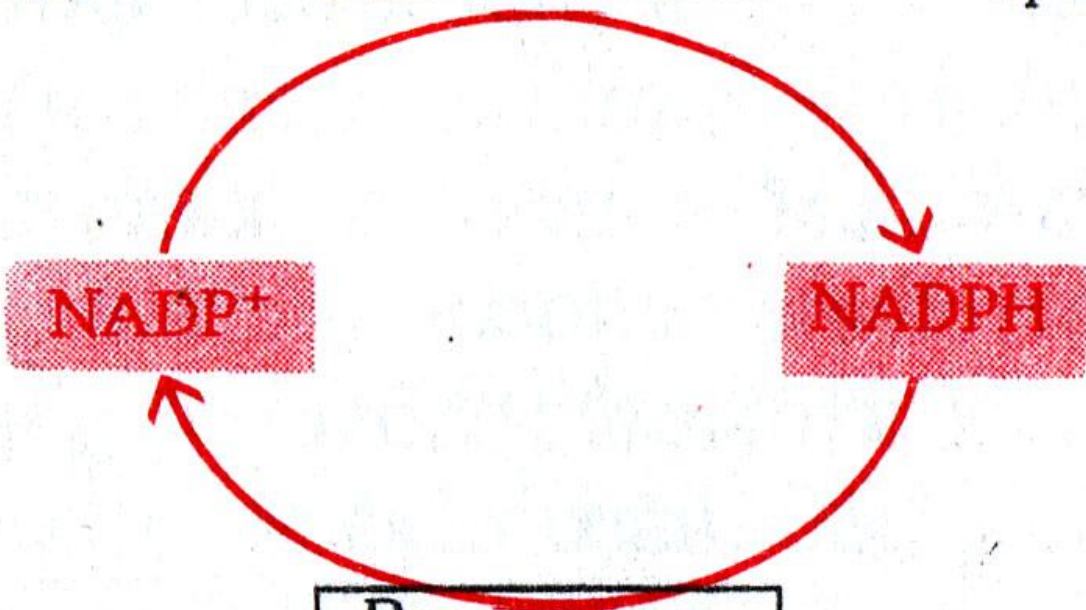
Восстановленное
клеточное топливо



Катаболизм



Окисленный
продукт



NADP⁺

NADPH

Восстановленный
продукт биосинтеза



Восстанови-
тельные био-
синтетические
реакции



Окисленный
предшественник

Основные характеристики метаболизма клеток млекопитающих

- **Гетеротрофы**
- **Аэробы** (факультативные или облигатные). Акцептором электронов являются органические вещества и (или) в конечном итоге – **O₂**.
- Источник **углерода** – глюкоза, источник **азота** – аминокислоты.

Функции метаболизма

- **Аккумуляция энергии** в макроэргических связях АТФ.
- **Использование энергии АТФ** для биосинтеза de novo молекул (химическая работа), а также осмотической, электрической, механической работы.
- **Распад и синтез обновляемых структурных компонентов клеток.**
- Синтез и распад молекул «специального» назначения (гормонов, медиаторов, кофакторов).

Все механизмы регуляции направлены на **поддержание гомеостаза и адаптацию** к изменяющимся условиям внешней и внутренней среды

- Способы регуляции скорости ферментативных реакций:
- **Изменение каталитической активности** ферментов (аллостерическая или ковалентная модификация ключевых ферментов метаболизма)
- **Изменение количества ферментных молекул** (конститутивные и адаптивные ферменты)
- **Компартментализация** метаболических процессов.

Взаимосвязь обменов:

Углеводы – липиды:

- «Лишние» **углеводы** обеспечивают **синтез липидов** (образование глицерол-3- фосфата, ацетил-КоА, НАДФН)
- **глицерин** – субстрат для **глюконеогенеза**.
- «**жиры** сгорают в пламени **углеводов**»: основным источником оксалоацетата является пируват.

Взаимосвязь обменов:

- **Белки – липиды:**
- Запас **нейтральных липидов** предотвращает использование **белков** на энергетические нужды.
- **Аминокислоты** \square ацетил-КоА \square **биосинтез жирных кислот**
- **Глицерин** \square ГАФ \square ПВК \square **Аминокислоты**
- **Серин, метионин** - участвуют в биосинтезе **фосфолипидов**
- **Глицин. таурин** – участвуют в синтезе **желчных кислот (переваривание липидов).**

Взаимосвязь обменов

- **Белки – углеводы:**
- **Гликогенные аминокислоты** (кроме лиз и лей)
- Основной путь синтеза заменимых аминокислот – реакции переаминирования или восстановительного аминирования кетокислот (т.е. источник углерода для биосинтеза – **глюкоза!**)
- **ПФП превращения глюкозы** – источник рибозы и НАДФН для биосинтеза нуклеотидов, а значит нуклеиновых кислот и **белков**.
- **ЦТК** □ **сукцинил-КоА** □ биосинтез **порфиринов** для гемо- миоглобина, цитохромов, каталазы) .

Роль нуклеотидов в обмене веществ

- **Адениловые нуклеотиды** обеспечивают энергетический потенциал клеток
- **УТФ** участвует в обмене углеводов
- **ЦТФ** участвует в биосинтезе фосфолипидов
- **ГТФ** участвует в трансляции
- **АМФ** является структурным компонентом НАД, ФАД, Ко-А
- **Циклические нуклеотиды** – вторичные мессенджеры гормонов
- **ФАФС и УДФ-глюкуронат** образуют парные соединения, обезвреживая токсины

Этапы энергетического обмена

- 1. Крупные «пищевые» молекулы **гидролизуются** до мономеров: **аминокислот, жирных кислот, моносахаров.**
- 2. Специфические **дегидрогеназы** окисляют эти вещества до **пирувата, ацетил-КоА, кетоглутарата, сукцината, оксалоацетата.**
- 3. Эти универсальные «субстраты дыхания» **окисляются до CO₂** в ЦТК.
- 4. **НАДН и ФАДН₂** поставляют протоны и электроны во внутреннюю мембрану МХ, восстанавливают кислород до **H₂O** и создают условия для фосфорилирования АДФ до **АТФ.**

Унификация клеточного «топлива»

- В процессе основных путей катаболизма - **гликолиза, окислительного дезаминирования, β – окисления, ЦТК** образуется ограниченное количество универсальных «топливных» молекул: **ацетил-КоА, метаболитов ЦТК.**

Основные этапы адаптации организма к голоданию

- **Суточная потребность** в энергетических ресурсах в зависимости от физической нагрузки составляет **1600 – 6000 ккал.**

Метаболические запасы составляют: 40 ккал – глюкоза; 1600 ккал – гликоген; 135 000 ккал – нейтральный жир; 24 000 ккал – белок.

Адаптация к голоданию

- **Голодание** (равно как любой стресс или диабет) приводит к повышению уровня **катехоламинов, глюкагона, глюкокортикоидов, тиреоидов** при одновременном снижении **инсулина**.
- Этот гормональный статус обеспечивает поддержание концентрации глюкозы в крови не $< 2 - 2,5$ ммоль/л и сохранение азотистого баланса.
- Метаболическая ситуация при этом характеризуется **усилением глюконеогенеза в печени, липолиза в адипоцитах, протеолиза в мышцах**.

1- ая фаза голодания (1сутки)

- На начальном этапе уровень глюкозы крови (особенно важный для нейронов и эритроцитов) поддерживается **запасами гликогена печени**.
- Далее предшественниками для **глюконеогенеза** становятся **глицерин** (продукт липолиза) и **аминокислоты**, как продукт протеолиза мышечных белков (глюкозо-аланиновый цикл).
- **Проблема сохранения мышечной массы и азотистого баланса!!!**

2-ая фаза голодания (1 –ая неделя)

- Гормональная ситуация приводит к **адаптивному переключению энергетического обмена** с преимущественно углеводного типа на липидный. Основными источниками энергии становятся жирные кислоты.
- Концентрация СЖК в крови увеличивается в 3 -4 раза, кетоновых тел – в 10 – 15 раз.
- Низкое содержание глюкозы (ПВК и ОА) приводит к накоплению ацетил-КоА и цитрата, торможению гликолиза (сохранение глюкозы!) и **усилению кетогенеза!!!**. **Мозг и сердце на 1/3 удовлетворяют свои потребности в энергии за счет кетоновых тел.**

3 – я фаза голодания (1 – 3 месяца)

- Усиление кетогенеза предотвращает использование аминокислот (**Но! метаболический ацидоз!**).
- **Продолжительность голодания определяется запасом ТАГ.** Затем следует утилизация аминокислот для глюконеогенеза.
- **Терминальная стадия голодания характеризуется отрицательным азотистым балансом** (распадается > 20 г белка и выделяется 3 г мочевины в сутки). Атрофия тканей.

Биоэнергетика изучает процессы превращения энергии в живом организме.

- **Биологическое окисление** (тканевое дыхание) – процессы, протекающие с участием **кислорода ???**
- **Главный вопрос биоэнергетики: как энергия окисления органических веществ трансформируется в энергию связей АТФ?**

История учения о биоокислении

- 18 век, **А.Лавуазье**: « Дыхание – медленное горение»
- 1920 - е г., **А.Н.Бах**. Перекисная теория активации кислорода. Открытие оксигеназ и пероксидаз.
- 1930 - е г., **О.Варбург, Д.Кейлин**. Открытие цитохромов (гемсодержащих ферментов), взаимодействующих с кислородом.
- **В.И.Палладин** : «**окисление – м.б. отнятие водорода!**» Открытие флавинсодержащих ферментов.
- **Г.Вилланд, О.Варбург. В. Христиан**. Открытие никотинсодержащих дегидрогеназ.

История учения о биоокислении

- **Биологическое окисление** – **отнятие водорода** от субстратов и **передача его** через серию посредников **на кислород** с образованием **воды**.
- **90% O₂ утилизируется МХ цепью** ферментов (фосфорилирующее окисление)
- **10% O₂ – митохондриальное окисление** (нефосфорилирующее), O₂ внедряется в окисляемую молекулу.

Аккумуляция энергии в клетке:

- **НАДН, ФАДН₂, НАДФН**
- **АТФ** (реже другие нуклеозидтрифосфаты)
- **Внутренняя мембрана митохондрий, функционирующая как конденсатор, где разделяются заряженные атомы и молекулы.**

НАДН, НАДФН, ФАДН₂

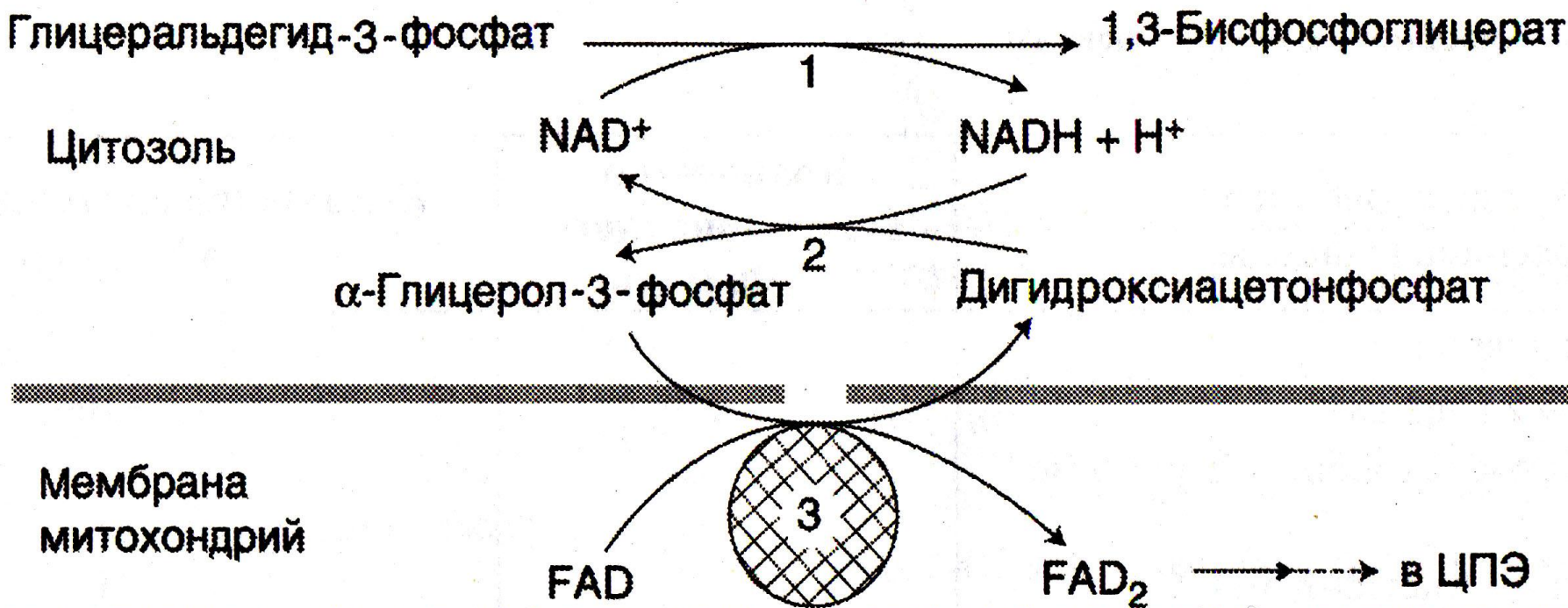
- Восстановленные эквиваленты образуются при окислении органических субстратов; **НАДН** и **ФАДН₂** реокисляются в дыхательной цепи МХ, **НАДФН** использует восстановительный потенциал в реакциях биосинтеза, обезвреживания, антиперекисной защиты.
- Подавляющее большинство восстановленных эквивалентов образуется в матриксе МХ (окисление ПВК, аминокислот, жирных кислот, ЦТК).
- Доставка цитоплазматических восстановленных эквивалентов требует специального транспорта (**челночные механизмы**), т.к. пулы цитоплазматические и митохондриальные разделены!

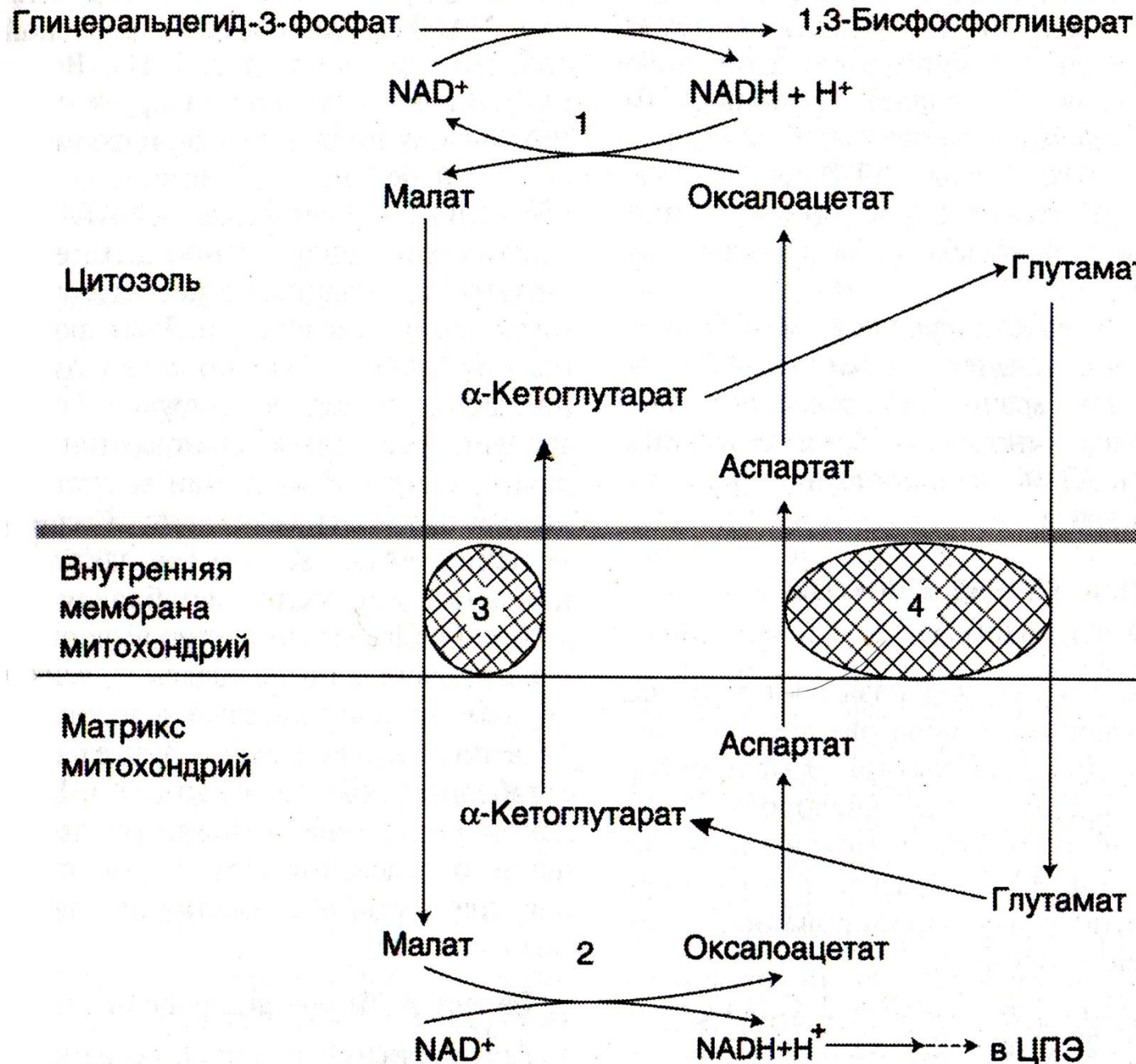
Роль НАДФН в метаболизме

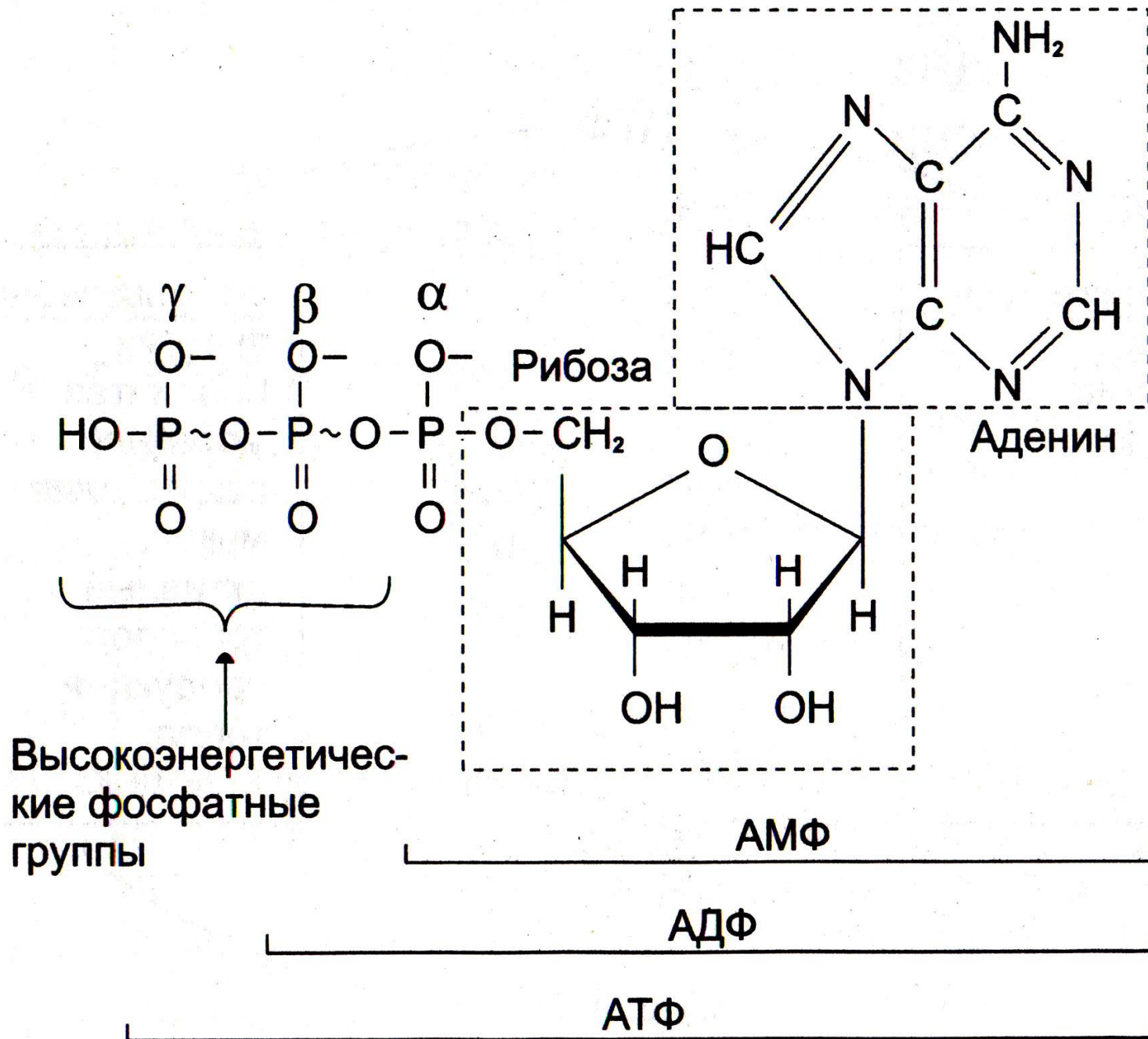
- 1. Восстановительные синтезы аминокислот, нуклеотидов, жирных кислот, холестерина, стероидов, желчных кислот.
- 2. Десатурация жирных кислот
- 3. Кофактор Met – Hb редуктазы
- 4. Кофактор глутатион-редуктазы
- 5. Участие в микросомальном окислении

Челночные механизмы транспорта

- Восстановленные эквиваленты, образующиеся в цитозоле, например при окислении глицеральдегид-3 фосфата попадают в МХ компартмент непрямым путем: **с помощью НАДН в цитозоле образуются вещества проникающие в МХ.**
- **Наиболее активна малат-аспартатная челночная система (печень, почки, миокард).**
- **В скелетных мышцах и мозге – глицерофосфатный челнок. При этом глицерофосфат окисляется в МХ с помощью ФАД.**







Почему именно **адениловые нуклеотиды** составляют энергетический потенциал клеток?

- Адениловые нуклеотиды более устойчивы к химическим и физическим факторам среды (УФ), обладают наибольшей скоростью обмена концевых остатков фосфорной кислоты.
- При калорийности суточного рациона 2- 3 тыс. ккал и 50% КПД, этой энергии достаточно для образования 120 молей АТФ (М.м. 540 г).; таким образом ежедневно в организме синтезируется и распадается около **50 -60 кг АТФ**.
- Содержание свободных адениловых нуклеотидов в организме не более **3 - 4 г**, т.е. происходит постоянное фосфорилирование и гидролиз.
- Запаса АТФ практически нет, его хватает на секунды активной мышечной работы.
- Интенсивность распада АТФ стимулирует скорость его синтеза.
- **АТФ – не форма депонирования химической энергии, только временное ее аккумулирование.**

Содержание адениловых нуклеотидов к клетке

- **АДФ + Ф \rightarrow [АТФ] \rightarrow АДФ + Ф_n (АМФ + ФФ)**
- Синтез АТФ: субстратное или окислительное фосфорилирование.
- **Оба механизма – по сути окислительные.**
- **Субстратное сопряжено с реакциями гликолиза или ЦТК и образованием промежуточных макроэргов: дифосфоглицерата, фосфоэнолпирувата, сукцинил-КоА.**
- **Окислительное сопряжено с дыханием и работой внутренней мембраны МХ, промежуточных посредников нет.**



Глюкоза

Промежуточные продукты
(сверхвысокоэнергетические
соединения)

3-фосфоглицероил-
фосфат

→ АТФ

Фосфоенолпируват

→ АТФ

Лактат

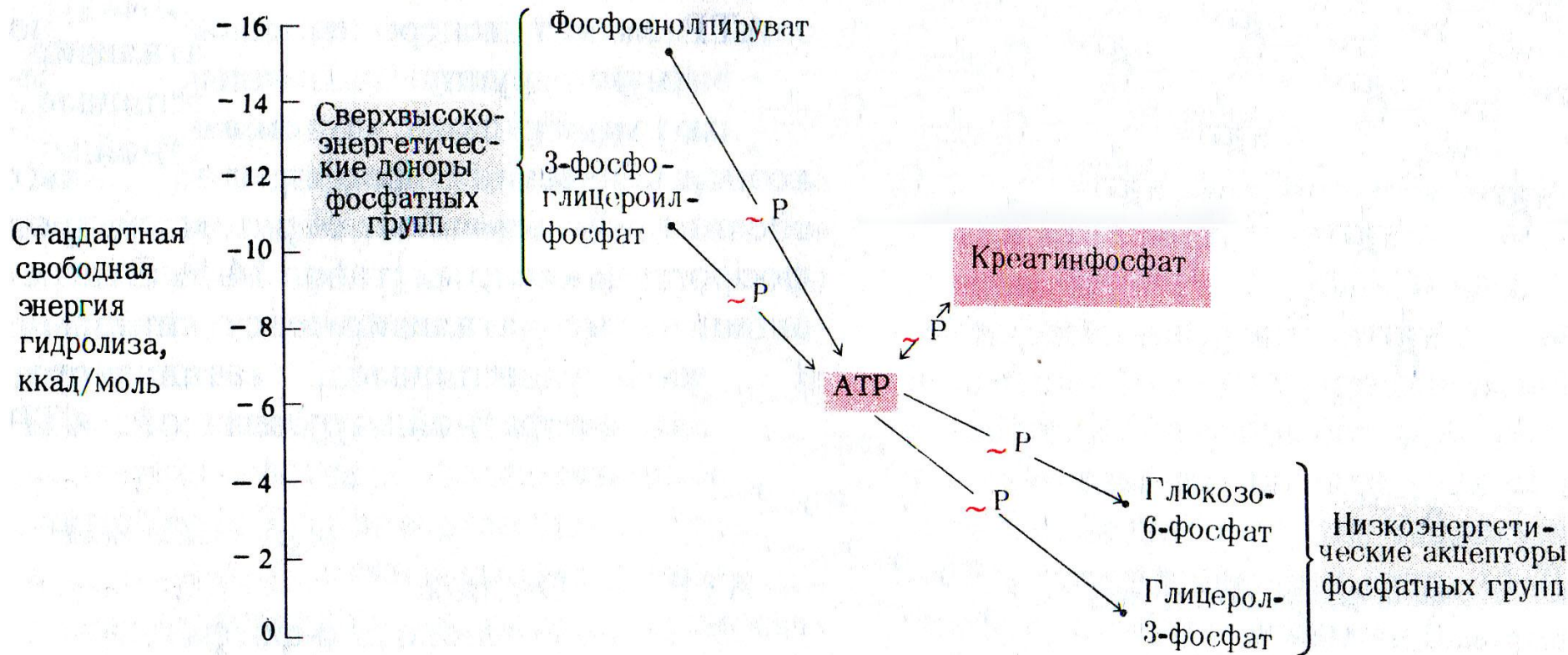


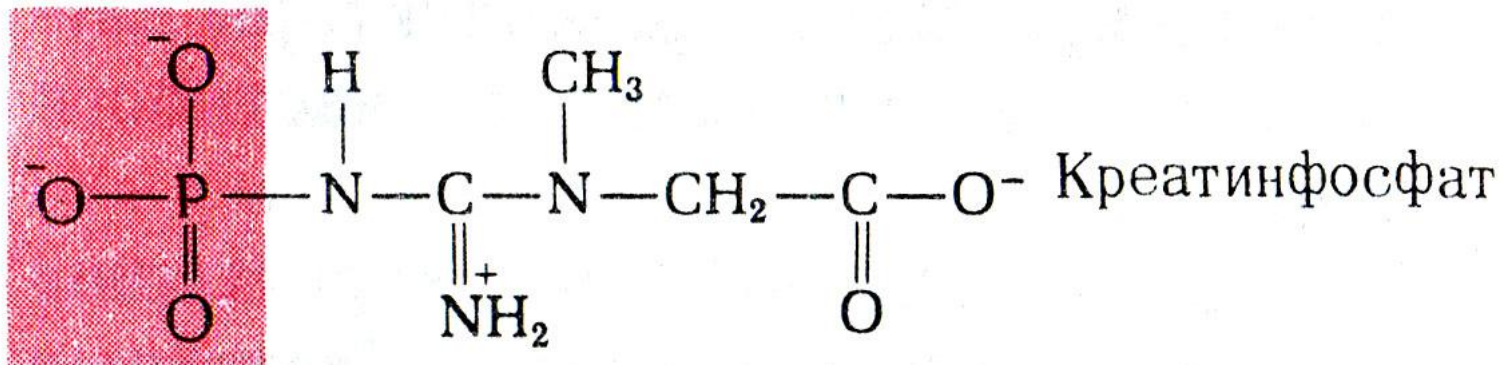
Таблица 14-5. Стандартная свободная энергия гидролиза некоторых фосфорилированных соединений

	$\Delta G^{0'}$, ккал/моль
Фосфоенолпируват	- 14,8
3-фосфоглицероилфосфат (\rightarrow 3-фосфоглицерат + P_i)	- 11,8
Креатинфосфат	- 10,3
ADP (\rightarrow AMP + P_i)	- 7,3
ATP (\rightarrow ADP + P_i)	- 7,3
AMP (\rightarrow Аденозин + P_i)	- 3,4
Глюкозо-1-фосфат	- 5,0
Фруктозо-6-фосфат	- 3,8
Глюкозо-6-фосфат	- 3,3
Глицерол-1-фосфат	- 2,2

Свободная энергия гидролиза некоторых органических фосфатов

Соединение	Продукты реакции	$-\Delta G^0$, ккал/моль	$-\Delta G^0$, кДж/моль
Фосфоенолпируват	Пируват + H_3PO_4	14,8	61,86
1,3-Бисфосфоглицерат	3-фосфоглицерат + H_3PO_4	13,0	54,34
Карбамоилфосфат	Карбамат + H_3PO_4	12,0	51,83
Креатинфосфат	Креатин + H_3PO_4	10,3	43,05
Ацетилфосфат	Уксусная кислота + H_3PO_4	10,3	43,05
АТФ	АДФ + H_3PO_4	7,3	30,51
АДФ	АМФ + H_3PO_4	6,6	27,59
Дифосфат($H_4P_2O_7$)	2 H_3PO_4	6,6	27,59
Глюкозо-1-фосфат	Глюкоза + H_3PO_4	5,0	20,90
Фруктозо-6-фосфат	Фруктоза + H_3PO_4	3,8	15,88
Глюкозо-6-фосфат	Глюкоза + H_3PO_4	3,3	13,79
Глицеролфосфат	Глицерин + H_3PO_4	2,2	8,36



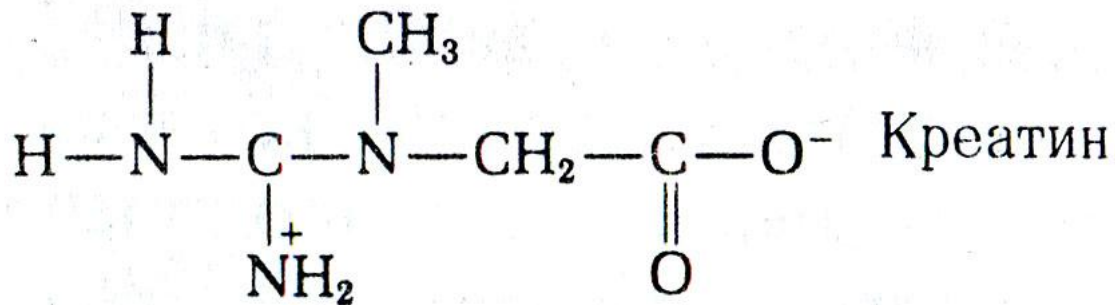


+

ADP



Креатинкиназа



+

ATP

Гипотезы сопряжения окисления и фосфорилирования

- Липман, 1946г., Слэйтер, 1953г.
- **Гипотеза химического сопряжения**
- Перенос \bar{e} сопряжен с адениловой системой через образование промежуточных макроэргических соединений (подобно субстратному фосфорилированию)

Гипотеза химического сопряжения

- $AH_2 + B + X \rightleftharpoons A + BH_2 \rightleftharpoons X$
- $BH_2 \rightleftharpoons X + V \rightleftharpoons BH_2 + X \rightleftharpoons V$
- $X \rightleftharpoons V + P_H \rightleftharpoons X + V \rightleftharpoons P_H$
- $V \rightleftharpoons P_H + АДФ \rightleftharpoons АТФ + V$
- X м.б. O_2 , Na, Ca; V м.б. P, C
- **Однако, в МХ не обнаружено никаких макроэргов кроме адениловых нуклеотидов.**

Гипотеза конформационного сопряжения

- **Бойер, 1964; Ленинджер, 1966; Грин, 1970г.**
- Транспорт \bar{e} по внутренней мембране МХ вызывает ее конформационные изменения, она приобретает «напряженную» структуру (**энергизованная мембрана**). «Релаксация» мембраны передает энергию конформационного напряжения АТФ-синтетазе, встроенной в эту мембрану.
- **Электронно-микроскопические исследования подтверждают «уплотнения» крист МХ при добавлении субстратов дыхания, АДФ и Рн .**
- **Старение МХ, действие детергентов, снижение скорости дыхания вызывает «набухание» МХ.**

Хемиоосмотическая гипотеза

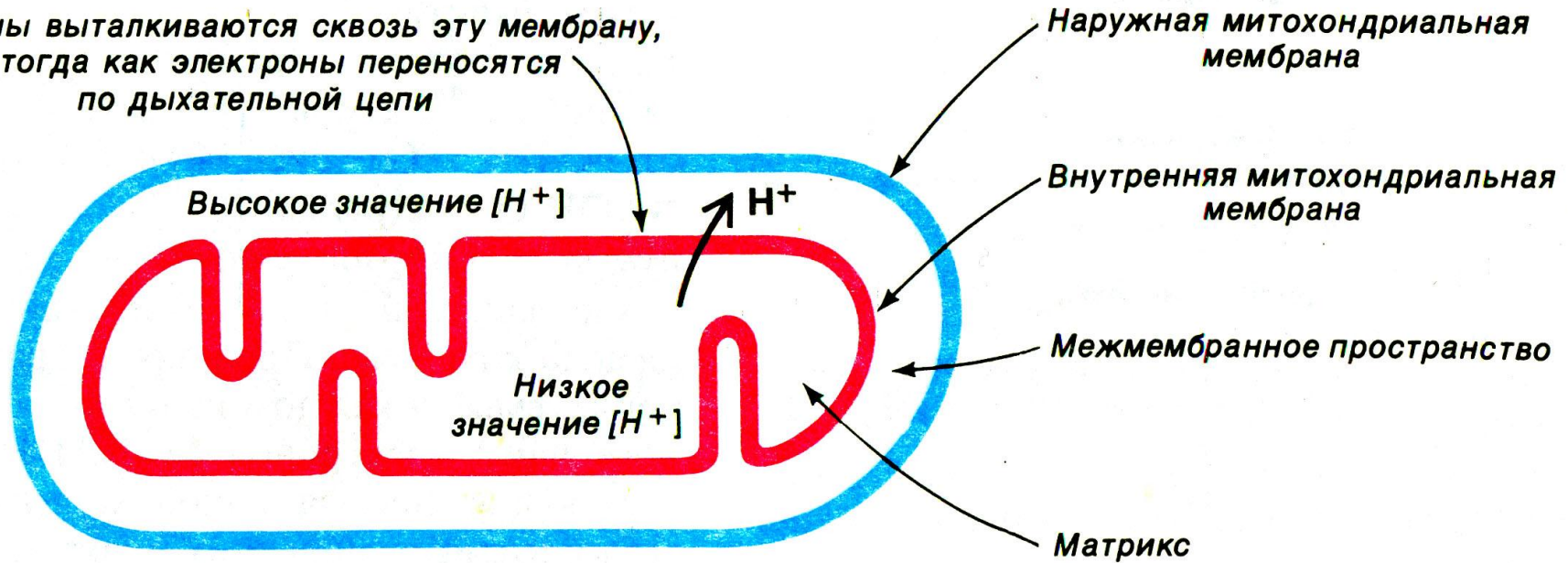
- Митчелл, 1961
- Перенос e^- вдоль внутренней мембраны сопровождается выкачиванием H^+ из матрикса МХ в наружную среду. Энергия этого трансмембранного протонного градиента используется на синтез АТФ.

Доказательства

хемиосмотической гипотезы

- 1. В МХ **нет высокоэнергетических посредников**, связывающих перенос e^- с биосинтезом АТФ.
- 2. Для окислительного фосфорилирования необходима пространственная **замкнутость внутренней мембраны МХ**.
- 3. Большое значение имеет **разница в ионной силе и концентрации ионов** с наружной и внутренней стороны мембраны.
- 4. Заряд внутренней мембраны имеет **электрохимическую и концентрационную** (осмотическую) составляющую.
- 5. Окислительное фосфорилирование **предотвращается «разобщителями»**

Протоны выталкиваются сквозь эту мембрану, тогда как электроны переносятся по дыхательной цепи



Наружная митохондриальная мембрана

Внутренняя митохондриальная мембрана

Межмембранное пространство

Матрикс

Высокое значение $[H^+]$

H^+

Низкое значение $[H^+]$

Дыхательная цепь ферментов осуществляет окислительно-восстановительные реакции, перенося \bar{e} от одной молекулы к другой и в конечном итоге – на O_2 восстанавливая его до H_2O .

- **НАДН** – поставляет \bar{e} в виде гидрид – иона ($:H^-$);
- **ФАДН₂ и КоQ** - $2\bar{e}$ и $2 H^+$ (2 атома водорода);
- **цитохромы и Fe – S центры** – только \bar{e} .

Структура дыхательной цепи МХ

- **I комплекс: НАДН –КоQ дегидрогеназа:**
кофакторы FMN и Fe-S белки
- **II комплекс: FADH₂ – КоQ дегидрогеназа:**
- **III комплекс: КоQ – цитохром С**
дегидрогеназа: (через цитохромы в и с₁
и Fe – S)
- **IV - комплекс: цитохром аа₃ – оксидаза**
(через Cu²⁺)

Никотинамидные дегидрогеназы

- Более сотни субстратов окисляются через **НАД**. Основное количество **НАДН** образуется при окислении **изоцитрата, малата, гидроксиацил-КоА, гидроксибутирата, глутамата.**
- НАД-ДГ слабо связаны с апоферментом
- $\text{SH}_2 + \text{НАД}^+ \rightleftharpoons \text{S} + \text{НАДН} + \text{H}^+$
- **Фиксирует в никотинамиде гидрид-ион**
- НАДФН поставляет протоны и \bar{e} в дыхательную цепь также через НАДН:
- $\text{НАДФН} + \text{НАД}^+ \rightleftharpoons \text{НАДФ}^+ + \text{НАДН}$

Флавінзависимые дегидрогеназы

- Коферментную функцию выполняют **ФМН** или **ФАД** (производные **рибофлавина**)
- Прочно связаны с белковой частью ферментов.
- $\text{SH}_2 + \text{FAD}^+ \rightarrow \text{S} + \text{FADH}_2$
- Фиксируют в изоаллоксазиновом центре **2 H⁺ и 2 e⁻**.
- **ФАДН₂ образуется при окислении глицеролфосфата, сукцината, жирных кислот.**

Убихинон (КоQ)

Повсеместно распространенное производное бензохинона.

Гидрофобное, низкомолекулярное вещество, не связанное с белком (кофермент), способное мигрировать в пределах мембраны.

Принимает восстановленные эквиваленты от флавопротеинов I и II комплексов и передает на цитохромы в дыхательной цепи, превращаясь в гидрохинон.

Цитохромы

- **Гемсодержащие белки** (15-45 кДа), простетические группы - **гем b или a**, отличающиеся строением боковых радикалов порфириновой группировки.
- Цитохромы aa_3 содержат еще атомы **Cu⁺⁽²⁺⁾**.
- Функциональноактивный центр цитохромов **железо** гема с **переменной валентностью** (в отличие от железа Hb).
- Функция цитохромов в дыхательной цепи - **перенос \bar{e}** (CoQH₂ \square цит.b \square цит.c₁ \square цит. c \square цит. aa_3 \square O₂).

Железосерные белки

- **Низкомолекулярные белки, содержащие негемовое железо и неорганическую серу** ($2\text{Fe} - 2\text{S}$; $4\text{Fe} - 4\text{S}$). Атом железа связан с атомом серы и группами белковой части.
- **Как и цитохромы осуществляют одноэлектронный транспорт.** Входят в состав разных комплексов вместе с флавопротеинами и цитохромами.

Создание градиента ионов на внутренней мембране МХ

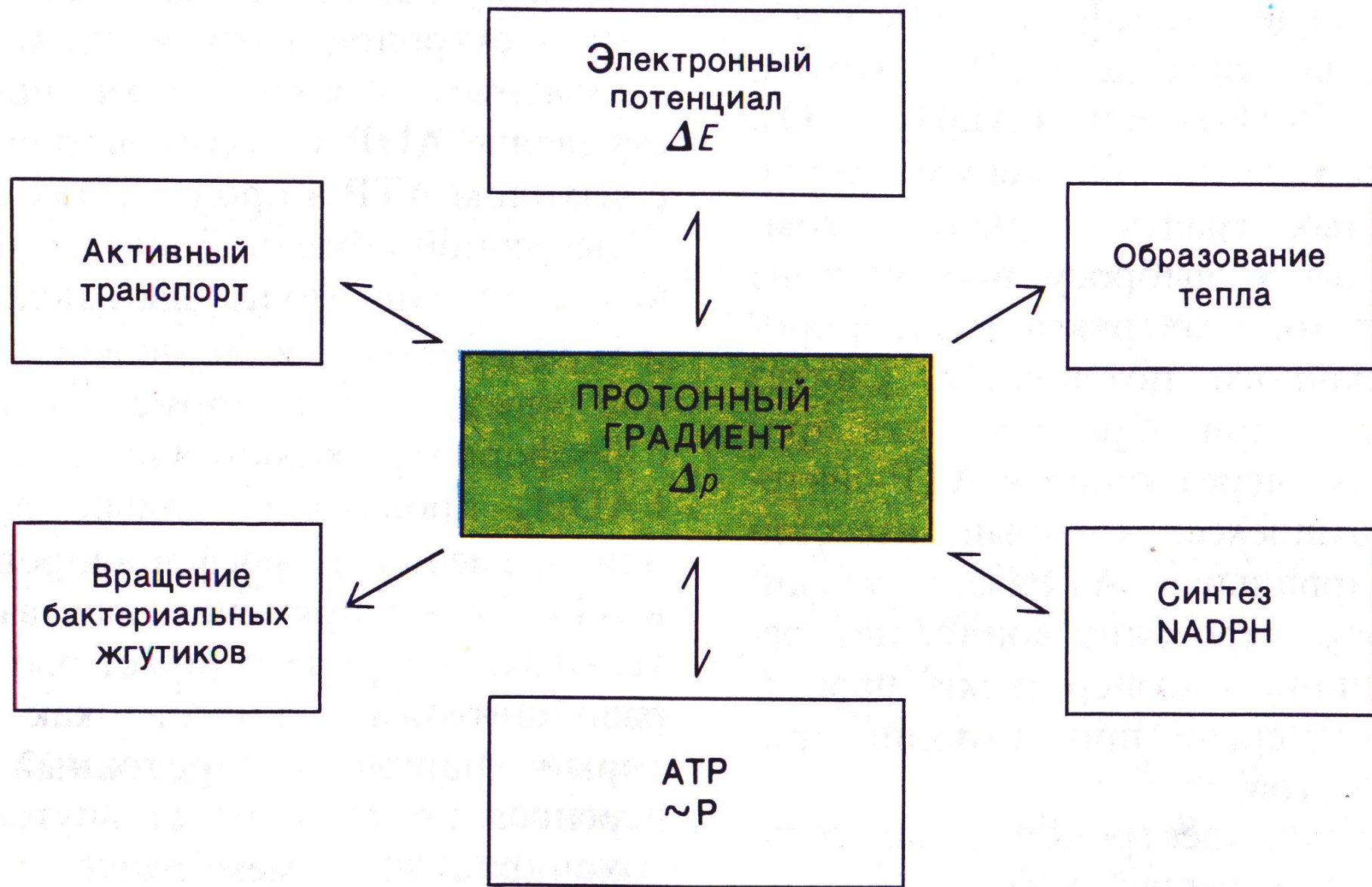
- Перенос \bar{e} по дыхательной цепи сопровождается закислением наружной среды (рН=7) и защелачиванием матрикса (рН=8). т.е. **\bar{e} – движущая сила выкачивает протоны в межмембранное пространство.**
- Прохождение пары \bar{e} на уровне I комплекса в матрикс попадает 2 пары H^+ , III комплекса – 1 пара и IV – 2 пары.
- Таким образом создается электрохимический H^+ градиент, имеющий электрический и осмотический компонент.
- **$\Delta\mu_H = \Delta\psi + \Delta p_H$**

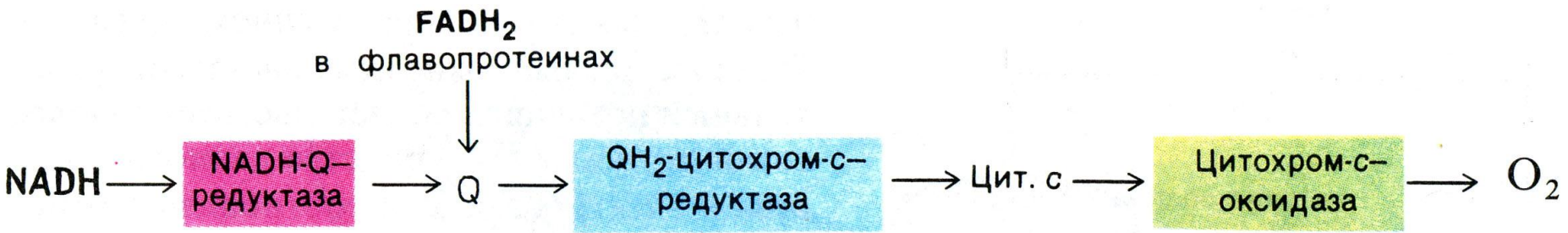
Дыхательная цепь ферментов

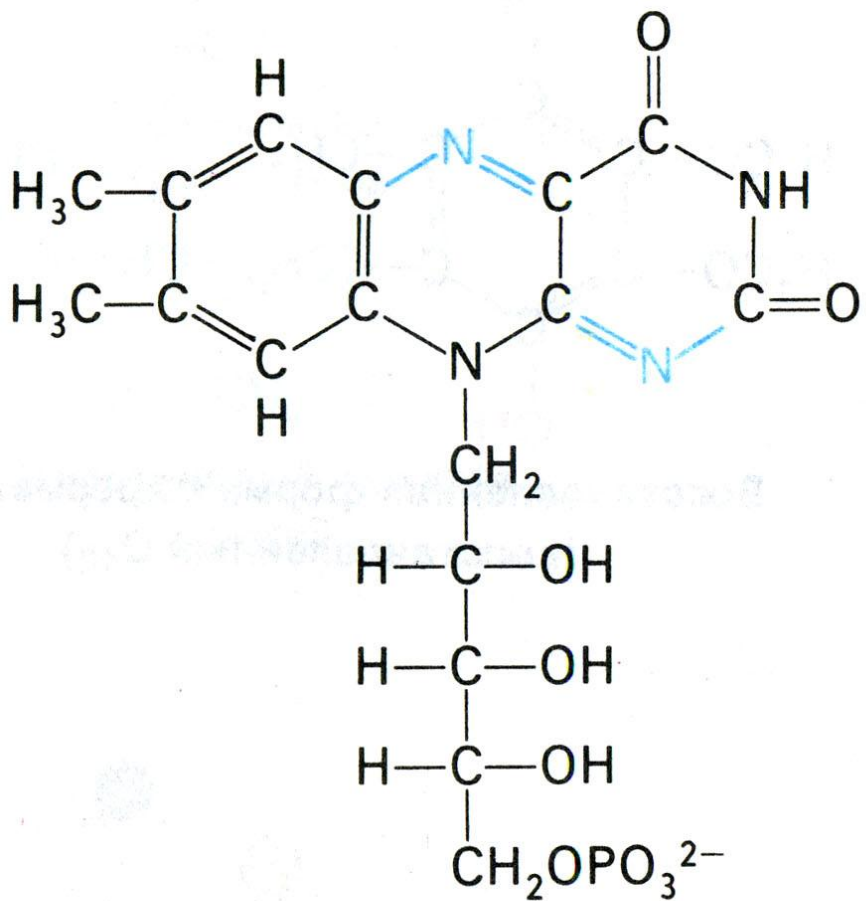
- **Полная цепь системы МХ окисления:**
- SH_2 (изоцитрат, малат, гидроксиацилКоА, гидроксибутират, глутамат) \square никотинамидные ДГ \square комплексы I, III, IV \square O_2 .
- **Укороченная цепь: (без комплекса I)**
- SH_2 (сукцинат, ацилКоА, глицеролфосфат) \square КоQ \square комплекс III, IV \square O_2
- **Удлиненная цепь окисления:**
- SH_2 (пируват, кетоглутарат) \square комплексы I, III, IV \square O_2 . (окислительно-декарбоксилирующие комплексы кетокислот примыкают к внутренней мембране МХ).

Транслоказы

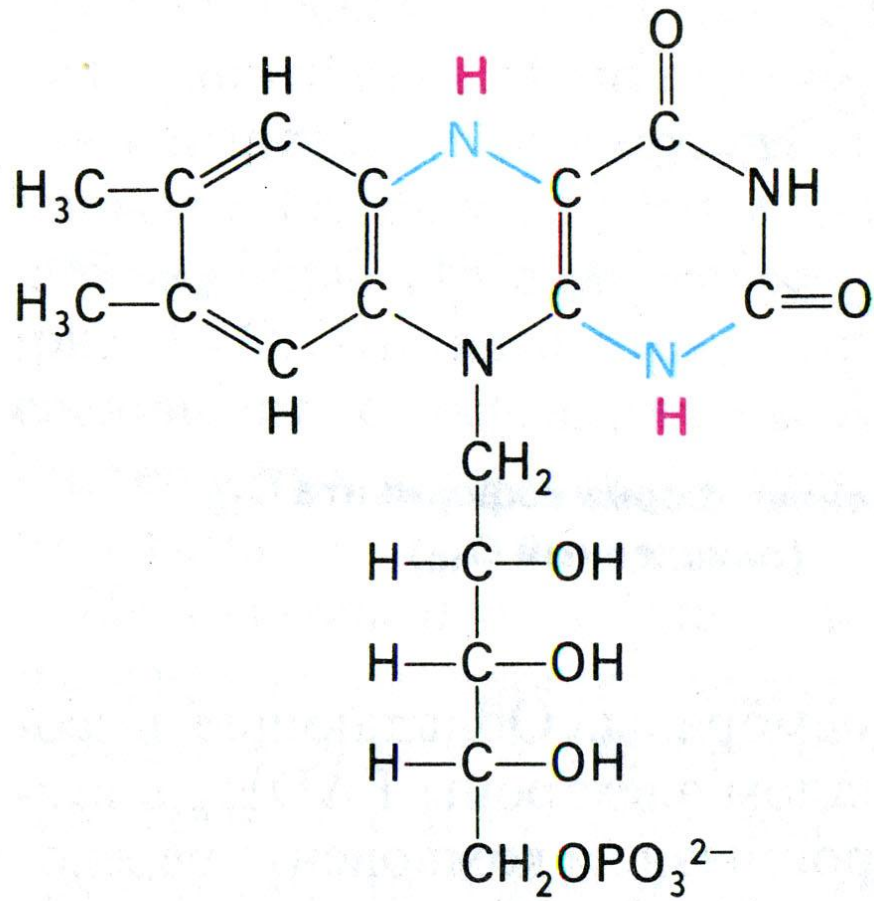
- Кроме оксидоредуктаз дыхательной цепи во внутреннюю мембрану МХ встроена **система переноса «клеточного топлива»**: кетокислот, аминокислот, дикарбоновых кислот, жирных кислот (транслоказы).
- **Адениннуклеотидтранслоказа, фосфаттранслоказа.**
- **АТФ – синтаза.**



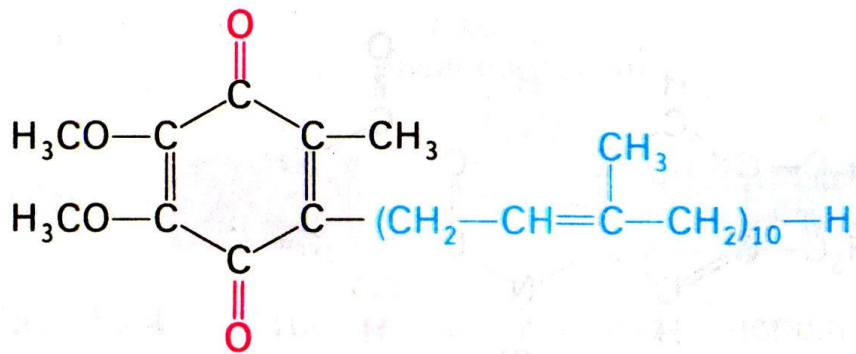




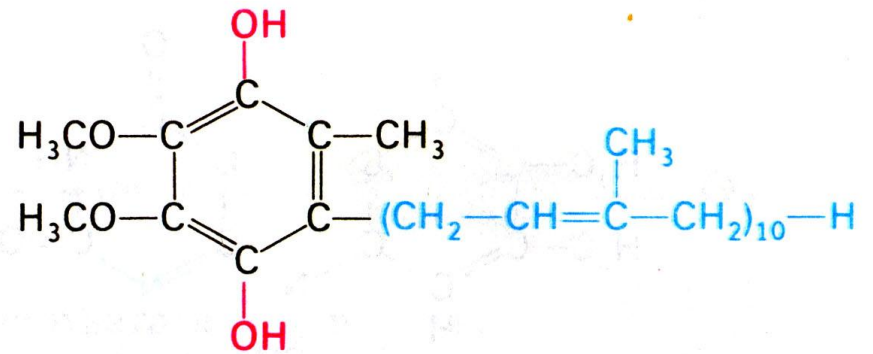
Флавинмоноклеотид



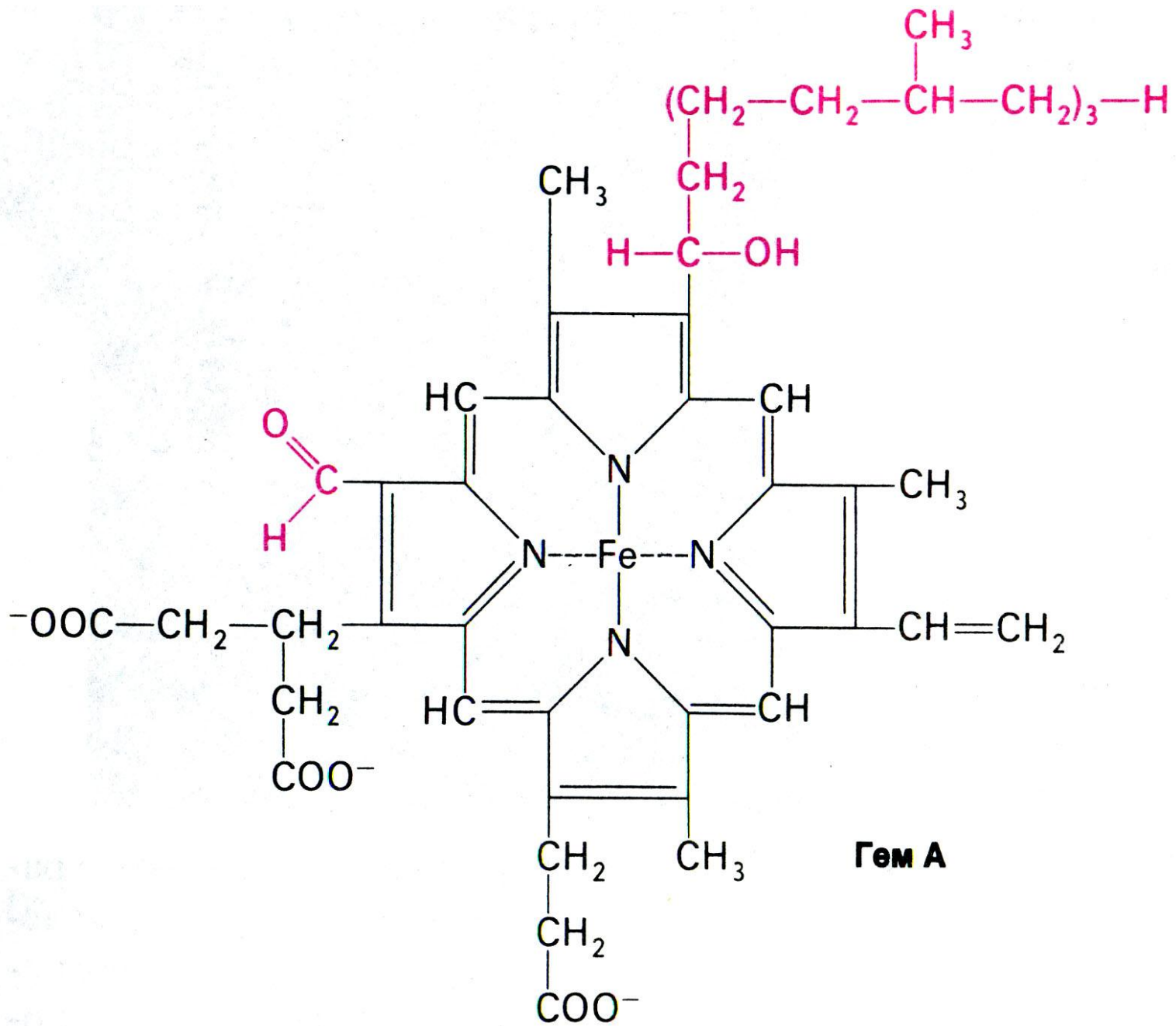
**Восстановленный
флавинмоноклеотид**



Окисленная форма кофермента Q₁₀
(окисленный Q₁₀)



Восстановленная форма кофермента Q₁₀
(восстановленный Q₁₀)

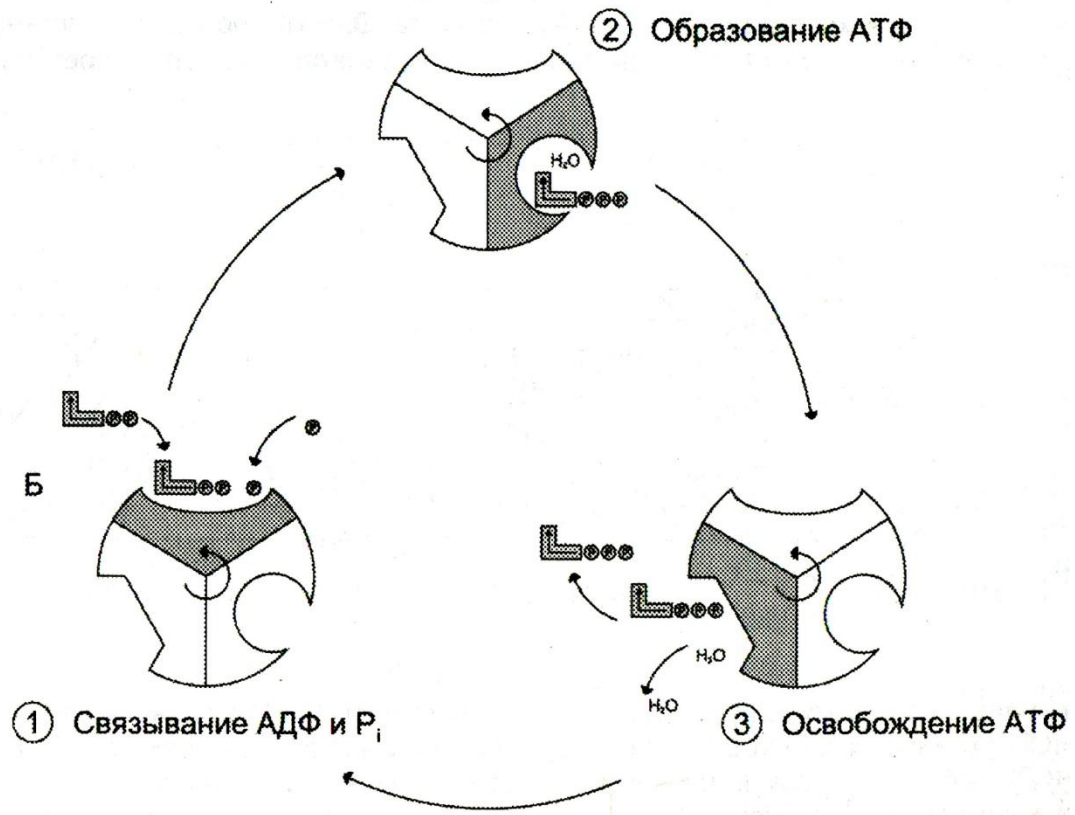
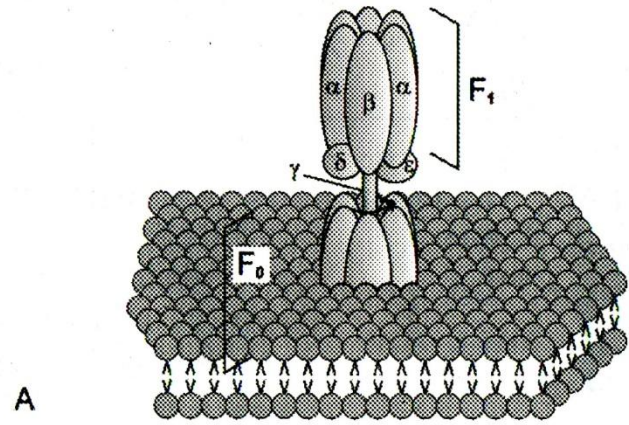


Строение АТФ – синтазы

- H^+ - АТФ –синтаза (АТФ-А3А)
- V – комплекс дыхательной цепи
- Сложный белковый комплекс (500 кДа) из **F₀** и **F₁** **субъединиц**.
- Фактор сопряжения дыхания (протонного градиента) и фосфорилирования.
- F₀ – трансмембранный канал для протонов во внутренней мембране МХ.
- F₁ - каталитическая субъединица, состоящая из трех гетеродимеров (α и β), связывающие АДФ и Фн, образование АТФ с выделением H_2O и освобождением АТФ.

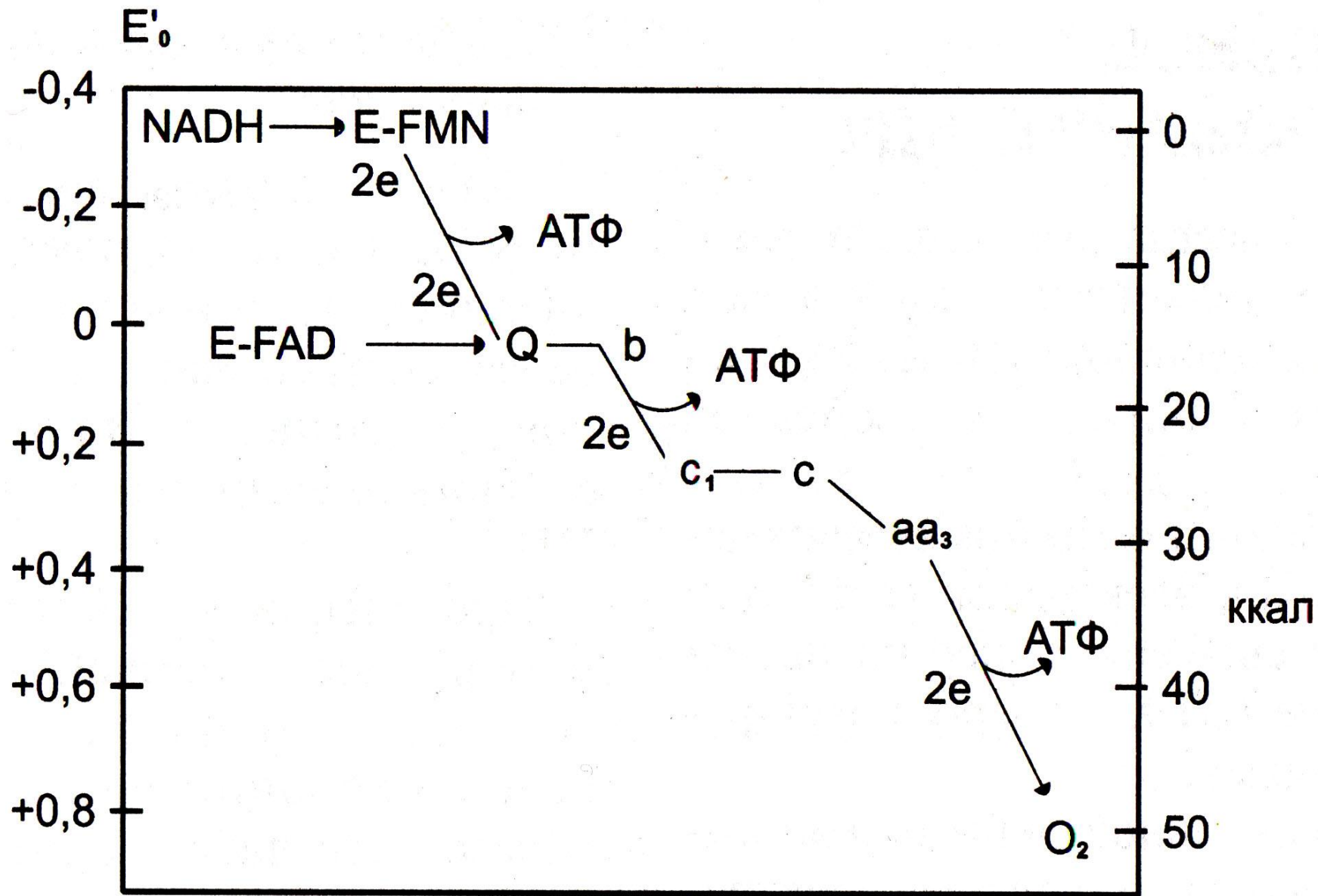
Активация АТФ-азы происходит за счет ротации комплекса вызванного потоком протонов из внешней среды в матрикс.

При накоплении АТФ в матриксе АТФ – аза начинает гидролизовать АТФ и работать как протонная помпа, градиент протонов не уменьшается, а нарастает.



Протонный градиент и пункты фосфорилирования

- **Атомы водорода** от окисляемых субстратов отдают \bar{e} в дыхательную цепь и превращаются в H^+ , которые поступают в межмембранное пространство.
- \bar{e} передаются по дыхательной цепи и оказываются на все более низких энергетических уровнях, пока не достигнут O_2
- В дыхательной цепи трижды происходит значительное снижение стандартной свободной энергии, достаточное для обеспечения синтеза АТФ. (три пункта фосфорилирования: на уровне I, III и IV комплексов).



Направление потоков электронов →

Соотношение дыхания и фосфорилирования

- $4\bar{e} + 4\text{H}^+ + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$
- $\text{АДФ} + \text{Фн} \rightarrow \text{АТФ}$
- Эффективность фосфорилирования P/O (количество Фн включенного в состав АТФ на каждый атом O).
- Теоретически для НАДН – коэффициент =3; для ФАДН₂ = 2; для аа₃ = 1.
- Практически, этот коэффициент ниже, не все протоны проходят через протонные каналы АТФ-синтетазы, энергия $\Delta \mu\text{H}^+$ частично используется на другие нужды и P/O = 2,5; 1,5 для I и II комплексов. соответственно.
- **Каковы взаимоотношения дыхания и фосфорилирования?**

Дыхательный контроль

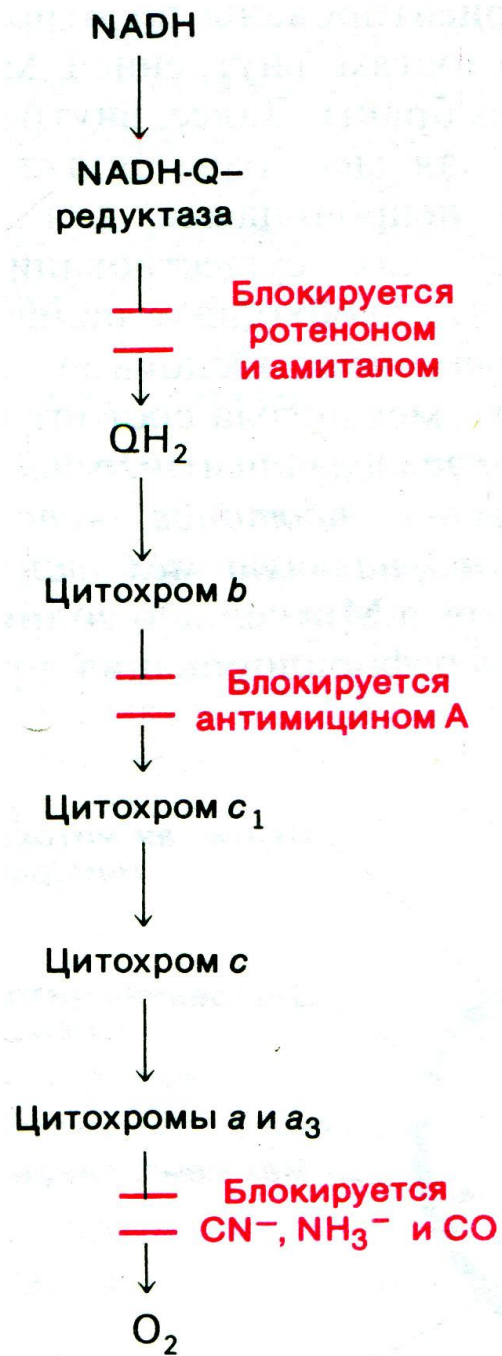
- **ДК (дыхательный контроль)** отражает зависимость интенсивности дыхания от концентрации АДФ.
- Измеряется **полярографически** по поглощению O_2 и отношению фосфорилирующего дыхания к нефосфорилирующему (т.е. в присутствии или отсутствии АДФ).
- **Дыхательный контроль** ведет к соответствию скорости синтеза **АТФ** потребностям клетки в данный момент: **чем больше расход АТФ, тем быстрее поток e^- к O_2 (дыхание!) и интенсивнее окисление субстратов и поглощение O_2 .**

Энергетический заряд клеток

- **АТФ: АДФ:АМФ**
- Энергетический заряд изменяется от **1** (если все адениловые нуклеотиды максимально фосфорилированы и находятся в виде АТФ) ; до **0** (если все нуклеотиды находятся в виде АМФ).

Ингибиторы дыхания

- На различных участках цепи **передача e^- блокируется специфическими веществами**: барбитуратами, некоторыми гликозидами, антибиотиками, цианидами.
- На 90% дыхание подавляется ингибиторами передачи e^- на уровне цитохромоксидазы дыхательными ядами: **цианидами, CO , H_2S , NH_3** .

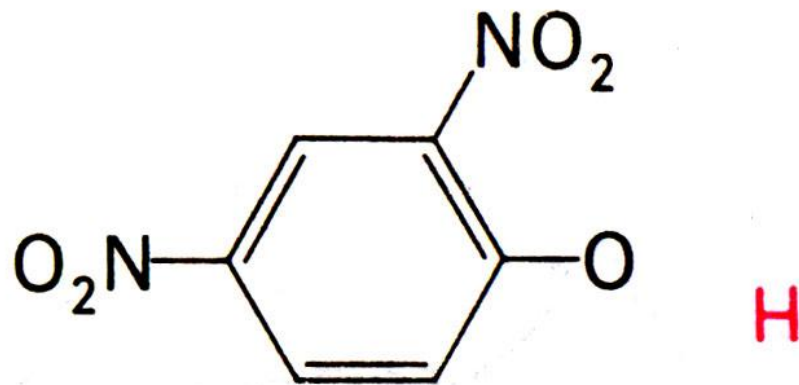


Ингибирование фосфорилирования

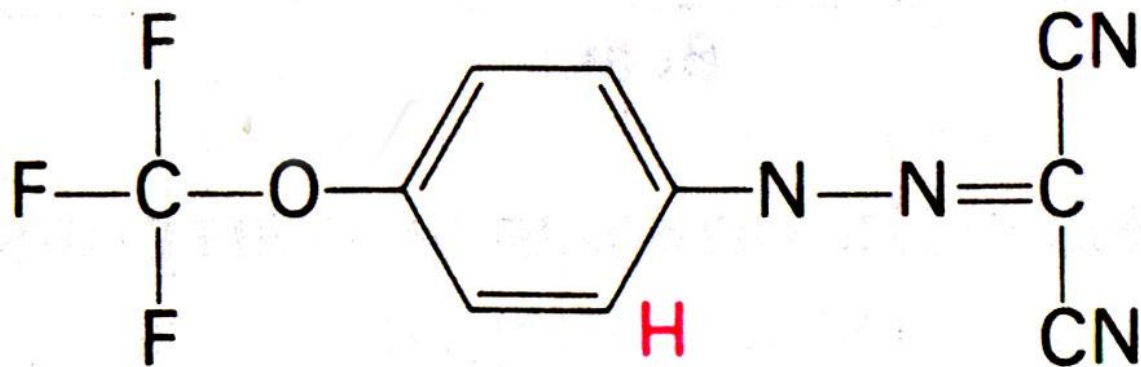
- **Олигомицин** блокирует F_0 – субъединицу АТФ – синтетазы.
- Электрохимический градиент при этом не снижается, но потока протонов в матрикс через протонный канал не происходит и **АТФ –синтетаза не активна.**

Разобщители дыхания и фосфорилирования

- Липофильные вещества, способные переносить протоны (протонофоры) и катионы (ионофоры) через внутреннюю мембрану, минуя канал F_0 :
- градиент H^+ снижается;
- содержание АДФ увеличивается, скорость окисления растёт, поглощение O_2 (дыхание) растёт, но энергия рассеивается в виде тепла, коэффициент P/O снижается.
- 2,4 – динитрофенол, валиномицин, грамицидин, дикумарол, билирубин, мочева кислота, тироксин, длинноцепочечные жирные кислоты.
- Разобщение окисления и фосфорилирования увеличивает теплопродукцию (специализированная ткань – бурый жир, где в МХ много белка термогенина, переносящего жирные кислоты в матрикс).



**2,4-динитрофенол
(ДНФ)**



**Карбонилцианид-*p*-
трифторметоксифенилгидразон**

Митохондриальная цепь окисления – источник активных форм кислорода

- $4\text{H}^+ + 4\text{e}^- + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$
- **Неполное восстановление кислорода ведет к образованию АФК:**
- $4\text{H}^+ + 3\text{e}^- + \text{O}_2 \rightarrow \text{HO}^*$
- $4\text{H}^+ + 2\text{e}^- + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}_2$
- $4\text{H}^+ + \text{e}^- + \text{O}_2 \rightarrow \text{:O}_2^-$

Антиперекисная защита

- **Ферментативные механизмы:**

- $2\text{O}_2^* + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (СОД)
- $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (каталаза)
- $\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{ глутатион-SH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{глу-S-S-глу}$ (глутатионпероксидаза)
- $\text{глу-S-S-глу} + \text{НАДФН} \rightarrow 2 \text{ глу-SH} + \text{НАДФ}^+$ (глутатиоредуктаза)

- **Антиоксиданты неферментативной природы: витамины Е, С, каротин, глутатион, мочева кислота, билирубин.**