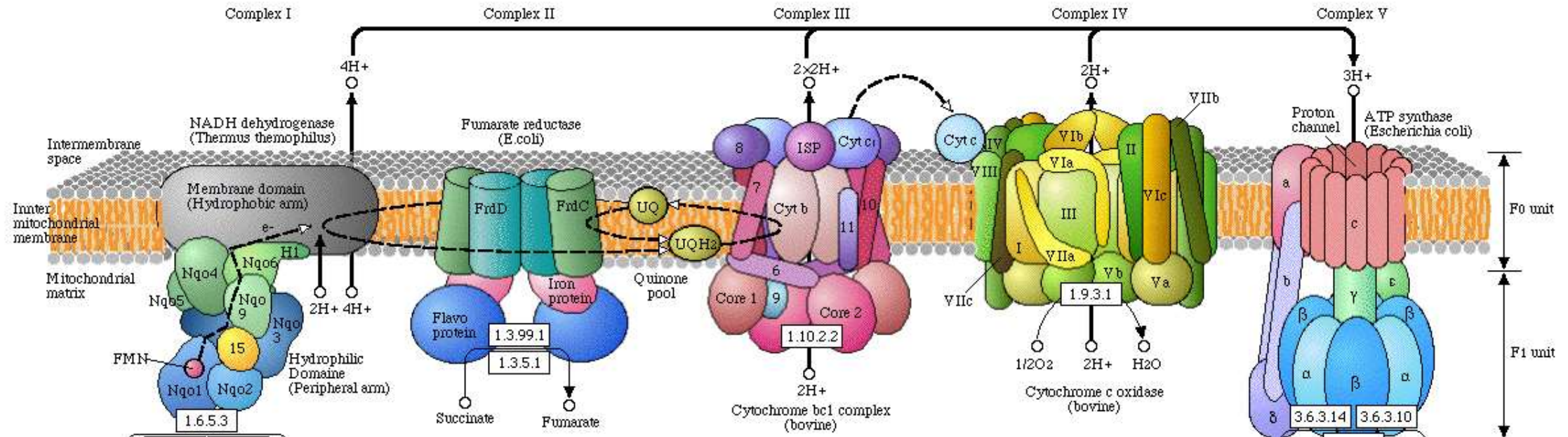


Біоенергетика: загальні шляхи катаболізму вуглеводів,
ліпідів, амінокислот. Цикл трикарбонових кислот.
Біологічне окиснення та окисне фосфорилування

OXIDATIVE PHOSPHORYLATION



План лекції

- Загальні закономірності метаболізму
- Макроергічні сполуки. Шляхи синтезу АТФ
- Стадії катаболізму біомолекул
- Цикл трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса)
- Тканинне дихання. Організація дихального ланцюга (ДЛ)
- Механізм окисного фосфорилування
- Включення відновлених еквівалентів у ДЛ. Пункти спряження
- Коефіцієнт Р/О. Дихальний контроль
- Інгібітори та роз'єднувачі ДЛ.

Загальні закономірності метаболізму

Організм людини – стаціонарна відкрита система, яка знаходиться в постійному і нерозривному зв'язку з навколишнім середовищем. Цей зв'язок здійснюється в процесі обміну речовин, найважливішою специфічною закономірністю якого у живій матерії є його єдність. **Обмін речовин** (або **метаболізм** від грецьк. metabole – зміна, перетворення) - це сукупність хімічних, фізикохімічних, фізіологічних та біологічних процесів перетворення речовин в живому організмі, що відбуваються за участю ферментів у тісному зв'язку з оточуючим середовищем.

Метаболічні шляхи поділяються на:

- 1) катаболічні - розпад біомолекул (глюкози, жирних кислот, амінокислот, гліцеролу) до кінцевих продуктів - CO₂, H₂O, сечовини, що супроводжується вивільненням енергії та запасанням її в формі АТФ, інших макроергічних фосфатів або протонного потенціалу. Сукупність процесів розщеплення біомолекул з виділенням вільної енергії називається **катаболізм**. **Реакції (процеси), що супроводжуються вивільненням енергії називаються екзергонічними.**
- 2) анаболічні - синтез специфічних даному організму біомолекул, які необхідні для утворення власних клітинних і позаклітинних структур з використанням енергії макроергічних сполук. Ця сукупність процесів синтезу, що відбувається з поглинанням енергії в формі АТФ, отримала назву **анаболізму**. **Реакції (процеси), що супроводжуються поглинанням енергії називаються ендергонічними.**
- 3) **амфіболічні** - розташовані в точках перемикання метаболізму і зв'язують анаболізм і катаболізм (так звані «перехрестя метаболізму»). Амфіболічним шляхом, наприклад, є цикл трикарбонових кислот.

Ендергонічні реакції (процеси)

- Анаболізм
- М'язове скорочення
- Активний транспорт речовин
- Генерація нервового імпульсу

Особливості біоенергетики організму

- **Першою особливістю** біоенергетики є те, що організм не може використовувати теплову енергію для роботи, і вона йде переважно для підтримання постійної температури тіла.
- **Другою особливістю** біоенергетики є те, що вивільнення енергії відбувається поступово, малими порціями, у ланцюзі послідовних процесів. Якби вся енергія виділялася б одночасно, то міг статися «енергетичний вибух», і жива система не змогла б засвоїти та використати цю енергію за короткий період.
- **Третя особливість** біоенергетики полягає в тому, що потенційна хімічна енергія, що знаходиться в хімічних зв'язках молекул вуглеводів, ліпідів, білків тощо, при вивільненні під час їх розпаду, може накопичуватися в інших речовинах, які є біологічними акумуляторами енергії. Вони набули назву високоенергетичних або макроергічних сполук.

Макроергічні сполуки

Макроергічні сполуки – це біомолекули, що мають зв'язки, стандартна енергія гідролізу яких складає понад 20 кДж/моль.

Частина загальної енергії системи, за рахунок якої може бути виконана певна робота, називається вільною енергією G° . Отже, за рахунок вільної енергії підтримується стабільний стан біологічної системи. Зміна рівня стандартної вільної енергії позначається ΔG° . Під цим розуміють зміну вільної енергії за нормальних умов: тиск 101,3 кПа, концентрація 1 М і температура 25 °С. Зміну рівня стандартної вільної енергії при $pH = 7,0$ позначають ΔG° . Зміна стандартної вільної енергії хімічної реакції визначається як різниця між вільною енергією вихідних сполук та вільною енергією кінцевих продуктів реакції, тобто зміна вільної енергії системи при переході її з одного стану в інший є критерієм, який дає змогу стверджувати можливість хімічного перетворення згідно з законами термодинаміки.

Макроергічні зв'язки, які позначаються символом \sim (тильда), підрозділяють на декілька типів:

фосфоангідридні (**АТФ, ЦТФ, ГТФ, УТФ**);

фосфогуанідинові (**креатинфосфат**);

енолфосфатні (**фосфоенолпіруват**);

тіоефірні (**ацетил-КоА, сукциніл-КоА**).

Універсальною енергетичною валютою є АТФ.

В організмі дорослої людини загальна кількість АТФ складає близько 30-50 г, а кількість АТФ, що синтезується й піддається розпаду за добу - близько 62 кг. Тому розраховано, що кожна молекула АТФ розщеплюється і знову регенерується на добу 2,5 тис. разів, а середня тривалість її життя менша за 1 хв.

Шляхи біосинтезу АТФ:

- Окисне фосфорилування.** Відбувається в мітохондріях і спряжене з тканинним диханням, акумулює енергію електрохімічного потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрій, який виникає шляхом передачі електронів і протонів гідрогену дихальним ланцюгом (протікає тільки в аеробних умовах).
- Субстратне фосфорилування.** Відбувається за рахунок макроергічних субстратів гліколізу (фосфоенолпіруват, 1,3-дифосфогліцерат), ЦТК (сукциніл-коА) та креатинфосфату (протікає в анаеробних умовах).

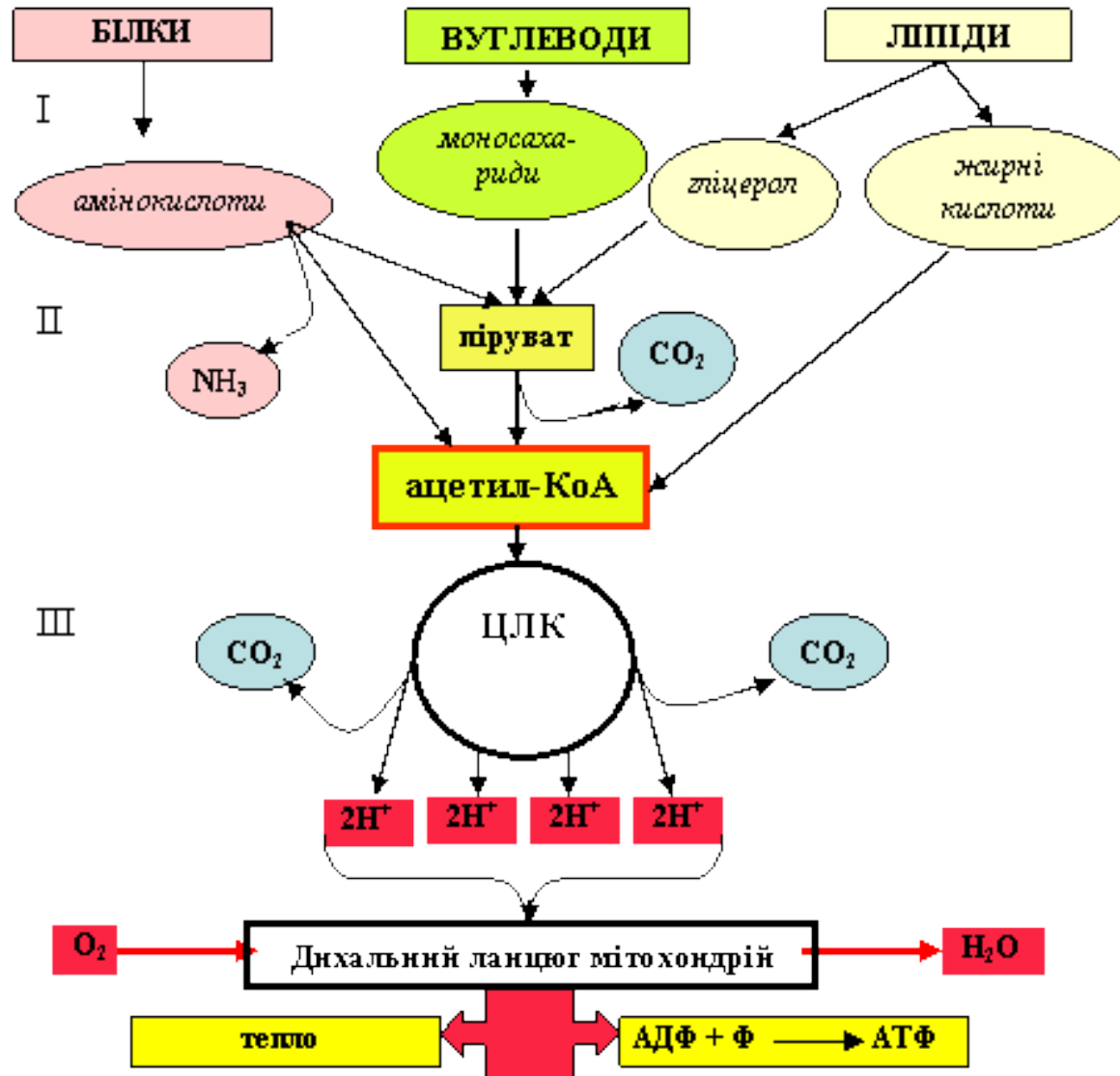
Обмін речовин

У широкому розумінні обмін речовин в організмі людини складається з п'яти послідовних стадій:

- 1) надходження поживних речовин до організму в складі продуктів харчування;
- 2) перетравлення білків, ліпідів і вуглеводів в травному тракті до мономерів (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, гліцеролу) та всмоктування продуктів гідролізу епітелієм слизової оболонки кишечника;
- 3) транспорт продуктів перетравлення поживних речовин кров'ю і лімфатичною системою та трансмембранне перенесення (надходження їх через мембрани судин і клітинні мембрани до певних органів і тканин). Трансмембранне перенесення речовин протікає шляхом простої дифузії і за допомогою переносників (полегшена дифузія й активний транспорт);
- 4) внутрішньоклітинний метаболізм біомолекул в органах і тканинах (**проміжний обмін, або власне метаболізм**);
- 5) виділення (екскреція) з організму кінцевих продуктів обміну речовин (вуглекислого газу, сечовини, води).

Найбільш складну частину обміну речовин становить внутрішньоклітинний (проміжний) обмін.

СТАДІЇ КАТАБОЛІЧНИХ ШЛЯХІВ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ



Стадії катаболізму біомолекул

Перша стадія катаболізму – характеризується тим, що макромолекули вуглеводів, білків і ліпідів розщеплюються до простих складових компонентів. Для екзогенних субстратів - це процеси перетравлення та всмоктування у шлунково-кишковому тракті, а для ендогенних субстратів – це внутрішньоклітинне розщеплення біомолекул за участю ферментів, локалізованих в цитоплазмі та лізосомах. Отже, вуглеводи (полісахариди, олігосахариди) розпадаються до моносахаридів, триацилгліцероли – до гліцеролу і вищих жирних кислот, білки – до амінокислот, нуклеїнові кислоти – до мононуклеотидів. Реакції першої стадії катаболізму екзогенних та ендогенних субстратів каталізуються ферментами 3 класу гідролаз. На цьому етапі звільнюється до **1% енергії** субстратів, яка розсіюється у формі тепла. Стадія не супроводжується акумуляцією енергії у формі АТФ.

Друга стадія катаболізму – включає процеси, в яких метаболіти, що утворилися на першій стадії, зазнають розщеплення та перетворюються на **універсальний метаболіт ацетил-КоА**. Ацетил-КоА – це загальний кінцевий продукт другої стадії катаболізму вуглеводів, ліпідів і амінокислот. Реакції другої стадії відбуваються в цитоплазмі і частково в мітохондріях клітин. На другому етапі звільняється близько **20–30 % енергії** вихідних речовин. Частина цієї енергії акумулюється у макроергічних зв'язках АТФ (субстратне фосфорилування), а частина розсіюється у вигляді тепла.

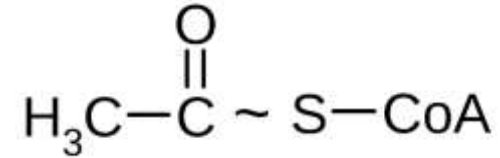
Третя стадія катаболізму - включає процеси, в яких відбувається окиснення ацетил-КоА до кінцевих продуктів метаболізму CO₂ і H₂O за участю кисню. Ця стадія локалізована в мітохондріях і складається з двох біохімічних процесів:

– циклу трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса або цикл лимонної кислоти), внаслідок функціонування якого утворюється CO₂, і атоми Гідрогену, що надалі використовуються для відновлення коферментів НАД⁺ і ФАД⁺ ;

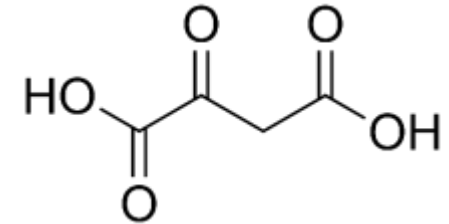
– дихального ланцюга перенесення електронів від відновлених форм коферментів на молекулярний кисень з утворенням H₂O. На третій стадії катаболізму відбуваються процеси тканинного дихання, які складають основу енергетичного забезпечення організму. Звільнюється близько **70 – 80 % усієї енергії** хімічних зв'язків речовин. Енергія окиснення субстратів зосереджується у фосфатних зв'язках АТФ, а частина її виділяється у вигляді тепла. Реакції, що відбуваються на перших двох стадіях катаболізму, є специфічними шляхами розпаду біомолекул. Реакції ж перетворення ацетил-КоА у ЦТК та дихальний ланцюг представляють собою загальний шлях катаболізму.

Універсальні метаболіти

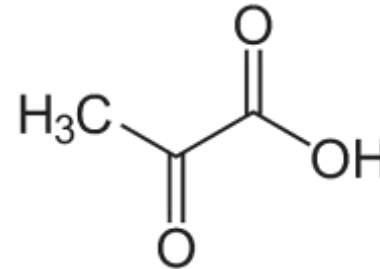
- Ацетил-коА



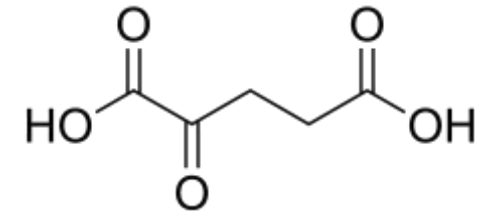
- Оксалоацетат



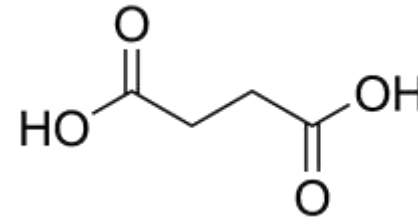
- Піруват



- Альфа-кетоглутарат



- Сукцинат



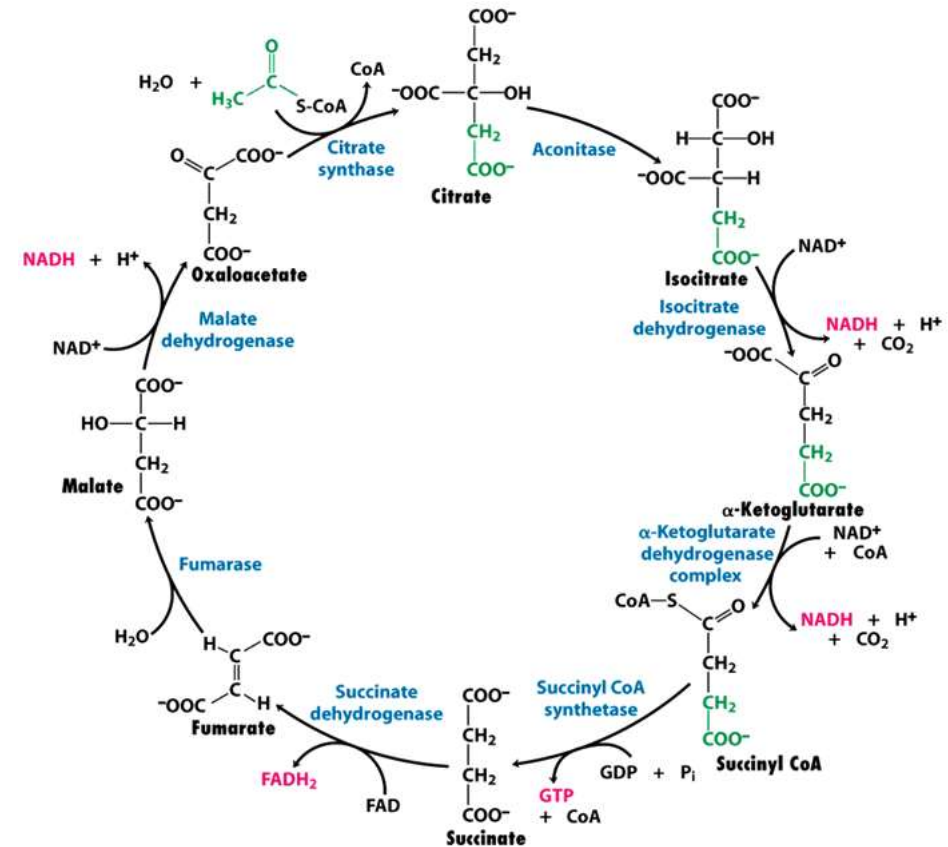
Загальні стадії катаболізму біомолекул

- цикл трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса або цикл лимонної кислоти), внаслідок функціонування якого утворюється CO_2 , і атоми Гідрогену, що надалі використовуються для відновлення коферментів НАД⁺ і ФАД⁺ ;
- дихальний ланцюг перенесення електронів від відновлених форм коферментів на молекулярний кисень з утворенням H_2O . На третій стадії катаболізму відбуваються процеси тканинного дихання, які складають основу енергетичного забезпечення організму.

Цикл трикарбонових кислот

(ЦТК, цикл Кребса або цикл лимонної кислоти)

циклічна послідовність ферментативних реакцій, у результаті яких ацетил – КоА ($\text{CH}_3 - \text{CO} \sim \text{S} - \text{CoA}$) – продукт катаболізму вуглеводів, жирів, амінокислот, окислюється до двоокису вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій – нікотинамідних або флавінових коферментів (НАД, ФАД). Реакції та ферменти ЦТК локалізовані в матриці та внутрішній мембрані мітохондрій. Вони функціонально та біохімічно спряжені з мітохондріальними електротранспортними ланцюгами, що використовують для відновлення атомів кисню.



Біохімічні функції циклу Кребса

Цикл Кребса виконує в організмі людини такі найважливіші біохімічні функції:

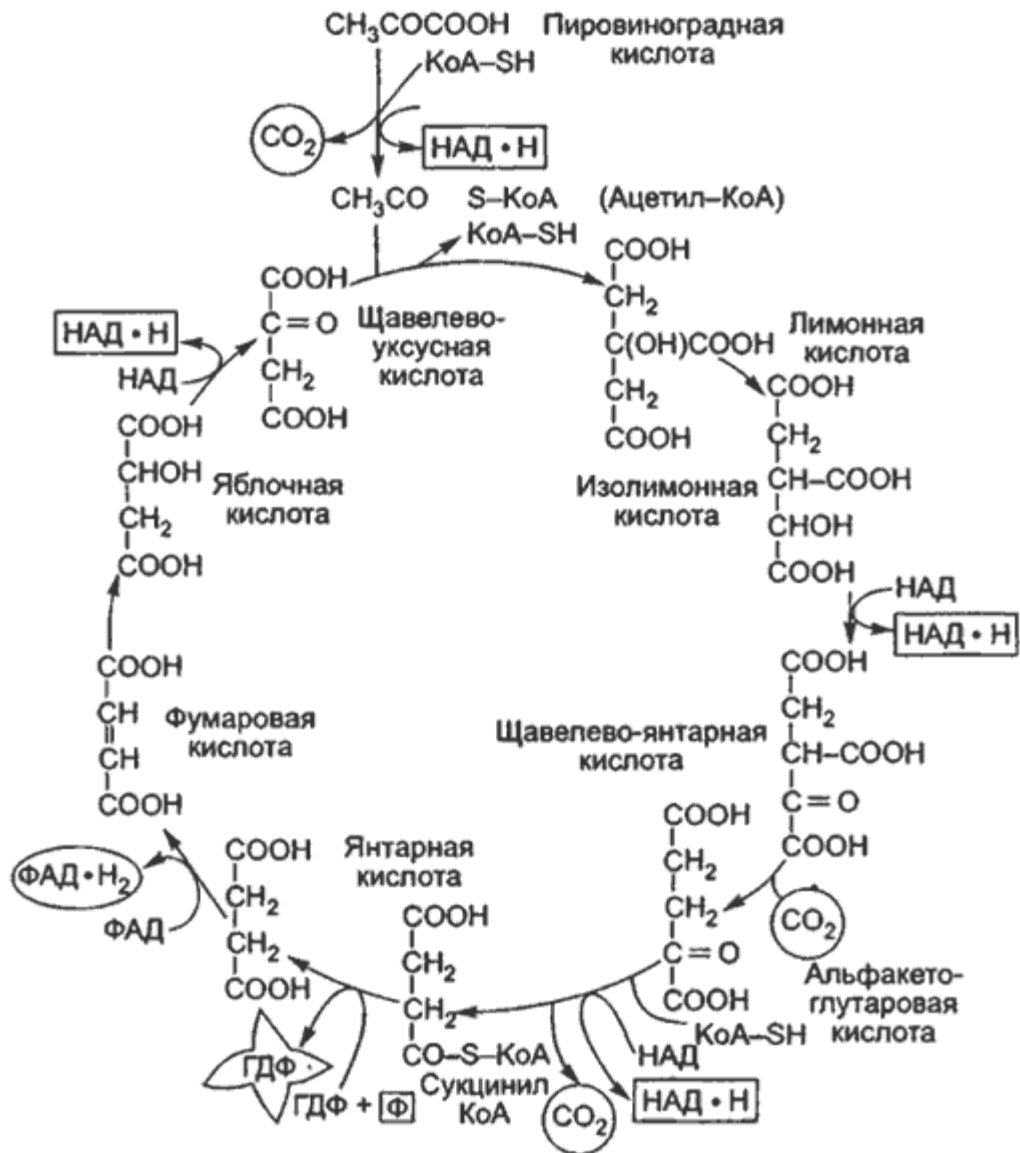
а) **інтегративну** – цикл Кребса є своєрідним метаболічним «колектором», який об'єднує шляхи розпаду вуглеводів, ліпідів і білків;

б) **амфіболічну** – цикл Кребса виконує подвійну функцію: катаболічну, оскільки у ньому проходить розпад ацетил – КоА, і анаболічну, оскільки субстрати циклу Кребса використовуються для синтезу інших речовин: оксалоацетат - синтез аспарагінової кислоти і глюкози, альфа-кетоглутарат – глутамінової кислоти, сукциніл-коА – синтез гему;

в) **енергетичну** – в ході реакцій циклу Кребса утворюється одна молекула ГТФ на рівні субстрату (сукциніл – КоА) шляхом субстратного фосфорилювання;

г) **гідрогенгенеруючу** – цикл Кребса є основним генератором гідрогену для дихального ланцюга мітохондрій. У циклі Кребса утворюється 4 пари атомів гідрогену, три із яких з'єднані з НАД⁺ і одна з ФАД. **Метаболіти ЦТК, що є субстратами тканинного дихання: ізоцитрат, альфа-кетоглутарат, сукцинат, малат.**

Біохімічні реакції ЦТК



Ханс Адольф Кребс (1900-1981)
Лауреат Нобелівської премії 1953

Анаплеротичні реакції ЦТК

Проміжні метаболіти ЦТК присутні у мітохондріях в незначних кількостях. При окисненні ацетил-КоА вони регенеруються, а анаболічні процеси швидко виснажують пул деяких проміжних продуктів циклу. Тому їхній запас постійно поповнюється за рахунок метаболітів, які надходять з інших джерел. Ферментативні процеси, що поповнюють запас проміжних продуктів циклу, називаються **анаплеротичними реакціями**.

- Анаплеротичні реакції - реакції клітинного метаболізму, що підвищують концентрацію субстратів ЦТК, утворюючи їх з інтермедіатів інших метаболічних шляхів (зокрема, амінокислот, пірувату). Активуючи ЦТК, анаплеротичні реакції сприяють посиленню інтенсивності катаболічних процесів в організмі.

Утворення субстратів ЦТК в анаплеротичних реакціях:

1. Перетворення амінокислот на дикарбонові кислоти - субстрати ЦТК:

- утворення α -кетоглутарату в реакціях трансамінування глутамату;
- утворення оксалоацетату в реакціях трансамінування аспартату;
- утворення α -кетоглутарату в глутаматдегідрогеназній реакції;
- утворення сукциніл-КоА з ізолейцину, валіну, метіоніну, треоніну.

2. Утворення оксалоацетату з пірувату в піруваткарбоксилазній реакції: $\text{Піруват} + \text{CO}_2 + \text{АТФ} \rightleftharpoons \text{Оксалоацетат} + \text{АДФ} + \text{Фн}$

Коферментом піруваткарбоксилази є біотин (вітамін Н). Піруваткарбоксилаза — алостеричний фермент, позитивним модулятором якого є ацетил-КоА. За умов низької внутрішньоклітинної концентрації ацетил-КоА активність ферменту і, відповідно, швидкість піруваткарбоксилазної реакції низькі. Накопичення ацетил-КоА, що спостерігається при активації катаболічних процесів, стимулює через утворення оксалоацетату інтенсивність ЦТК і активність окислення його головного субстрату - ацетил-КоА. Утворення оксалоацетату з пірувату під дією піруваткарбоксилази є найважливішою анаплеротичною реакцією в клітинах печінки та нирок.

3. Утворення оксалоацетату з фосфоенолпірувату: $\text{Фосфоенолпіруват} + \text{CO}_2 + \text{ГДФ} \rightleftharpoons \text{Оксалоацетат} + \text{ГТФ}$ Реакція каталізується фосфоенолпіруваткарбоксикіназою. При цьому відбувається утворення макроергічного ГТФ за рахунок розщеплення високоенергетичного зв'язку в молекулі фосфоенолпірувату - метаболіту гліколізу. Фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція є анаплеротичною реакцією ЦТК, що має місце в міокарді та інших м'язових тканинах. Ця ж реакція, за умов її перебігу у зворотному напрямку, використовується в процесі синтезу глюкози (глюконеогенез).

Регуляція циклу трикарбонових кислот

- 1) цитратсинтаза (ацетил–КоА та оксалоацетат є активаторами ферменту), також активує інсулін;
- 2) ізоцитратдегідрогеназа (АДФ, АМФ — алостеричні активатори ферменту; АТФ, НАДН — інгібітори);
- 3) альфа – кетоглутаратдегідрогеназний комплекс (АТФ, ГТФ, НАДН, сукциніл–КоА–алостеричні інгібітори).

Енергетичний баланс ЦТК

Сумарне рівняння перетворення ацетил-КоА у ЦТК:



Вивільнена у результаті окиснення ацетил-КоА енергія в значній мірі зосереджується в макроергічних фосфатних зв'язках АТФ.

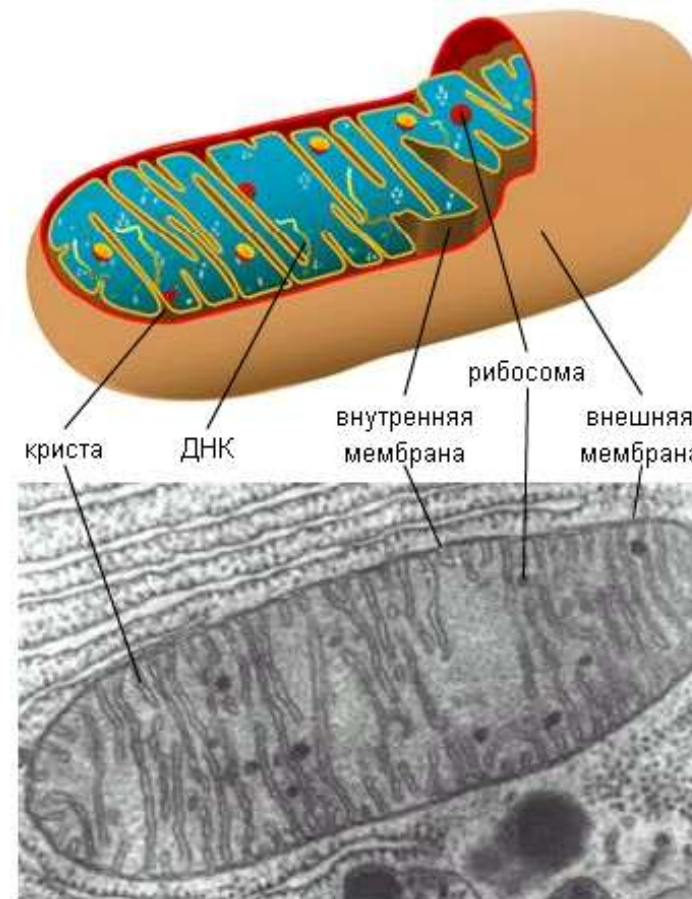
3-4 пари атомів Гідрогену 3 пари (від ізоцитрату, альфа-кетоглутарату, малату) переносять НАДН на систему транспорту електронів; при цьому у розрахунку на кожну пару у системі біологічного окиснення утворюється 2,5 молекули АТФ (в процесі спряженого окиснювального фосфорилування), а всього, відповідно, **7,5 молекул АТФ**.

Одна пара атомів Гідрогену (від сукцинату) від ФАДН₂ потрапляє в систему транспорту електронів через КоQ (убіхінон), в результаті чого утворюється лише **1,5 молекули АТФ**.

В ході циклу Кребса синтезується також одна молекула ГТФ (субстратне фосфорилування; сукциніл-коА), що прирівнюється до однієї молекули АТФ. Отже, при окисненні однієї молекули ацетил-КоА в циклі Кребса і системі окиснювального фосфорилування може утворитися **(7,5+1,5+1)=10 молекул АТФ**.

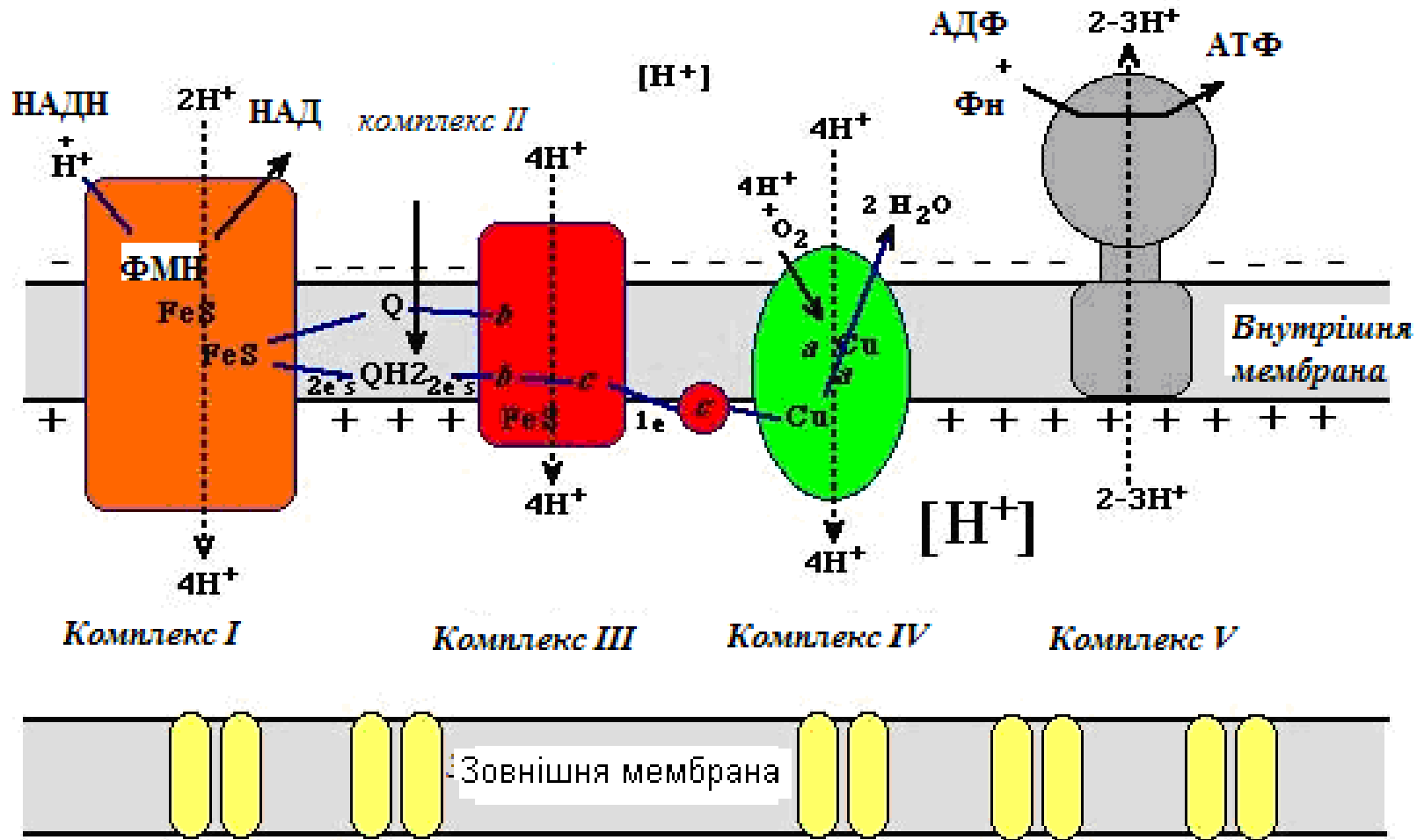
Тканинне дихання – заключний етап катаболізму

Мітохондрії мають дві замкнені, ізольовані мембрани: внутрішню та зовнішню, які розділені міжмембранним простором. Зовнішня мембрана мітохондрії гладенька, складається приблизно на 50 % із білків і на 50 % — із ліпідів. Має багато пор завдяки наявності каналотворюючого білку порину. Він формує у зовнішній мембрані отвори діаметром 2-3 нм, крізь які можуть проникати невеликі молекули та іони, що мають вагу 5-10 кДа. Мембрана містить ферменти метаболізму ліпідів, монооксидази, ацил-КоА-синтази, фосфоліпази А2 тощо. Виконує захисну функцію щодо внутрішньої мембрани. Внутрішня мембрана мітохондрій утворює численні складки – кристи (лат. *crista* – гребінь). Непроникна для більшості речовин (зокрема НАД⁺, НАДФ⁺, НАДН+Н⁺), іонів (Н⁺, ОН⁻, К⁺, Сl⁻) та полярних молекул. Проникна для CO₂ і NH₃. Містить специфічні трансмембранні переносники, наприклад, для АТФ, цитрату, пірувату, малату тощо. Мембрана складається приблизно на 75 % із білків і на 25 % — із ліпідів. Характерною рисою складу внутрішньої мембрани є наявність особливого фосфоліпиду - кардіоліпіну, що містить 4 залишки жирних кислот і робить мембрану абсолютно непроникною для протонів. З усіх білків внутрішньої мембрани 30-40 % складають білки-ферменти дихального ланцюга і окисного фосфорилування (АТФ-синтазний комплекс). **На внутрішній мембрані відбувається спряжене біологічне окиснення із синтезом АТФ.**



Дихальний ланцюг мітохондрій

Матрикс



Компоненти дихального ланцюга об'єднані в чотири функціональні комплекси

Кількість дихальних ланцюгів у мітохондріях різних тканин і органів неоднакова. Так, у печінці їх приблизно 5000 (в розрахунку на одну мітохондрію), а в серці – близько 20000.

I комплекс - НАДН-дегідрогеназа (НАДН:КоQ-оксидоредуктаза): містить простетичну групу ФМН і декілька FeS-білків; є акцептором електронів від усіх НАДН, що надходять з матриксу; каталізує перенесення електронів від НАДН на убіхінон; виштовхує **4 протони** у міжмембранний простір.

II комплекс - сукцинатдегідрогеназа (сукцинат:КоQ-оксидоредуктаза): містить простетичну групу ФАД, декілька FeS-білків; каталізує перенесення електронів та протонів від сукцинату на убіхінон. Інші субстрати ФАД-залежних мітохондріальних дегідрогеназ (гліцерол-3-фосфат, ацилКоА) віддають електрони в дихальний ланцюг на рівні убіхінону, але не через комплекс II.

III комплекс - цитохром bc₁ (убіхінолдегідрогеназа або КоQH₂: цитохром c-оксидоредуктаза): містить 2 типи цитохромів b і c₁, FeS-білки; каталізує перенесення електронів від відновленого КоQH₂ на цитохром c; одночасно транспортує **4 протони** з матриксу у міжмембранний простір.

IV комплекс - цитохром a і a₃ (цитохром c:O₂-оксидоредуктаза або цитохромоксидаза): містить молекули цитохромів a і a₃ та 2 катіони Cu⁺; каталізує перенесення електронів від відновленого цитохрому c на кисень з утворенням молекули води, перекачує **2 протони** через внутрішню мембрану мітохондрій в міжмембранний простір.

Коефіцієнт P/O

Синтез АТФ із АДФ та Фн потребує в стандартних умовах ≈ 30 кДж/моль. Критерієм ефективності окисного фосфорилювання є **коефіцієнт окисного фосфорилювання** P/O, який являє собою відношення кількості молекул H_3PO_4 (неорганічного фосфату - P), що перейшли до складу молекули АТФ (в процесі тканинного дихання) у розрахунку на один атом поглинутого Оксигену (O). Значення P/O при перенесенні однієї пари електронів від **НАДН** до кисню – 2,5 (**P/O = 2,5**), а від **ФАДН₂** – 1,5 (**P/O = 1,5**).

Хеміосмотична теорія Мітчела окисного фосфорилування

Гіпотеза хеміосмотичного спряження (П. Мітчел, 1961 р., Нобелівська премія 1978 р.).

Згідно цієї гіпотези спряжені процеси дихання і фосфорилування можуть перебігати тільки у замкненій і цілісній внутрішній мітохондріальній мембрані. Синтез АТФ є спряженим з протонним градієнтом. Згідно моделі П. Мітчела, перенесення електронів уздовж компонентів дихальних ланцюгів внутрішньої мембрани мітохондрій забезпечує перенесення протонів уперек внутрішньої мембрани на її зовнішню сторону (у міжмембранний простір - ММП). В результаті цього на внутрішній мембрані мітохондрій формується протонний електрохімічний потенціал (градієнт), який є рушійною силою синтезу АТФ за допомогою АТФ-синтази. Тобто, дихання і фосфорилування пов'язані між собою електрохімічним потенціалом (ЕХП) на внутрішній мембрані мітохондрій. Вільний зворотній перехід H^+ неможливий, оскільки внутрішня мембрана для них непроникна. За сучасними уявленнями, перенесення протонів крізь внутрішню мітохондріальну мембрану у ММП може здійснюватися лише за рахунок функціонування особливих "протонних насосів". Таким "протонним насосом" виступає дихальний ланцюг. Окремі компоненти його діють як протонні помпи та спричиняють векторний (перпендикулярний площині мембрани) перенос протонів у напрямку «матрикс → зовнішня сторона внутрішньої мембрани». Передбачається, що асиметрично розміщені у внутрішній мембрані мітохондрій компоненти дихального ланцюга укладені у вигляді трьох окисно-відновних петель (о/в), які утворені комплексами I, III, IV відповідно, що забезпечує певну спрямованість процесів у просторі.

Електрохімічний протонний потенціал $\Delta\mu_{H^+}$

- Перенос $2e^-$ від НАДН+Н+ на кисень супроводжується транслокацією **10 іонів H^+** з матриксу у між-мембранний простір, а перенос $2e^-$ від ФАДН2 - транслокацією **6 H^+** . Джерелами ж електронів, які використовуються для відновлення кисню, є тільки НАДН+Н+ або ФАДН2, які утворюються при дегідруванні субстратів. Для синтезу 1 молекули АТФ (активації роботи АТФ-синтази) «достатньо» **4 H^+** , тому **$P/O = 2,5$ для НАДН ($10:4=2,5$), $P/O=1,5$ для ФАДН2 ($6:4=1,5$)**. **Максимальна швидкість процесу досягає ≈ 600 молекул АТФ за секунду.**
- Перенесення протонів з матриксу приводить до збільшення концентрації H^+ на зовнішній поверхні внутрішньої мітохондріальної мембрани, і, навпаки, до зниження їх вмісту в матриксі. Внаслідок цього на внутрішній мітохондріальній мембрані виникає осмотичний протонний градієнт (ΔpH), з меншим значенням pH ззовні. Одночасно поверхні мембрани набувають протилежних зарядів: зовнішня – позитивного, за рахунок збільшення H^+ , а внутрішня – негативного, за рахунок зменшення концентрації H^+ і надлишку OH^- , тобто утворюється градієнт електричного потенціалу ($\Delta\phi$ – дельта пси). На внутрішній мітохондріальній мембрані формується **електрохімічний протонний потенціал ($\Delta\mu_{H^+}$)**, який складається з: **$\Delta\mu_{H^+} = \Delta pH + \Delta\phi$**
- Таким чином, за рахунок роботи дихального ланцюга внутрішня мітохондріальна мембрана набуває властивості своєрідного електричного конденсатора, в якому відбувається запасання енергії у вигляді електрохімічного потенціалу.
- Електрохімічний потенціал являє собою первинну форму зберігання енергії в мітохондріях, яка згодом може використовуватися для різних цілей: 1) синтезу АТФ; 2) термогенезу; 3) механічної роботи; 4) транслокації заряджених іонів крізь мембрани тощо.

Комплекс V - АТФ-синтази

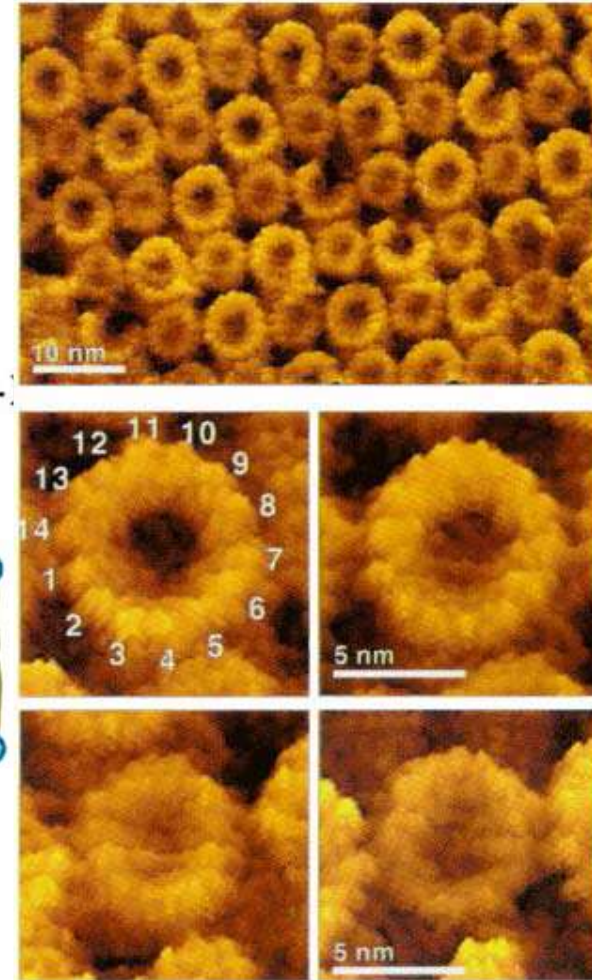
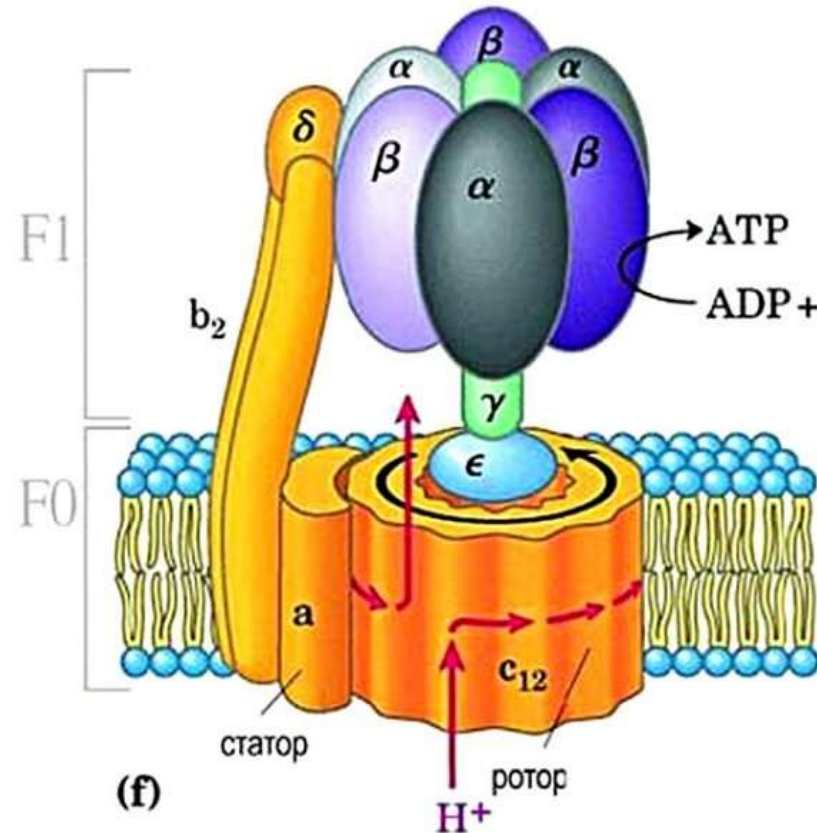
Фермент забезпечує сполучення синтезу АТФ із АДФ та H_3PO_4 з електрохімічним потенціалом. Розрахунки показали, що дихальний ланцюг мітохондрій при переносі двох протонів утворює потенціал $\Delta\mu_{\text{H}^+} = 0,25 \text{ В}$. Цього цілком досить для утворення однієї молекули АТФ ($\geq 0,22 \text{ В}$). Виникнення електрохімічного потенціалу на мембрані приводить до формування зворотного струму протонів, спрямованого в матрикс, по градієнту концентрацій через протонні канали АТФ-синтази. Зворотна дифузія H^+ у матрикс призводить до вирівнювання різниці концентрацій H^+ , і відбувається розрядження внутрішньої мембрани (зникає електричний потенціал). Таким чином, при спряженні тканинного дихання з фосфорилюванням створюється безупинний кругообіг іонів H^+ (зарядка й розрядка внутрішньої мембрани), так званий протонний цикл. Тому хеміосмотичну гіпотезу називають ще протонрушійною. Саме цей зворотний потік протонів (енергія протонного потенціалу) і є рушійною силою для синтезу АТФ. Зараз хеміосмотична гіпотеза підтверджена великою кількістю експериментів і є робочою теорією. Отже, **тканинне дихання проводить осмотичну роботу – створення електрохімічного потенціалу, енергія якого виконує хімічну роботу – синтез АТФ, тому теорія дістала назву хеміосмотичної.**

Будова АТФ-синтази

АТФ-синтазний V комплекс мітохондрій являє собою олігомерний білковий комплекс грибоподібної форми. Він складається з двох головних компонентів: F0 і F1 (від англ. factor). Молекулярна маса АТФсинтази перевищує 500 кДа, із них на F1 припадає близько 340 кДа, а на F0 - решта маси. Кількість F0 складає близько 15% усього білку внутрішньої мембрани.

F0 (oligomycin-sensitive) - «ніжка гриба», це гідрофобний протонний канал, що пронизує наскрізь внутрішню мітохондріальну мембрану.

F1 - «шапка гриба», поза мембранний водорозчинний каталітичний компонент, який закриває з матриксної сторони отвір протонного каналу. Обидва компоненти сполучені центральним стеблом. Глобулярний сектор F1 складається з 9 субодиниць п'яти типів зі стехіометрією $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$. Субодиниці α і β чергуються навколо γ -субодиниці подібно долькам апельсину. Гексамер $\alpha_3\beta_3$ містить три каталітичні центри для синтезу АТФ, які утворені кожною β -субодиницею. Петльова частина γ -субодиниці виступає з $\alpha_3\beta_3$ -гексамерного домену та разом з ϵ -субодиницею фіксована в області полярних петель c-субодиниць F0. Крім того, з γ -субодиницею зв'язана δ -субодиниця. В клітинах F0 містить мультимер з субодиниць трьох типів зі стехіометрією a_b2c_{12} . Вони щільно упаковані відносно один одного і утворюють симетричну циліндроподібну структуру. Зовні c-мультимерного циліндра розташовані a- і b-субодиниці, причому між зануреною в мембрану a-субодиницею та сциліндром знаходиться отвір, через який йде транслокація протонів. Саме цей отвір, ймовірно, і є так званим протонним каналом АТФ-синтази.



Регуляція тканинного дихання

Дихальний контроль

Швидкість окиснення субстратів, зокрема НАДН+Н⁺, і транспорту електронів до молекулярного кисню по дихальному ланцюгу мітохондрій залежить від наявності АДФ і НЗРО₄, лімітується рівнем кисню в клітині та виражається рівнянням: $\text{НАДН} + 1/2\text{O}_2 + 2,5\text{АДФ} + 2,5\text{НЗРО}_4 \rightarrow \text{НАД} + 2,5\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O}$. Концентрація НЗРО₄ у клітині значно більша за концентрацію АДФ, тому саме рівень АДФ є основним у регуляції процесів дихання та окисного фосфорилування. Інтенсивність дихання мітохондрій (швидкість поглинання кисню) прямо пропорційна вмісту в них субстрату фосфорилування (АДФ). При підвищенні концентрації АДФ, інтенсивність дихання зростає, а при зменшенні вмісту АДФ, що супроводжується підвищенням концентрації АТФ (за типом зворотного зв'язку), інтенсивність дихання знижується. Залежність інтенсивності дихання від концентрації АДФ, отримало назву «дихальний контроль», який визначається співвідношенням концентрацій АТФ і АДФ:

$$\text{Дихальний контроль} = [\text{АТФ}]/[\text{АДФ}]$$

При значеннях $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}] < 1$ дихання йде інтенсивніше (що забезпечує реакцію $\text{АДФ} + \text{Фн} \rightarrow \text{АТФ}$). Це підтверджується збільшенням споживання кисню мітохондріями після додавання АДФ або по посиленому диханню людини, що біжить, а в стані спокою, тобто при відносно високому забезпеченні клітини АТФ та значеннях $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}] > 1$, інтенсивність дихання знижується.

Отже, відносні концентрації АТФ і АДФ у тканинах змінюються у вузьких межах, у той самий час як використання енергії клітиною, тобто частота обертів циклу АДФ–АТФ, може змінюватися в десятки й тисячі разів.

Речовини, які впливають на енергетичний обмін у клітинах

За механізмом дії сполуки, які впливають на енергетичний обмін у клітинах, можна поділити на чотири групи:

- 1) інгібітори дегідрогеназ;
- 2) інгібітори електронного транспорту;
- 3) інгібітори окисного фосфорилювання;
- 4) роз'єднувачі окисного фосфорилювання.

Інгібітори дегідрогеназ

Інгібітори дегідрогеназ знижують надходження атомів Гідрогену у дихальний ланцюг шляхом гальмування процесу дегідрування субстратів. Наприклад, препарати ізоніазид, фтивазид, салюзид та інші є структурними аналогами амідіу нікотинової кислоти. В цьому випадку має місце конкурентне заміщення у складі коферментів НАД-залежних дегідрогеназ, яке призводить до пригнічення їх дії. Малонова кислота є конкурентним інгібітором сукцинатдегідрогенази (ФАД-залежної), яка відщеплює атоми Гідрогену одного із субстратів циклу Кребса, що знижує швидкість ЦТК.

Інгібітори електронного транспорту або інгібітори тканинного дихання

Інгібітори електронного транспорту або інгібітори тканинного дихання (дихальні отрути) - порушують електротранспортну функцію дихального ланцюга мітохондрій за рахунок зв'язування з окремими ферментами або коферментами.

I комплекс дихального ланцюга блокують: ротенон (інсектицид), похідні барбітурової кислоти (амітал, фенобарбітал, секобарбітал), пірицидин (антибіотик), прогестерон (жіночий статевий гормон), які припиняють надходження Гідрогену у дихальний ланцюг від субстратів, що окиснюються під дією піридинзалежних дегідрогеназ, але не заважають використанню субстратів, які окиснюються через ФАД-залежні дегідрогенази. При блокуванні НАДН-дегідрогенази молекули НАДН накопичуються в матриксі, це веде до зниження швидкості ЦТК, а всі компоненти дихального ланцюга переходять в окисний стан, тобто зменшується швидкість транспорту електронів. Енергозабезпечення клітини знижується-гіпоергоз.

II комплекс дихального ланцюга (сукцинатдегідрогеназа - СДГ) інгібується маленовою кислотою, теноїлтрифторацетоном, карбоксином, що інгібують перехід електронів від СДГ на КоQ.

III комплекс дихального ланцюга (цит в, с1, FeS-білки) інгібується димеркапролом і антимицином А. Енергозабезпечення клітини також знижується. Цей блок можна обійти додаванням аскорбінової кислоти, яка безпосередньо відновлює цитохром с. Тому в її присутності дихання в мітохондріях продовжується, незважаючи на те, що дихальний ланцюг гальмується.

IV комплекс дихального ланцюга (цитохромоксидаза) інгібують класичні отрути: сірководень (H₂S), чадний газ (CO), ціаніди (NaCN, KCN), натрій азид (NaN₃). Наприклад, ціаніди приєднуються до іону Феруму цитохрому а. При цьому валентність Fe³⁺ стає постійною, потік електронів на кисень припиняється і тканинне дихання повністю блокується. Це викликає швидку загибель організму. Чадний газ (CO) інгібує цитохромоксидазу шляхом зв'язування з ділянкою гема, що взаємодіє з молекулою кисню.

Роз'єднувачі окисного фосфорилювання

- Протонофори (переносники протонів) можуть зворотно протонуватися за рахунок позамітохондріальних протонів і в такому вигляді електрофоретично переміщуватися до матриксної поверхні мембрани крізь її гідрофобний шар. Тут відбувається депротонування молекули, і протон, що звільнився, переходить в матрикс. У цьому випадку окиснення може йти без фосфорилювання. Типовим протонофором є 2,4-динітрофенол.
- Іонофори (переносники іонів) переносять через мембрану не іони H^+ , а інші катіони. Наприклад, токсичний антибіотик валіноміцин утворює жиророзчинний комплекс з іонами K^+ та сприяє збільшенню проникності мембрани для цих іонів. Антибіотик граміцидін полегшує проникнення крізь мембрану іонів K^+ , Na^+ , а також деяких інших одновалентних катіонів, що в кінцевому результаті знижує електрохімічний потенціал внутрішньої мембрани мітохондрій.

При наявності роз'єднувачів вільна енергія, що виділяється при перенесенні електронів, розсіюється у вигляді тепла. Таким чином, роз'єднувачі підвищують температуру тіла (пірогенна дія). Використання кисню і окиснення субстратів при цьому зростає, але синтез АТФ не відбувається. Тобто, на роз'єднанні дихання і фосфорилювання базується терморегуляторна функція тканинного дихання. У результаті роз'єднання кількість АТФ знижується, а АДФ збільшується.

Гіпоенергетичні стани (гіпоергоз)

Умови ефективного окисного фосфорилування:

1. Кисень
2. Субстрати тканинного дихання
3. Ферменти
4. Коферменти, іони металів
5. Цілісність мітохондрій
6. Доступність АДФ та Фн

Причини гіпоергозу:

1. Гіпоксія
2. Тривале голодування
3. Первинні та вторинні ензимопатії
4. А- та гіповітамінози РР, В2, В1, В3, ліпоату; дефіцит заліза, міді
5. Порушення цілісності мітохондрій
6. Порушення функціонування АТФ/АДФ-траслокази та Фн-траслокази.

Трансформація енергії

Енергія хімічних зв'язків субстратів



Енергія електронів у складі відновлених еквівалентів (ФАДН₂, НАДН)



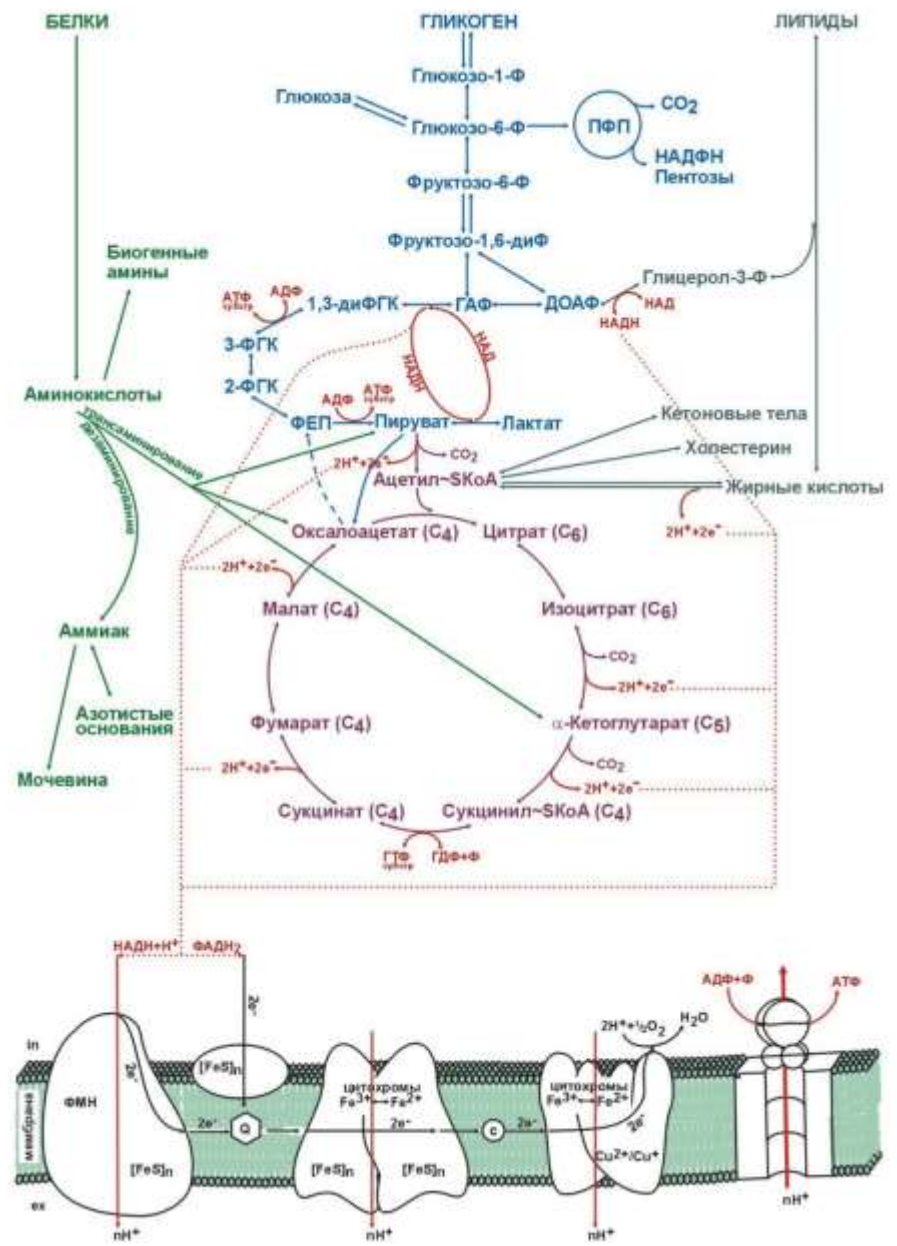
Енергія електронів, що переносяться ЕТЛ на $\frac{1}{2}$ O₂



Енергія трансмембранного електрохімічного потенціалу $\Delta\mu\text{H}^+$



Енергія хімічних зв'язків АТФ

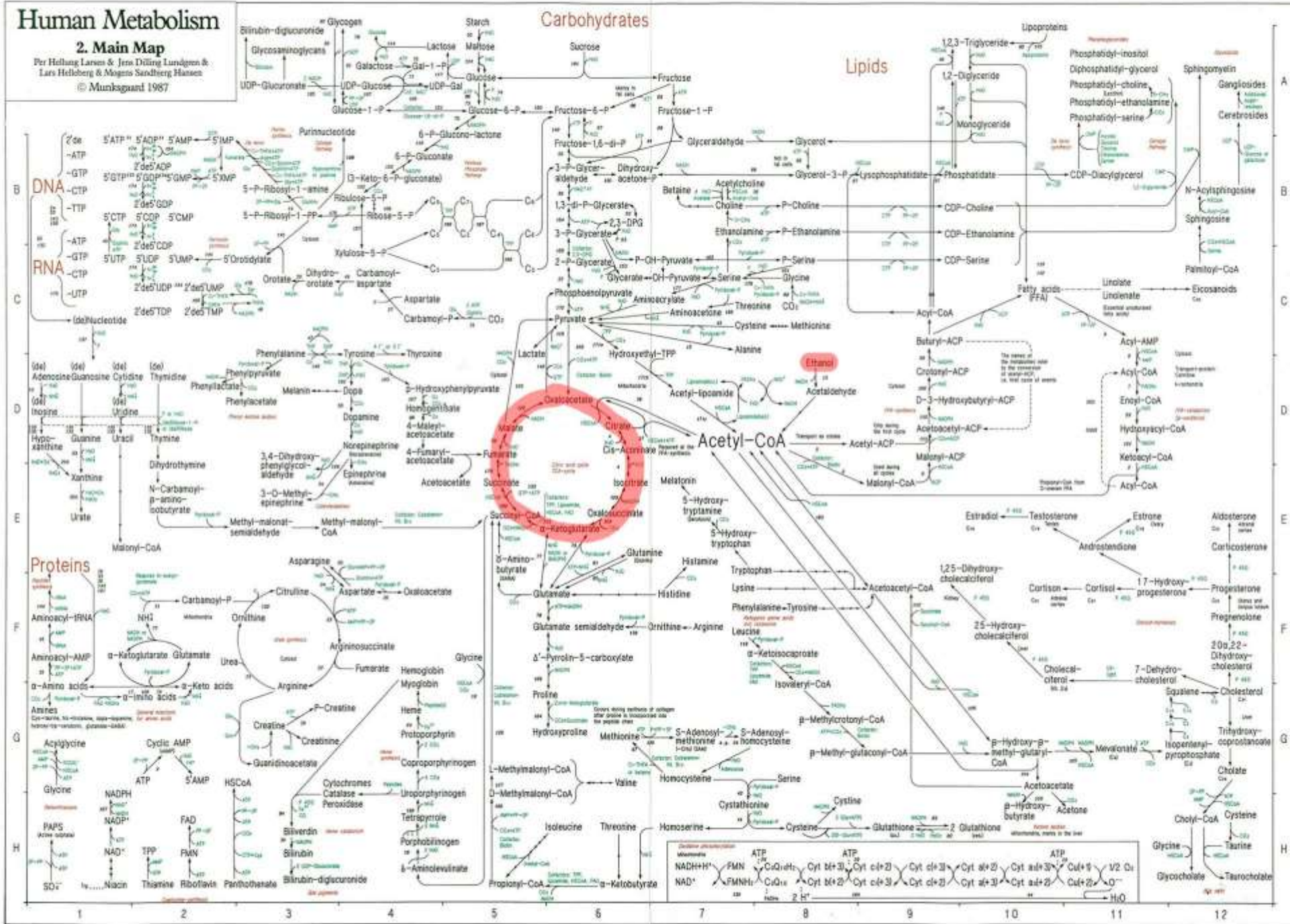


<https://biokhimija.ru/shema-reakci.html>

Human Metabolism

2. Main Map

Per Hellöng Larén & Jens Dilling Lundgren & Lars Hellöng & Magnus Sandberg Hansen
© Munksgaard 1987



Література

- Основна**
1. Біологічна хімія. Навчально-методичний посібник для самостійної аудиторної та позааудиторної підготовки до занять студентів III курсу фармацевтичного факультету спеціальності 7.12020101 "Фармація" та 7.12020104 «ТПКЗ». За редакцією Александрова К.В. –Запоріжжя, 2016. – 76с.
 2. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн. 2 Біологічна хімія / [Губський Ю.І., Ніженковська І.В., Корда М.М. та ін.]; за ред. Ю.І. Губського. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – 544 с.
 3. Біохімія: підручник / за загальною редакцією професора А.Л. Загайка, проф. К.В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
 4. Губський Ю.І. Біологічна хімія / Губський Ю.І. - Київ-Тернопіль, Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
 5. Гонський Я.І. Біохімія людини / Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І Підручник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.- 744 с.
 6. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини:підручник. Тернопіль, 2013.- 744с.
- Додаткова**
1. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / под редакцией Е.С. Северина, А.Я. Николаева.– М.: ГЭОТАР–МЕД, 2001.– 448 с.: ил.
 2. Боечко Л. Ф. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник / Л. Ф. Боечко, Л. О. Боечко. - К. : Вища шк., 1993. - 528 с.
 3. Ленинджер А. Основы биохимии: в 3 т. / А. Ленинджер - М. : Мир, 1985. – Т. 1- 367 с. : ил. – Т. 2 – 368 с. : ил. – Т. 3 – 320 с. : ил.
 4. Мак-Мюррей В. Обмен веществ у человека / В. Мак-Мюррей. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
 5. Марри Р. Биохимия человека: в 2 т. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл М. – М. Мир, 1993. - Т.1 - 381 с. - Т. 2 - 414 с.
 6. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке : в 3 т. / Д. Мецлер. - М. : Мир, 1980. – Т. 1 :– 407 с. – Т. 2 – 606 с. – Т. 3 – 488 с.
 7. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов / Я. Мусил. - М. : Медицина, 1985. - 432с.
 8. Николс Д.Дж. Биоэнергетика. Введение в хемио-осмотическую теорию / Д.Дж. Николс. – М. : Мир, 1985. - 190 с.
 9. Ньюсхолм Э. Регуляция метаболизма / Э. Ньюсхолм, К. Старт. - М. : Мир, 1977. - 407 с. 13. Парк Д. Биохимия чужеродных соединений / Д. Парк. - М. : Медицина, 1973. - 288 с.
 10. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран / В. П. Скулачев. – М. : Наука, 1989. – 564с. 16. Стент Г. Молекулярная генетика / Г. Стент, Р.Кэлиндар. - М.: Мир, 1981. – 646 с.
 11. Страер Л. Биохимия : в 3 т. / Л.Страер. - М. : Мир, 1985. – Т. 1- 232 с. : ил. – Т. 2 – 312 с. : ил. – Т. 3 – 400 с. : ил.