

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

**ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ**



Біологічна хімія

*Навчально-методичний посібник для самостійної
позааудиторної підготовки до занять*

Змістовий модуль 2: Загальні уявлення про обмін речовин та енергії

Спеціальності: 7.12020101 «Фармація»
7.12020104 «Технології парфумерно-косметичних засобів»

Запоріжжя
2016

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». Змістовий модуль 2. Загальні уявлення про обмін речовин та енергії склали:

- © Александрова К.В. – д.х.н., професор
- © Шкода О.С. – к.фарм.н., доцент
- © Макоїд О.Б. – к.б.н., доцент
- © Сінченко Д.М. – к.фарм.н., асистент
- © Левіч С.В. – к.фарм.н., ст. асистент
- © Васильєв Д.А. – к.фарм.н., ст. асистент

Під загальною редакцією завідувача кафедри біологічної хімії д.х.н. **професора Александрової К.В.**

Рецензенти:

Прийменко Борис Олександрович – професор кафедри органічної та біоорганічної хімії, д.фарм.н.

Приходько Олександр Борисович – завідувач кафедри біології медичної біології, паразитології та генетики, д.біол.н., доцент.

ПЕРЕДМОВА

Навчально-методичний посібник, що пропонується є необхідними додатковими методичними матеріалами для вивчення дисципліни «Біологічна хімія» студентами III курсу фармацевтичного факультету спеціальностей «Фармація» та «ТПКЗ». В зв'язку з введенням нових Стандартів вищої освіти, зміною навчальних планів та частковим перерасподілом початкових годин, які відводяться на аудиторну та самостійну роботи студентів виникає потреба в навчально-методичних посібниках, які б дали змогу студенту позааудиторно опрацювати теоретичний матеріал, згідно питань до заняття, перевірити себе за блоком тестів, який пропонується для самоконтролю домашньої підготовки. У ході позааудиторної самостійної роботи студент повинен також ознайомитись з тестовими питаннями для складання Ліцензійного інтегрованого іспиту «Крок 1. Фармація». У навчально-методичному посібнику також міститься необхідна інформація (перелік питань для підготовки до складання змістового модулю 2.)

ЗАНЯТТЯ № 7

1. ТЕМА: Загальні закономірності обміну речовин та енергії. Цикл трикарбонових кислот.

2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ: Обмін речовин у живій клітині тісно пов'язаний з обміном енергії. Більшість реакцій біосинтезу, функціонування систем йонного транспорту через клітинні мембрани та робота спеціалізованих внутрішньоклітинних структур є ендоенергетичними процесами. Порушення енергетичного обміну часто виступає в якості важливої ланки патогенезу цілого ряду захворювань. Тому і його корекція складає основу профілактики і лікування цих захворювань.

3. МЕТА ЗАНЯТТЯ: Вивчити біохімічні закономірності протікання обміну речовин та енергії. Вміти трактувати біохімічні закономірності функціонування, механізми регуляції та ключову роль ЦТК в обміні речовин та енергії.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальні уявлення про метаболізм і обмін енергії в організмі. Катаболічні, анаболічні і амфіболічні шляхи метаболізму, їх взаємозв'язок.
2. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції. Макроергічні фосфати, порівняльна характеристика. АТФ, як універсальне джерело енергії в клітині.
3. Стадії катаболізму для екзогенних і ендогенних біомолекул в організмі. Загальні і специфічні шляхи катаболізму. Кінцеві продукти катаболічних шляхів в організмі людини.
4. Цикл трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса): внутрішньоклітинна локалізація, послідовність реакцій.
5. Характеристика ферментів ЦТК. НАД- та ФАД-залежні дегідрогенази. Будова, склад та функції альфа-кетоглутаратдегідрогеназного комплексу. Субстратне фосфорилування в циклі Кребса, механізм дії, значення.
6. Енергетичний баланс ЦТК.
7. Регуляція і біологічна роль ЦТК.

5. ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ ДО ЗАНЯТТЯ

ВВЕДЕННЯ В ОБМІН РЕЧОВИН І ЕНЕРГІЇ

Живий організм – 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. За своєю суттю обмін речовин являє собою одночасне перебігання двох протилежних процесів – новоутворення і розпаду. Таким чином, обмін речовин (або метаболізм від грецьк. *metabole* – зміна, перетворення) - це сукупність хімічних, фізико-хімічних, фізіологічних та біологічних процесів перетворення речовин в

живому організмі, що відбуваються за участю ферментів у тісному зв'язку з оточуючим середовищем. Виключення будь-якого ферменту призводить до порушення нормального ходу обміну речовин, тобто до патології. Однак слід зазначити, якщо у широкому значенні термін "метаболізм" є тотожним "обміну речовин", то у більш точному і вузькому значенні "метаболізм" являє проміжний обмін, тобто перетворення речовин усередині клітин з моменту їх надходження до утворення кінцевих продуктів. Всі реакції обміну речовин проходять не хаотично, в організмі людини вони взаємопов'язані, взаємозалежні та взаємообумовлені.

Метаболізм виконує чотири специфічні функції:

1. Перетворення молекул поживних речовин на низькомолекулярні метаболіти, що використовуються в клітині для біосинтезу власних макромолекул.
2. Забезпечення організму хімічною енергією для виконання різних видів роботи.
3. Синтез власних макромолекулярних і надмолекулярних структур живого організму із використанням енергії АТФ та НАДФН.
4. Синтез та розпад низькомолекулярних, біологічно активних речовин, які виконують специфічні функції в організмі.

Речовини, що беруть участь в метаболізмі, називаються метаболітами. До них відносяться біомолекули, що утворюються в організмі в процесі обміну речовин (амінокислоти, жирні кислоти, моносахариди, гормони тощо), крім того речовини, які не синтезуються в організмі, а надходять до нього ззовні (напр. вітаміни).

Процеси ферментативного перетворення одних метаболітів на інші складають *метаболічні шляхи*. У метаболічному шляху продукти однієї реакції стають субстратом для наступної реакції. Деякі метаболічні шляхи є лінійними, деякі - розгалуженими, які дозволяють отримувати декілька кінцевих продуктів з одного попередника. Існують циклічні метаболічні шляхи, в результаті яких одна з початкових сполук метаболічного шляху після серії послідовних реакцій регенерує, в той самий час як інша речовина перетворюється в кінцевий продукт.

Метаболічні шляхи поділяються на:

1) *катаболічні* - розпад біомолекул (глюкози, жирних кислот, амінокислот, гліцерину) до кінцевих продуктів - CO_2 , NH_3 , H_2O , 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;

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 (табл. 1);

3) *амфіболічні* - розташовані в точках перемикання метаболізму і зв'язують анаболізм і катаболізм (так звані «перехрестя метаболізму»). Амфіболічним шляхом, наприклад, є цикл трикарбонових кислот.

Таблиця 1

Порівняльна характеристика процесів катаболізму та анаболізму

№	Катаболізм	Анаболізм
1.	Розпад різних складних органічних біомолекул до однакових простих кінцевих продуктів.	Синтез різних складних органічних біомолекул із однакових простих.
2.	Ключові реакції - окиснення сполук	Ключові реакції - відновлення сполук .
3.	Виділяється вільна енергія, утворюється АТФ (екзергонічні реакції).	Затрачується енергія, розпадається АТФ (ендергонічні реакції).
4.	Продукти катаболізму служать субстратами анаболізму.	Кінцеві продукти анаболізму є субстратами для катаболізму.

Катаболічні та анаболічні реакції в організмі спряжені на рівні:

- 1) субстратів (ацетил-КоА, піруват, глюкозо-6-фосфат);
- 2) відновлених еквівалентів (НАДН, НАДФН, ФАДН₂);
- 3) макроергічних сполук (АТФ, ГТФ, ТТФ тощо).

В організмі людини постійно проходять реакції і розпаду, і синтезу. Однак, слід зазначити, що анаболізм і катаболізм не є простим обертанням реакцій. Катаболічні та анаболічні шляхи завжди відрізняються хоч би однією з ферментативних реакцій, щоб регулюватися незалежно. Наприклад, специфічний шлях розпаду глюкози до лактату (анаеробний гліколіз) включає 11 реакцій; зворотній процес - синтез глюкози з лактату (глюконеогенез) включає 8 оборотних реакцій (спільних з гліколізом) і 4 додаткових реакції з новими наборами ферментів. Саме завдяки неідентичності стадій за рахунок спрямованої зміни активності ферментів регулюються швидкості розпаду і синтезу глюкози. Крім того, шляхи катаболізму та анаболізму просторово відокремлені один від одного в різних частинах клітини за рахунок компартменталізації (від англ. *compartment* – відділок, відсік). Наприклад, у клітині одночасно відбувається окиснення жирних кислот - у мітохондріях, а протилежно спрямований процес синтезу жирних кислот – у цитозолі. Локалізація специфічних метаболічних процесів в різних відсіках клітин полегшує незалежну регуляцію цих процесів.

Взаємовідношення анаболічних і катаболічних процесів в організмі на певний момент часу називається метаболічний статус (*status* - стан на який-небудь момент часу).

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

1) надходження поживних сполук до організму в складі продуктів харчування;

2) перетравлення білків, ліпідів і вуглеводів в травному тракті до мономерів (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, гліцерину) 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, продуктів кон'югації ксенобіотиків).

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

ОСНОВНІ ШЛЯХИ РЕГУЛЯЦІЇ МЕТАБОЛІЗМУ

В організмі людини обмін речовин піддається тонкій регуляції. Саме потреба в енергії визначає швидкість катаболізму, а синтез речовин (білків, нуклеїнових кислот та їх структурних компонентів) у певній кількості відбувається тільки тоді, коли вони необхідні.

Існують системи, що узгоджують і координують роботу різних органів і тканин. Таку інтегруючу роль відіграють гормональна, нервова, а також судинна система, яка служить для перенесення всіх хімічних речовин в організмі. Нервова система відповідає за швидку реакцію на зміну навколишнього середовища шляхом передачі інформації у вигляді електричних сигналів. В ендокринній системі секретуються гормони, що надходять у кров. Більшість гормонів змінюють метаболізм за рахунок впливу на активність або кількість ферментів. У нормі ці системи взаємодіють, доповнюючи одна одну. В умовах патології процеси катаболізму часто переважають над анаболізмом.

Для організму характерні такі механізми регуляції метаболізму:

- зміна активності наявних ферментів;
- зміна кількості ферментів;
- зміна проникності клітинних мембран.

1. *Зміна активності наявних ферментів* - найпоширеніший спосіб регуляції метаболізму. Вона відбувається шляхом алостеричної регуляції, ковалентної модифікації, активації проферментів. Регуляції підлягають "ключові" ферменти, які визначають швидкість усього поліферментного процесу. Зміна активності ферментів відіграє принципову роль у регуляції метаболізму кінцевими продуктами (ретроінгібірування) і рідше - першими продуктами (фороактивація).

2. *Зміна кількості ферментів* в клітині здійснюється шляхом індукції або репресії генів, а також їх протеолітичної деградації в клітині. Індукція або репресія генів регулюється гормонами або іншими субстратами.

3. *Зміна проникності клітинних мембран*- це зміна цілого комплексу функцій мембран (зміна швидкості потоків метаболітів та газів в клітину і з клітини, зрушення електрохімічного потенціалу, передача нервових імпульсів, функціонування рецепторів тощо).

Обмін речовин відбувається безперервно. Завдяки харчуванню організм людини отримує різну кількість вихідних речовин, які зазнають метаболічних перетворень. Основним фактором, що визначає баланс процесів обміну речовин, є співвідношення між споживанням їжі та витратою енергії. Надлишок харчових речовин може відкладатися в організмі людини (глікоген, жир).

ВВЕДЕННЯ В БІОЕНЕРГЕТИКУ

Обмін речовин в організмі нерозривно пов'язаний з обміном і перетворенням енергії. Більшість реакцій біосинтезу, скорочення м'язів, передача нервового імпульсу, функціонування іонного транспорту крізь клітинні мембрани і робота спеціалізованих внутрішньоклітинних структур спряжені зі споживанням енергії. В основі всіх процесів життєдіяльності лежить постійний обмін речовин і енергії між організмом і оточуючим середовищем, тому всі живі організми належать до відкритих систем. *Співвідношення між кількістю енергії, яка надходить із їжею, і кількістю енергії, що виділяється в зовнішнє середовище, являє собою енергетичний баланс організму.*

Обмін енергії включає процеси вивільнення, трансформації, накопичення й використання енергії, що утворюється під час розпаду певних речовин в організмі. Кожна органічна речовина, яка входить до складу живої матерії, має запас потенційної енергії, за рахунок якої може бути здійснена робота.

Розділ біохімії, який вивчає перетворення й використання енергії в живих клітинах, має назву *біоенергетика* (або *біохімічна термодинаміка*).

Біоенергетика розглядає три питання:

1. Джерела енергії.
2. Способи перетворення і накопичення енергії.
3. Шляхи використання енергії.

Першоджерелом енергії на Землі є світлова енергія Сонця, й автотрофні організми (зелені рослини) перетворюють її в процесі фотосинтезу в потенційну енергію хімічних зв'язків синтезованих органічних сполук. Гетеротрофні організми (зокрема людина) використовують енергію, що виділяється в процесі окиснення вуглеводів, білків, жирів їжі. Оскільки живі організми з точки зору термодинаміки - відкриті системи, то між системою і навколишнім середовищем можливий обмін енергії, який відбувається відповідно за законами термодинаміки, що діють у неживій природі. Тобто, енергія не створюється з нічого і не зникає безслідно, а перетворюється з одного виду на інший, та її загальна кількість в будь-якій системі залишається незмінною.

Однак, енергетика процесів біологічного обміну речовин відрізняється від енергетичних реакцій, що здійснюються в неживій природі та ґрунтується на трьох основних принципах.

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.

Корисною енергією для клітин є тільки вільна енергія (ΔG) - це кількість внутрішньої енергії системи, яка може бути перетворена на роботу. Зміна вільної енергії в ході реакції (при постійних температурі та тиску) виражається формулою:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S,$$

де ΔG – вільна енергія (енергія Гібса); ΔH – ентальпія (тепловміст системи); T – абсолютна температура; ΔS – ентропія системи (яка характеризує ступінь її неупорядкованості та зростає при самовільних процесах).

Якщо значення ΔG негативне, то реакція перебігає самовільно і супроводжується зменшенням вільної енергії (*екзергонічні реакції*). Якщо значення ΔG позитивне, то реакція буде перебігати тільки при надходженні вільної енергії ззовні (*ендергонічні реакції*). При $\Delta G = 0$ система набуває рівноваги.

Ендергонічні реакції можуть існувати тільки в поєднанні з екзергонічними реакціями, тобто збільшення вільної енергії можливе лише за рахунок інших спряжених реакцій, які відбуваються зі зменшенням вільної енергії. Життєво важливі процеси в організмі - реакції синтезу, м'язове скорочення, проведення нервового імпульсу, транспорт через мембрани отримують енергію шляхом хімічного сполучення з окисними реакціями, в результаті яких відбувається вивільнення енергії. Для сполучення ендергонічних реакцій з екзергонічними реакціями потрібні акумулятори енергії в організмі, в яких запасється приблизно 50 % енергій (рис. 1).

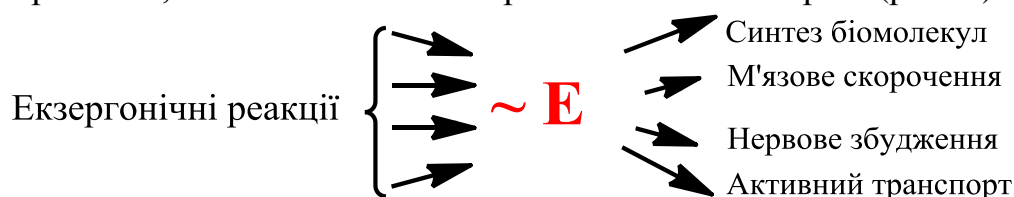


Рис. 1. Спряження екзергонічних та ендергонічних процесів

МАКРОЕРГІЧНІ СПОЛУКИ

Для поєднання ендергонічних та екзергонічних реакцій необхідно, щоб вони мали спільну проміжну сполуку, яка б виступала як переносник хімічної енергії. Такими зв'язуючими агентами є сполуки, що містять макроергічні зв'язки, тобто «багаті енергією». При цьому поняття «багатий енергією зв'язок» у біохімії відрізняється від поняття «енергія зв'язку» у хімії. Під хімічним поняттям розуміють енергію, необхідну для розриву зв'язку між двома атомами в молекулі. Розглядаючи в біохімії високоенергетичні та низькоенергетичні зв'язки і сполуки, енергію зв'язку визначають як вільну енергію, що виділяється при гідролітичному розпаді даної сполуки (табл. 2). Зв'язок вважається високоенергетичним, якщо при його гідролізі зміна вільної енергії більше 21 кДж/моль (за іншими джерелами – 30 кДж/моль). Макроергічні зв'язки, які позначаються символом ~ (тильда), підрозділяють на декілька типів:

- фосфоангідридні (АТФ, ЦТФ, ГТФ, УТФ, цАМФ);
- фосфогуанідинові (креатинфосфат);
- енолфосфатні (фосфоенолпіруват);
- тіоефірні (ацетил-КоА, сукциніл-КоА).

Сполуки, що містять такі зв'язки називають макроергічними.

Таблиця 2

Стандартна вільна енергія гідролізу (ΔG°) деяких високоенергетичних та низькоенергетичних сполук

Сполуки	ΔG° , кДж/моль
1	2
Фосфоенолпіруват	-61,9
1,3-дифосфогліцерат	-49,4
Сукциніл-КоА	-43,5
Креатинфосфат	-43,1
Пірофосфат (ФФн)	-33,5
АТФ → АМФ + ФФн*	-32,2
АТФ → АДФ + Фн**	-30,5
Глюкозо-1-фосфат	-20,9
Глюкозо-6-фосфат	-13,8
Фруктозо-6-фосфат	-13,8
Гліцерол-3-фосфат	-9,2

Примітка: тут і надалі * - ФФн або РР – пірофосфат неорганічний ($H_4P_2O_7$);
 ** - Фн або Р – фосфат неорганічний (H_3PO_4).

Центральне місце в приведеній шкалі (табл. 2) посідає цикл:



Ряд високоенергетичних сполук, які стоять вище АТФ в термодинамічній шкалі, мають більшу вільну енергію гідролізу, ніж АТФ (наприклад, фосфоенолпіруват, 1,3-дифосфогліцерат), але ці сполуки під дією специфічних кіназ можуть передавати свої фосфатні групи тільки на АДФ з утворенням АТФ і не можуть служити джерелом енергії для інших сполук. Це дозволяє АТФ бути як універсальним акумулятором, так і універсальним джерелом енергії для живих організмів, тобто АТФ – основна макроергічна сполука в організмі людини (рис. 2).

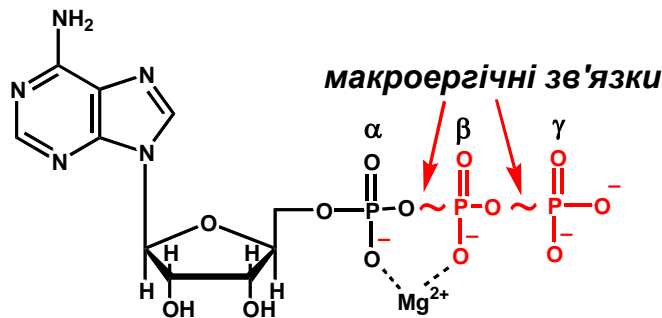


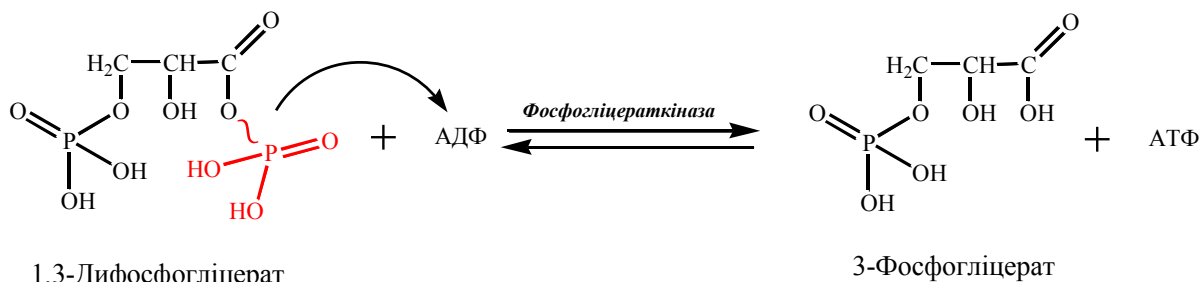
Рис. 2. АТФ – аденозинтрифосфатна кислота (у вигляді аніону АТФ⁴⁻)

АТФ є похідною аденілової кислоти (аденозинмонофосфат або АМФ), до якої приєднані ще дві молекули ортофосфатної кислоти. АТФ містить два макроергічних зв'язки та є термодинамічно нестійкою молекулою, в результаті її гідролізу утворюються АДФ або АМФ. При гідролізі АТФ до АДФ в стандартних умовах виділяється -30,5 кДж/моль енергії. Однак, оскільки у клітинах АТФ знаходиться переважно в комплексі з іонами Mg²⁺, пов'язаними з α- та β-фосфатом, це збільшує зміну вільної енергії при гідролізі АТФ до АДФ до -52,2 кДж/моль. Таким чином, слід зазначити, що в різних джерелах наводяться різні значення зміни вільної енергії гідролізу АТФ, що залежить від концентрації АТФ, АДФ, АМФ, іонів Mg²⁺, величини рН, температури тощо. Тому у фізіологічних умовах (рН 7,0, температура 37° С) значення зміни вільної енергії гідролізу АТФ коливається у межах 40-60 кДж/моль (у середньому 50 кДж/моль).

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.

Синтез АТФ у клітині може здійснюватися двома шляхами:

1. *Субстратне фосфорилування*, при якому відбувається безпосередня передача молекули активного фосфату (залишку ортофосфатної кислоти) на АДФ від більш енерговмісних сполук (наприклад, 1,3-дифосфогліцерат), що стоять вище АТФ в термодинамічній шкалі (табл. 2), без участі кисню (*анаеробне окиснення субстратів*):

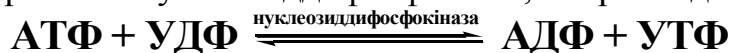


Субстратне фосфорилування дає лише незначну кількість молекул АТФ, головним чином, в умовах гіпоксії, або при дії інших екстремальних факторів, які інгібують аеробне окиснення субстратів. Його біологічне значення полягає в тому, що більшість субстратів-макроергів існує менше секунди і фактично розпадається в момент утворення. Нуклеотиди ж (АТФ тощо) існують близько хвилини, тобто в сотні разів довше, і є більш стійкими акумуляторами енергії, ніж субстрати.

2. *Окисне фосфорилування*, яке відбувається в мітохондріях і спряжене з тканинним диханням, акумулює енергію електрохімічного потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрій та постачає клітині найбільший пул АТФ (протікає тільки в аеробних умовах).

АТФ забезпечує енергією практично усі процеси життєдіяльності в організмі. Клітини мозку споживають велику кількість АТФ для синтезу нейромедіаторів, регенерації нервових клітин, підтримки концентрації іонів Na^+ і K^+ та проведення нервового імпульсу. Нирки використовують АТФ у процесі реабсорбції різних речовин при утворенні сечі, а печінка – для синтезу глікогену, жирів, білків і багатьох інших сполук. В міокарді постійно відбувається механічна робота, що необхідна для циркуляції крові. Скелетні м'язи в спокої споживають незначну кількість АТФ, але при фізичному навантаженні ці потреби зростають у десятки разів. Цикл АТФ-АДФ - основний механізм обміну енергії в біологічних системах, а АТФ - унікальна «енергетична валюта».

Однак, задачу забезпечення енергією можуть виконувати й інші нуклеозидтрифосфати. Здебільшого вони утворюються при участі АТФ під дією спеціальних ферментів нуклеозиддифосфокіназ, наприклад:



Далі відповідні нуклеозидтрифосфати можуть бути використані для синтезу важливих сполук у клітині: УТФ – вуглеводів, ЦТФ – ліпідів, ГТФ – білків тощо.

Необхідно відзначити, що у катаболічних процесах запасання енергії може відбуватися і без утворення нуклеозидтрифосфатів. У такому випадку утворюються інші макроергічні субстрати. Наприклад:

а) при розщепленні глюкози до лактату утворюються: 1,3-дифосфогліцерат і фосфоенолпіруват;

б) при окисному декарбоксилюванні піровиноградної кислоти утворюється макроергічний субстрат ацетил~SKoA;

в) у циклі Кребса при дії α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу утворюється сукциніл~SKoA.

СТАДІЇ КАТАБОЛІЧНИХ ШЛЯХІВ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

Реакції катаболізму є основним шляхом утворення енергії в організмі людини. В цих реакціях умовно виділяють три стадії (рис. 3).

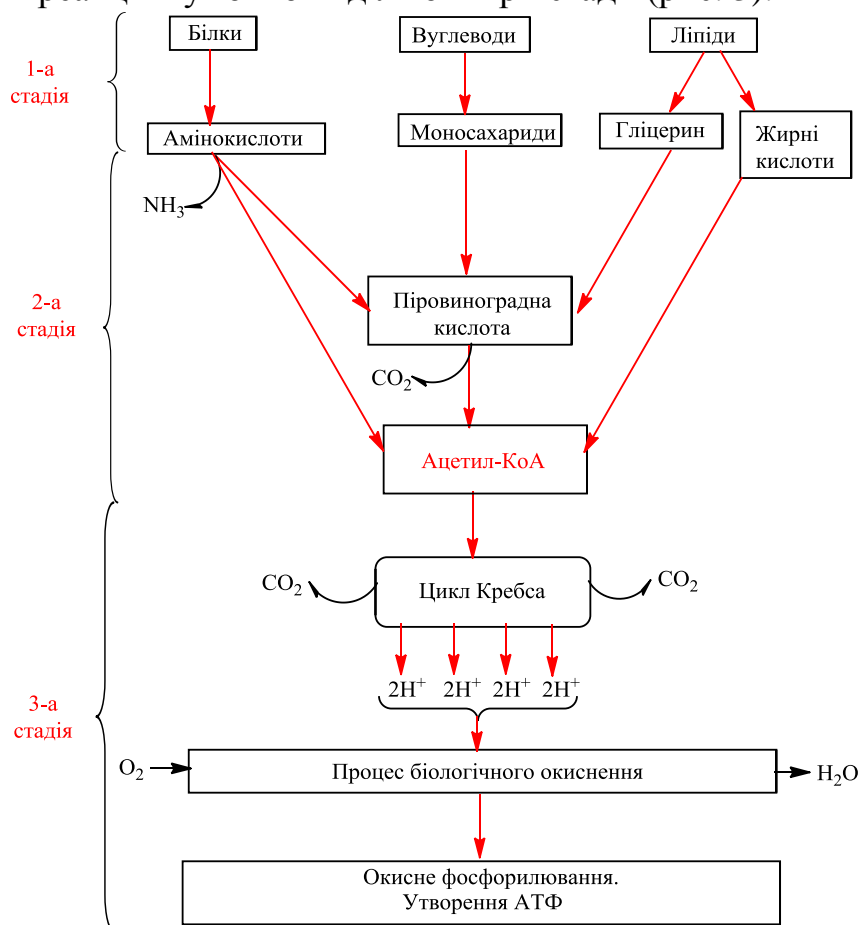


Рис. 3. Стадії катаболізму біомолекул

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, триацилгліцериди – до гліцерину і вищих жирних кислот, білки – до амінокислот, нуклеїнові кислоти – до мононуклеотидів. Реакції першої стадії катаболізму екзогенних та ендогенних субстратів каталізуються ферментами 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 один спільний продукт (рис. 4):

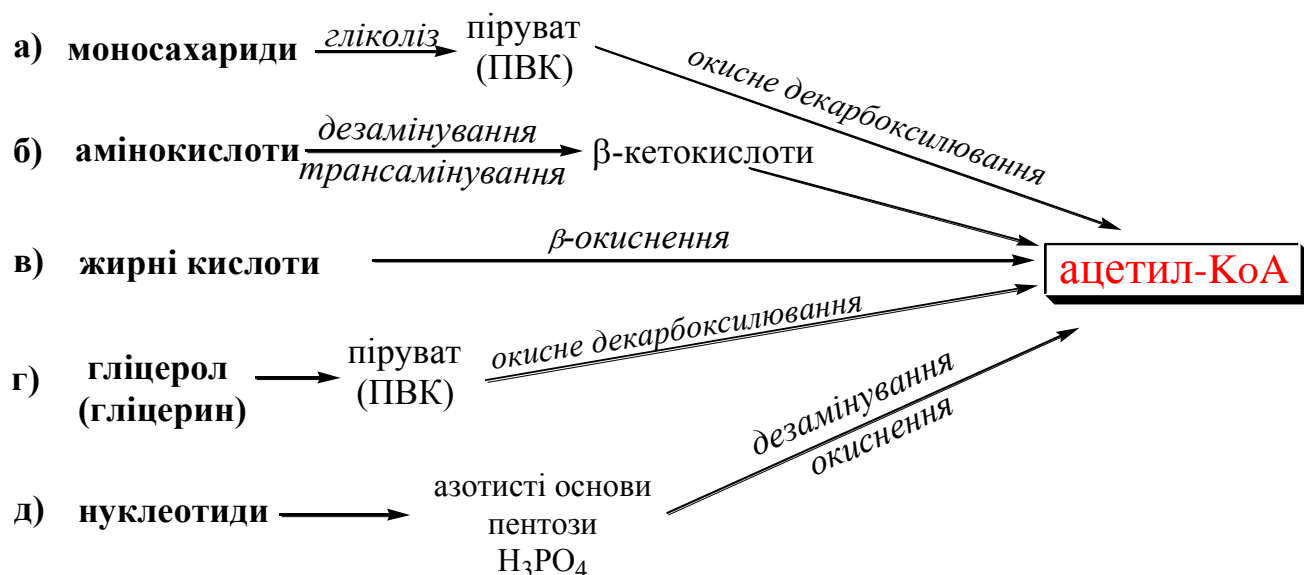


Рис. 4. Друга стадія катаболізму біомолекул

Таким чином, ацетил-SКоА – 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-SКоА до кінцевих метаболітів CO_2 і H_2O за участю кисню. Ця стадія локалізована в мітохондріях і складається з двох процесів:

- циклу трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса-Ліпмана або цикл лимонної кислоти), внаслідок функціонування якого утворюється CO_2 , 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 H_2O .

На третій стадії катаболізму відбуваються процеси тканинного дихання, які складають основу енергетичного забезпечення організму. В цій фазі 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 ПВК в ацетил-SКоА, ЦТК та дихальний ланцюг представляють собою *загальний шлях катаболізму*.

ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

Цикл трикарбонних кислот (цикл лимонної кислоти, цикл Кребса) — циклічна послідовність ферментативних реакцій, у результаті яких ацетил – КоА ($\text{CH}_3 - \text{CO} \sim \text{S} - \text{CoA}$) – продукт катаболізму основних видів метаболічного палива (вуглеводів, жирів, амінокислот), окислюється до двоокису вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій — нікотинамідних або флавінових коферментів.

Загальна характеристика циклу трикарбонних кислот

Цикл трикарбонних кислот (ЦТК) — це загальний кінцевий шляхокислювального катаболізму клітини в аеробних умовах. Реакції та ферменти ЦТК локалізовані в матриксі та внутрішній мембрані мітохондрій. Вони функціонально та біохімічно спряжені з мітохондріальними електронотранспортними ланцюгами, що використовують для відновлення атомів кисню. Відновлювальні еквіваленти від НАДН ($\text{НАДН} + \text{H}^+$) та ФАДН₂ або ФМНН₂ і утворюють АТФ у ході окисного фосфорилування.

Схема функціонування ЦТК

Цикл трикарбонних кислот починається з взаємодії (конденсації) двовуглецевої молекули ацетил – КоА (C₂) з чотиривуглецевою (C₄) щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом), що призводить до утворення шестивуглецевої (C₆) молекули лимонної кислоти (цитрату). В результаті подальшого багатоступеневого перетворення три – та дикарбонних кислот (інтермедіатів ЦТК) відбувається регенерація оксалоацетату (C₄) та виділяються дві молекули двоокису вуглецю (C₂).

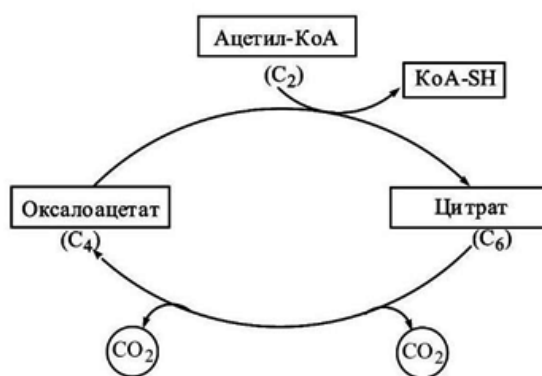


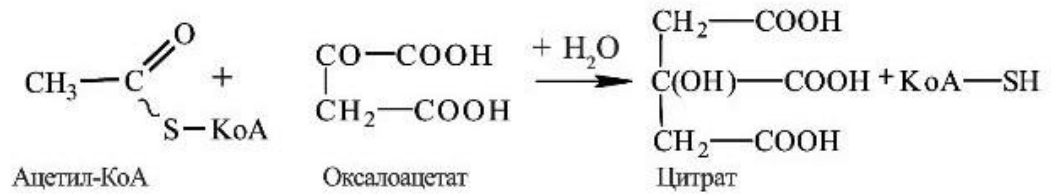
Схема функціонування циклу лимонної кислоти.

Таким чином, коензим А відщеплюється від ацетил – КоА («активної форми оцтової кислоти») вже в першій реакції ЦТК; у ході функціонування подальших реакцій циклу відбувається відщеплення від цитрату (альтернативна назва ЦТК — цитратний цикл) двох молекул двоокису вуглецю та чотирьох пар атомів водню ($4 \times 2\text{H}$), що дозволяє подати таке сумарне рівняння ЦТК:



Ферментативні реакції циклу трикарбонних кислот

1. Утворення лимонної кислоти (цитрату) за рахунок конденсації ацетил - КоА з щавлевоцтовою кислотою (оксалоацетатом):



Реакція каталізується ферментом *цитратсинтазою*. Вона є регуляторним ферментом, активність якого гальмується АТФ, НАДН, сукциніл - КоА та довголанцюговими ацил - КоА.

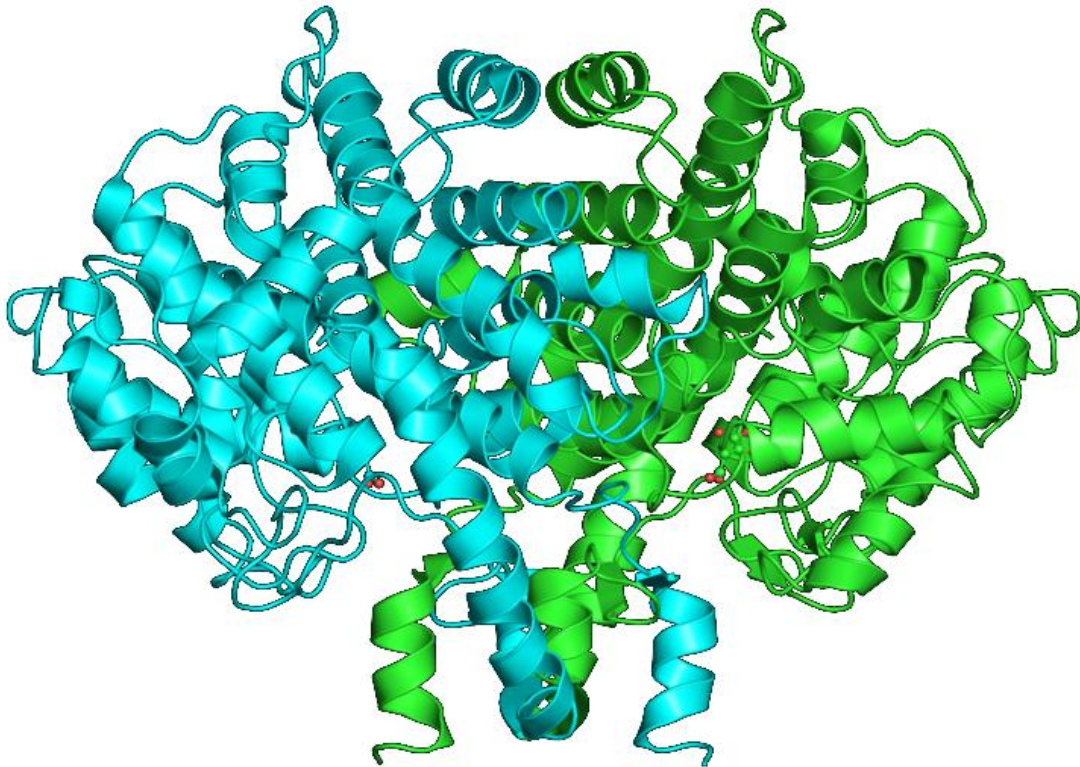
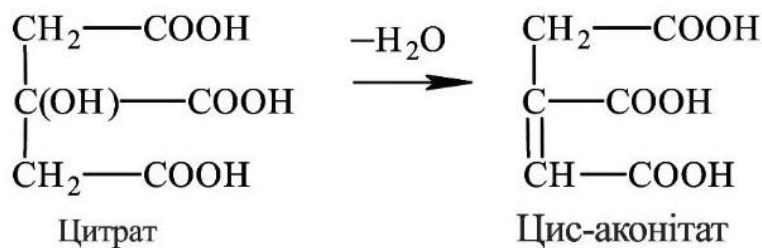


Рис. 1 Цитратсинтаза

2. Перетворення (ізомеризація) цитрату на ізоцитрат. Реакція каталізується ферментом аконітазою і складається з двох етапів:

2.1. Дегідратація лимонної кислоти з утворенням *цис - аконітової кислоти (цис - аконітату)*:



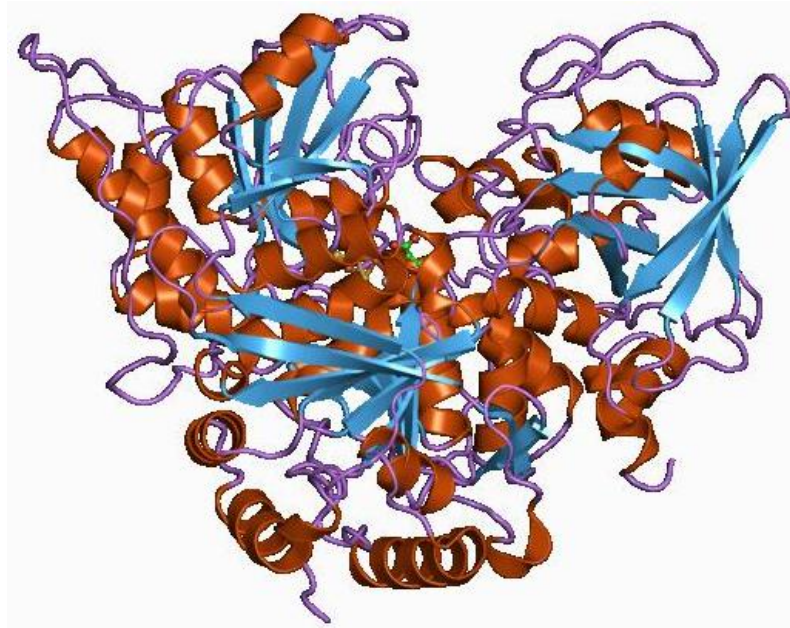
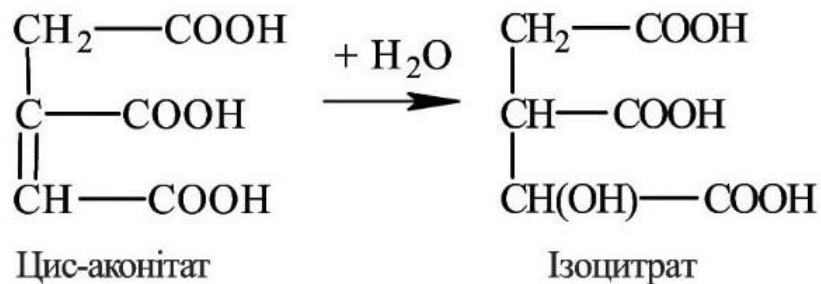


Рис 2. Аконітаза

2.2. Приєднання до цис-аконітату молекули води.

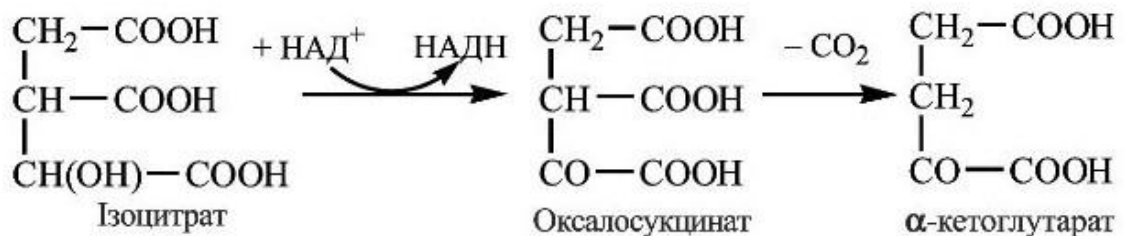
При приєднанні до подвійного зв'язку в складі цис – аконітату H^+ та OH^- – у транс – положенні результатом реакції є утворення ізолимонної кислоти (ізоцитрату):



3. Дегідрування та декарбоксилювання ізоцитрату.

Реакція каталізується $НАД^-$ – залежною ізоцитратдегідрогеназою і призводить до утворення α – кетоглутарової кислоти (α – кетоглутарату).

Ізоцитратдегідрогеназа є регуляторним ферментом, позитивний модулятор якого — АДФ, негативний — НАДН.



Фермент має дві молекулярні форми — мономерну (молекулярна маса ізоцитратдегідрогенази з мітохондрій серця дорівнює 330 кД) та димерну. В присутності позитивного модулятора АДФ мономери агрегують між собою з утворенням димеру. Негативний модулятор НАДН протидіє індукованій АДФ агрегації мономерних форм ферменту. Обидві молекулярні форми

ізоцитратдегідрогенази мають каталітичні властивості, але за умов низької концентрації АДФ димер значно більш активний.

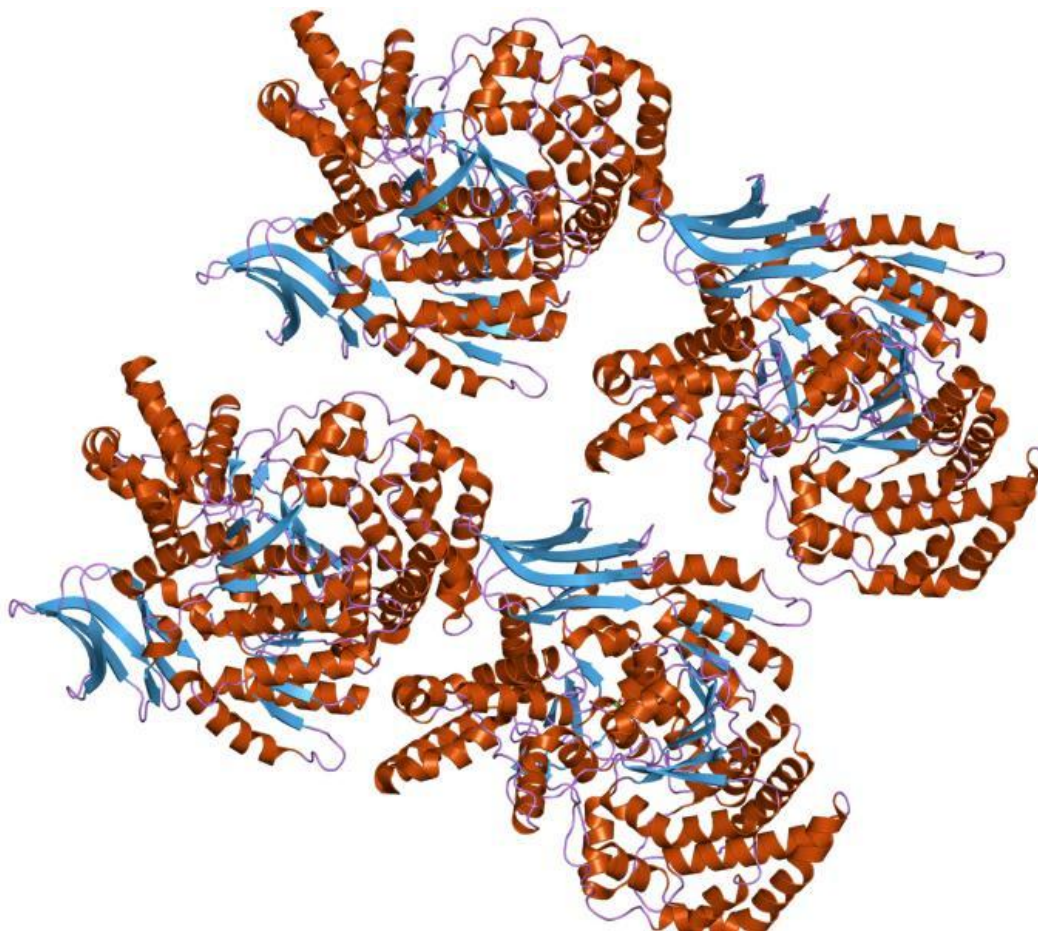
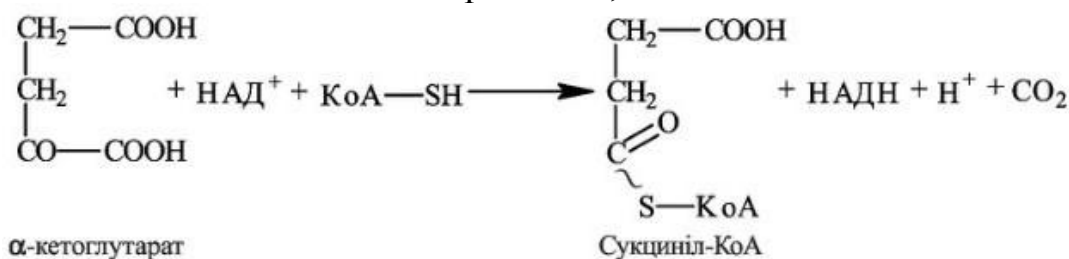


Рис. 3. Ізоцитратдегідрогеназа

4. Окислення α – кетоглутарату до сукцинату

Цей процес відбувається у дві стадії

4.1. Окислювальне декарбосилування α – кетоглутарату з утворенням сукциніл – КоА — стадія, що каталізується мультиензимним α – кетоглутарат–дегідрогеназним комплексом. Кінцевий продукт — високоенергетичний тіоефір сукциніл~ КоА, в макроергічному зв'язку якого акумульовано хімічну енергію окислювально – відновлювальною реакцією, що мала місце:



НАДН, що утворився в цій реакції, окислюється в дихальному ланцюзі мітохондрій із генерацією 3 молекул АТФ.

За механізмом реакції цей процес нагадує окислювальне декарбосилування пірувату до ацетил – КоА; як і піруватдегідрогеназний, α –

кетоглутаратдегідрогеназний комплекс має у своєму складі коферменти тіаміндифосфат (ТДФ), ліпоєву кислоту (ЛК), КоА, НАД⁺ та ФАД. Молекулярна маса цього комплексу з клітин E.Coli дорівнює 2,1 – 10⁶.

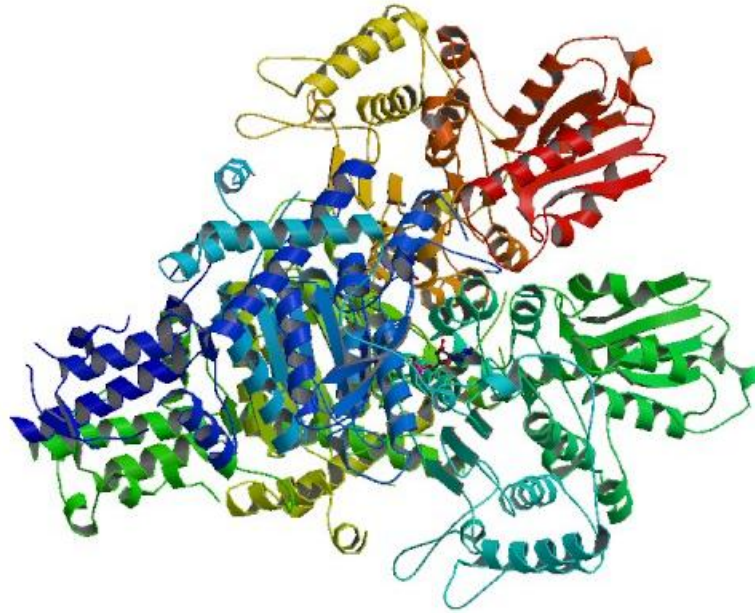
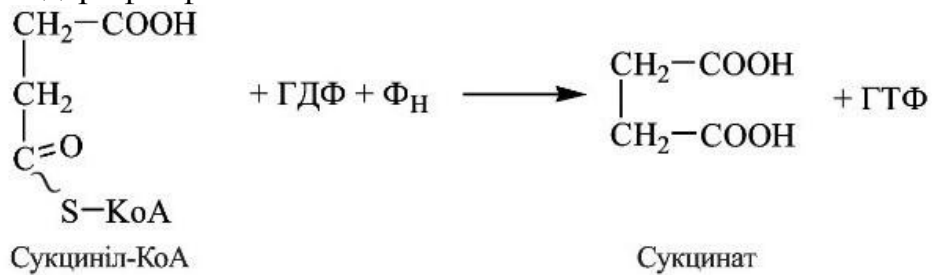


Рис. 4. Кетоглутаратдегідрогеназний комплекс

4.2. Деацильовання сукциніл – КоА (перетворення на янтарну кислоту (сукцинат)). Реакція каталізується ферментом сукцинілтіокіназою. У результаті розщеплюється макроергічний зв'язок у молекулі сукциніл – КоА, та за рахунок цієї енергії утворюється нова макроергічна сполука нуклеозидтрифосфат ГТФ:



Потім ГТФ передає свою кінцеву фосфатну групу на АДФ у нуклеозидфосфокіназної реакції з утворенням АТФ: ГТФ + АДФ → ГДФ + АТФ

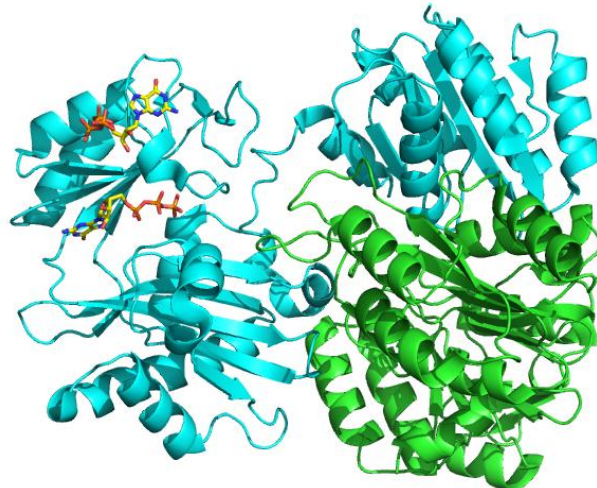


Рис .5. Сукцинілтіокіназа

5. Окислення янтарної кислоти до фумарової кислоти (фумарату).

Реакція каталізується ФАД-залежним ферментом сукцинатдегідрогеназою:



Окислення відновленого коферменту (ФАДН₂) за допомогою коензиму Q дихального ланцюга мітохондрій призводить до синтезу за рахунок окисного фосфорилування 2 молекул АТФ.

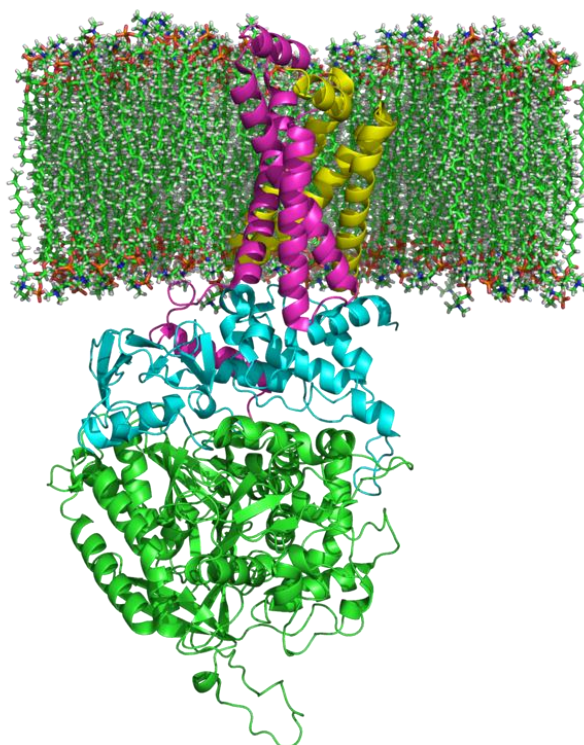
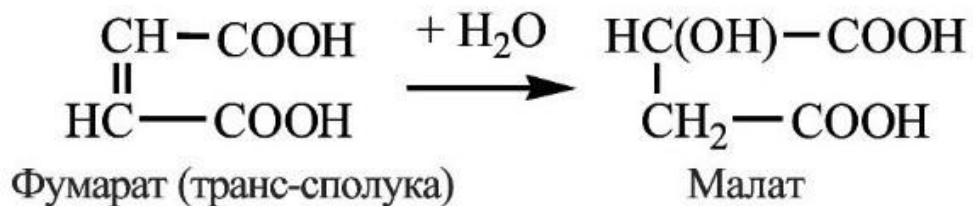


Рис. 7. Сукцинатдегідрогеназа

6. Перетворення фумарової кислоти на яблучну кислоту (малат) внаслідок приєднання до фумарату молекули води.

Реакція каталізується ферментом фумаратгідратазою (фумаразою):



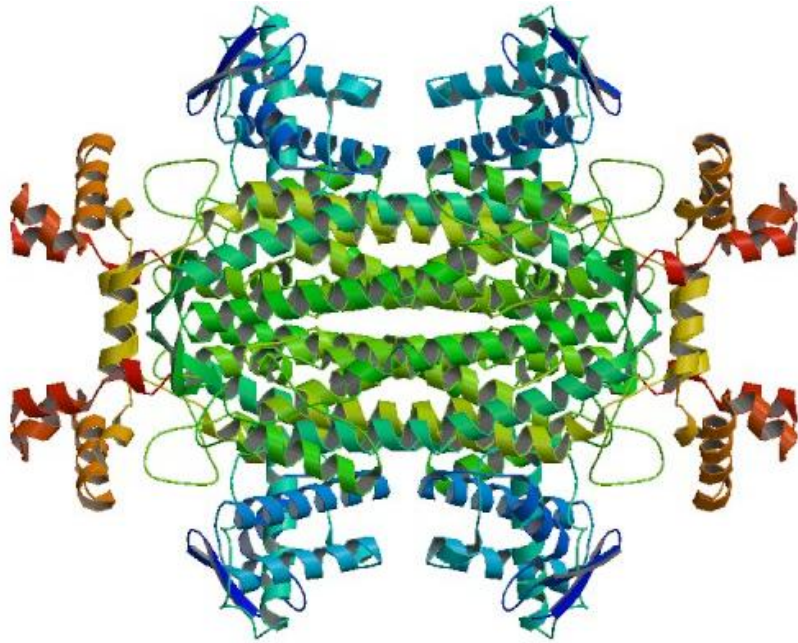
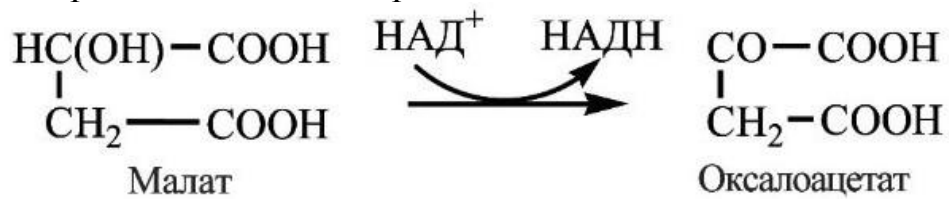


Рис. 8. Фумараза

7. Окислення малату до оксалоацетату (щавлевооцтової кислоти).

Реакція каталізується НАД – залежним ферментом — малатдегідрогеназою мітохондрій:



Окислення НАДН, що утворився, в дихальному ланцюзі мітохондрій призводить до генерації 3 молекул АТФ.

Малатдегідрогеназна реакція завершує цикл трикарбонових кислот. Оксалоацетат, який є продуктом даної реакції, здатний до взаємодії з новими молекулами ацетил – КоА.

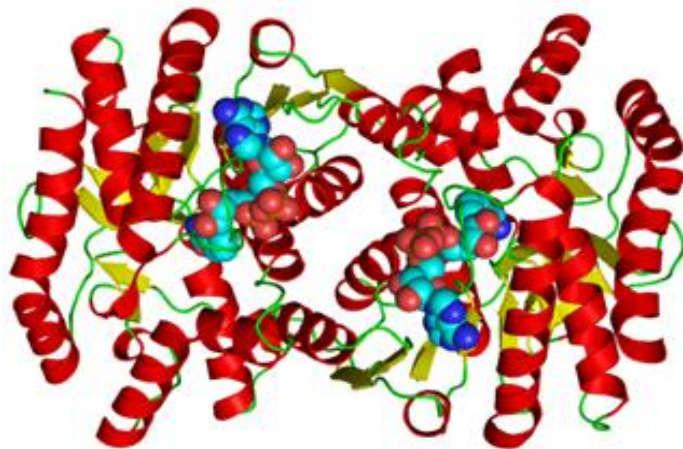


Рис. 9. Малатдегідрогеназа

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. Так, оксалоацетат йде на синтез аспарагінової кислоти і глюкози, 2 – оксоглутарат – глютамінової кислоти, сукцинат – гему;
- в) *енергетичну* – в ході реакцій циклу Кребса утворюється одна молекула ГТФ на рівні субстрату (сукциніл – КоА – синтетазна реакція);
- г) *водневодонорна* — 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.

Регуляція циклу трикарбонових кислот:

1) *цитратсинтази* (ацетил–КоА та оксалоацетат є активаторами ферменту);

2) *ізоцитратдегідрогенази* (АДФ, АМФ—алостеричні активатори ферменту, АТФ, НАДН — інгібітори);

3) *2 – оксоглутаратдегідрогеназного комплексу* (АТФ, ГТФ, НАДН, сукциніл–КоА—алостеричні інгібітори, іони Ca²⁺ – активатори ферментативного комплексу).

6. ПІДГОТОВКА ДО ІНТЕГРОВАНОГО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ

«КРОК 1. ФАРМАЦІЯ». (диав. п. 10 списку основної літератури).

7. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Укажіть клітинну локалізацію ферментів циклу Кребса:

- A. Мітохондрії
- B. Цитоплазма
- C. Ендоплазматичний ретикулум
- D. Ядро
- E. Лізосоми

2. Цикл трикарбонових кислот – друга назва циклу Кребса. Укажіть трикарбовону кислоту з циклу Кребса:

- A. α-Кетоглутарат
- B. Ізоцитрат
- C. Сукцинат
- D. Фумарат
- E. Малат

3. Укажіть продукт першої реакції циклу Кребса:

- A. Цис-аконітат

- В. Ізоцитрат
- С. Цитрат
- Д. α -Кетоглутарат
- Е. Малат

4. Укажіть фермент циклу Кребса, необхідний для синтезу ГТФ:

- А. Цитратсинтаза
- В. Сукцинатдегідрогеназа
- С. Ізоцитратдегідрогеназа
- Д. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- Е. Малатдегідрогеназа

5. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого знижується при накопиченні в матриксі мітохондрій ацилів вищих жирних кислот:

- А. Цитратсинтаза
- В. Сукцинатдегідрогеназа
- С. Ізоцитратдегідрогеназа
- Д. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- Е. Малатдегідрогеназа

6. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого знижується при накопиченні в матриксі мітохондрій маленової кислоти:

- А. Цитратсинтаза
- В. Сукцинатдегідрогеназа
- С. Ізоцитратдегідрогеназа
- Д. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- Е. Малатдегідрогеназа

7. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого лімітує швидкість протікання всього процесу в цілому:

- А. Цитратсинтаза
- В. Сукцинатдегідрогеназа
- С. Ізоцитратдегідрогеназа
- Д. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- Е. Малатдегідрогеназа

8. Укажіть енергоефект циклу Кребса (у молях АТФ), який забезпечується процесом окисного фосфорилювання в розрахунку на 1 моль ацетил-КоА:

- А. 8АТФ
- В. 11АТФ
- С. 12АТФ
- Д. 9АТФ
- Е. 3АТФ

9. Укажіть метаболіт циклу Кребса, який є макроергичною речовиною:

- А. Цитрат
- В. Ізоцитрат
- С. Сукцинат
- Д. Сукциніл-КоА
- Е. Фумарат

10. Найдіть положення, яке доказує амфіболічність циклу Кребса:

- A. Оксалоацетат використовується в глюконеогенезі
- B. Ацетил-КоА повністю утилізується в ЦТК
- C. Оксалоацетат відновлюється в останній реакції
- D. В процесі утворюються трикарбо-нові кислоти
- E. Відбувається генерація відновлених форм коферментів

8. ЛІТЕРАТУРА (див. с. 74).

ЗАНЯТТЯ № 8

1. ТЕМА: Молекулярні основи біоенергетики (семінар).

2. **АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:** Існування живих організмів пов'язане з поглинанням енергії, яка вивільняється в процесі біологічного окислення і акумулюється в макроергічних зв'язках різних сполук.

3. **МЕТА ЗАНЯТТЯ:** Вивчити біохімічні основи процесів біологічного окислення. Вміти аналізувати порушення транспорту електронів за умов дії на організм людини різних факторів.

4. ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

4.1. ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Структура і функції мітохондрій.
2. Сучасні уявлення про біологічне окислення. Реакції біологічного окислення: типи реакцій, ферменти (дегідрогенази, оксидази, оксигенази).
3. Поняття про редокс-потенціали, принцип побудови дихального ланцюга.
4. Ферменти біологічного окислення в мітохондріях: піридинзалежні та флавінзалежні дегідрогенази, цитохроми.
5. Стадії тканинного дихання. Молекулярні комплекси переносників біологічного окислення, їх локалізація, послідовність дії.
6. Утворення ендогенної води в мітохондріях. Продукти неповного відновлення кисню, вільні радикали і їх детоксикація.
7. Інгібітори ланцюга транспорту електронів, місця дії. Шляхи корекції дії інгібіторів.
8. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування (теорія П.Мітчела).
9. Сучасні уявлення про окисне фосфорилування.
10. АТФ-синтетаза: локалізація, будова, функціонування.
11. Пункти сполучення транспорту електронів і фосфорилування. Коефіцієнт окисного фосфорилування (P/O).
12. Поняття про роз'єднування окисного фосфорилування і біологічного окислення, типи роз'єднувачів (приклади).
13. Регуляція процесу тканинного дихання. Дихальний контроль

5. ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ ДО ЗАНЯТТЯ

Будова мітохондрій

Вперше мітохондрії були виявлені у вигляді гранул у м'язових клітинах (1850 р.). Кількість мітохондрій у клітинах мінлива. Їх особливо багато у клітинах з великою потребою у кисні. В залежності від того, в яких ділянках клітини відбувається споживання енергії, мітохондрії здатні переміщуватись туди по цитоплазмі.

Мітохондрії мають дві замкнені, ізольовані мембрани: внутрішню та зовнішню, які розділені водним міжмембранним простором. Вони являють собою «мішок у мішку» (рис. 6).

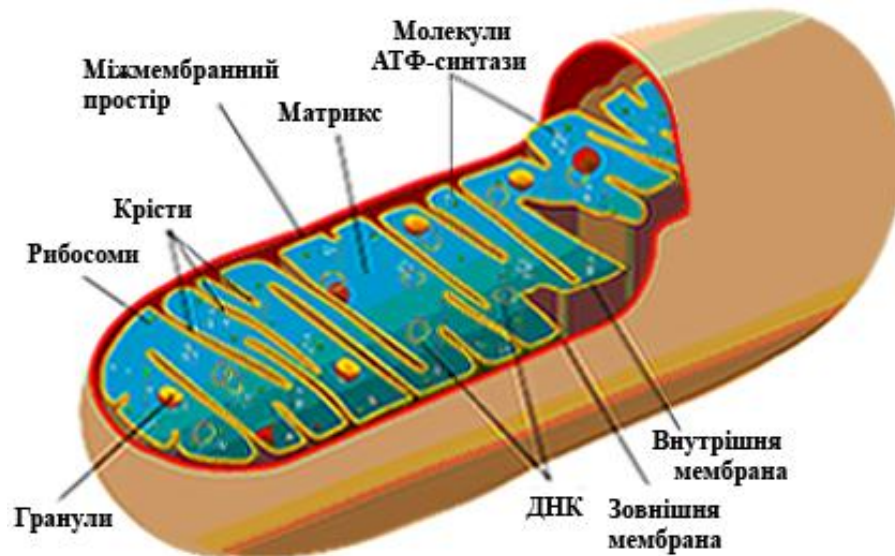


Рис. 6. Будова мітохондрії (Mariana Ruiz Villarreal, 2006)

Мембрани істотно різняться одна від одної за складом, властивостями та функціями.

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 A_2 тощо. Виконує захисну функцію щодо внутрішньої мембрани.

Внутрішня мембрана мітохондрій утворює численні складки – кристи (лат. *crista* – гребінь). Непроникна для більшості речовин (зокрема $НАД^+$, $НАДФ^+$, $НАДН+H^+$), іонів (H^+ , $ОН^-$, K^+ , $СГ$) та полярних молекул. Проникна для CO_2 і NH_3 . Містить специфічні трансмембранні переносники, наприклад, для АТФ, цитрату, пірувату, малату тощо (рис. 7).

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). Таким чином, на внутрішній мембрані відбувається спряження біологічного окиснення із синтезом АТФ.

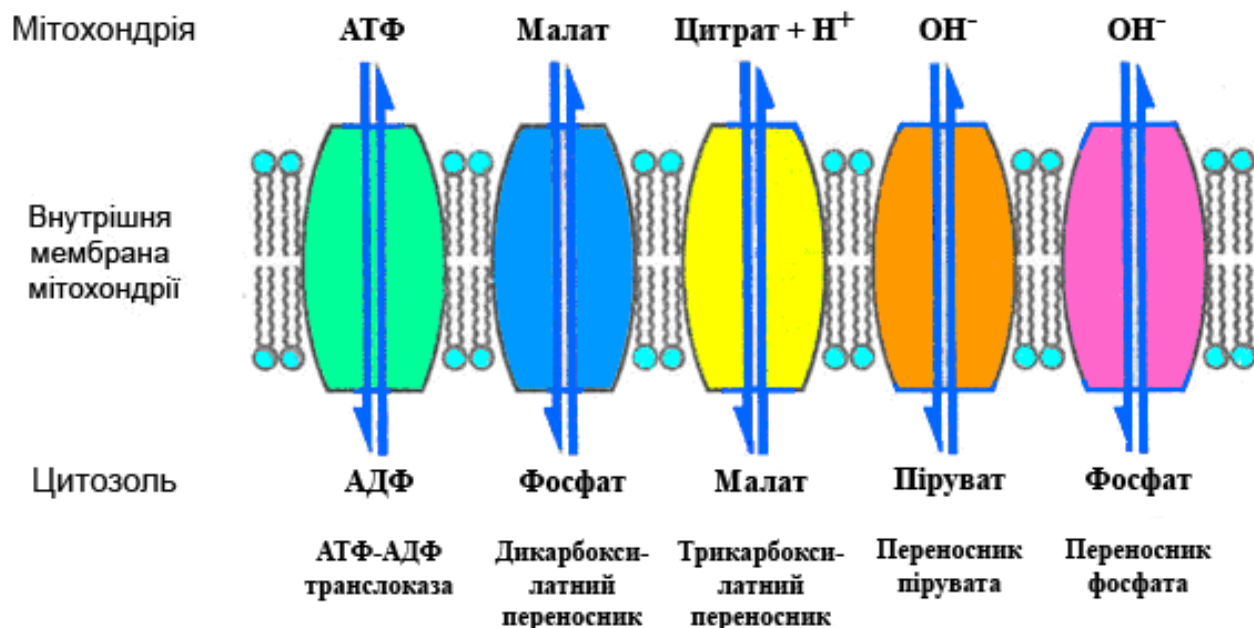


Рис. 7. Транспортери сполук через внутрішню мембрану мітохондрій (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L., 2002 зі змін.)

Міжмембранний простір містить аденілаткіназу і ферменти фосфорилування АДФ, які не пов'язані з дихальними ланцюгами.

Простір між кристами внутрішньої мембрани МХ заповнений напіврідкою гелеподібною масою – *матриком*, що складається на 50 % з білка. Матрикс містить ферменти: циклу Кребса, β-окиснення жирних кислот (основні постачальники субстратів окиснення), окиснення амінокислот та піруватдегідрогеназний комплекс ферментів.

На відміну від інших внутрішньоклітинних органоїдів мітохондрії мають свій геном, тому в матриксі також знаходяться ферменти автономного мітохондріального синтезу ДНК, РНК, білків тощо.

Компоненти дихального ланцюга

Процес біологічного окиснення починається у матриксі мітохондрій з дегідрування субстратів, яке відбувається в результаті дії піридинзалежних і флавінзалежних дегідрогеназ – ферментів, які збирають електрони від субстратів катаболічних шляхів і акумулюють їх в універсальних акцепторах електронів – нікотинамідних нуклеотидах (НАД⁺) або флавінових нуклеотидах (ФМН чи ФАД).

Нікотинамідні дегідрогенази локалізовані в матриксі мітохондрій і цитозолі. Для деяких з них є мітохондріальні та цитозольні ізоферменти.

Коферментом цих дегідрогеназ є нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД⁺) або нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺), що мають у своїй

структурі амід нікотинової кислоти (вітамін РР), тому їх ще називають нікотинамідними ферментами (це понад 150 ферментів). Структура НАД⁺ і НАДФ⁺ представлена на рис. 8.

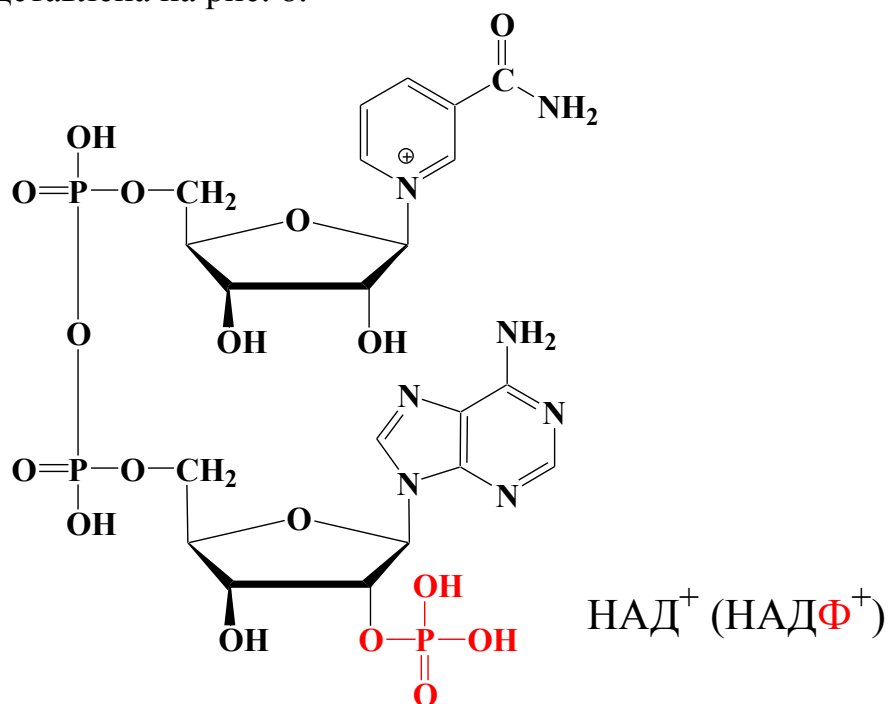


Рис. 8. Структура НАД⁺ (НАДФ⁺)

Амід нікотинової кислоти - похідне піридину, звідки й пішла назва - піридинзалежні дегідрогенази. Специфічність дії цієї групи дегідрогеназ зумовлена білковою частиною ферменту, оскільки коферменти за своєю будовою подібні. Здатність НАД⁺ і НАДФ⁺ виконувати функцію проміжного переносника іонів Н⁺ пов'язана саме з наявністю в їх структурі амиду нікотинової кислоти (рис. 9):

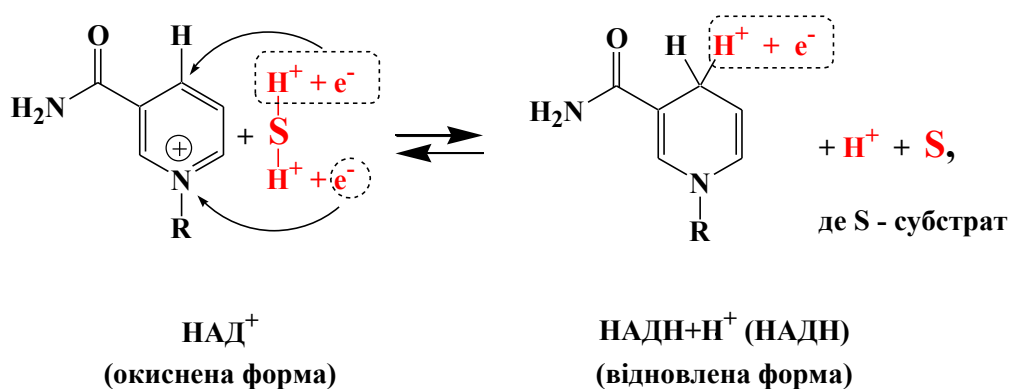
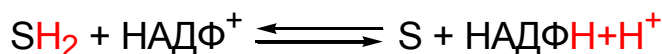
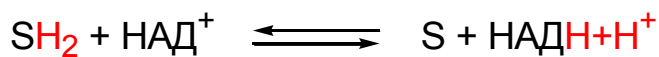


Рис. 9. Утворення відновленої форми НАДН+Н⁺

Встановлено, що один протон і один електрон займають *para*-положення відносно Нітрогену піридинового кільця. Другий електрон нейтралізує позитивний заряд атому Нітрогену в піридиновому кільці, а ще один протон залишається в розчині. У результаті цієї реакції субстрат (S) окиснюється, а НАД(Ф)⁺ відновлюється. Відновлену форму НАД(Ф) зображують як

НАДН(Ф)+Н⁺ або НАД(Ф)Н. Рівняння реакції, що каталізується піридинзалежними дегідрогеназами, можна відобразити наступним чином:



Сумарна концентрація НАД⁺ + НАДН в тканинах складає близько 10⁻⁵ моль, тоді як НАДФ⁺ + НАДФН в 10 разів менша.

Коферменти НАД⁺ або НАДФ⁺ є водорозчинними і тому сполучені з апоферментом тільки в ході реакції. Відновлені коферменти легко дисоціюють від дегідрогеназ і далі знову окиснюються шляхом перенесення гідрид-іону Н⁻ (або Н⁺ + 2ē) до іншого акцептору, тобто знову виконують функцію переносників. Ці дегідрогенази є універсальними акцепторами атомів Гідрогену для багатьох субстратів.

НАДН і НАДФН не проходять через внутрішню мембрану мітохондрій, але можуть передавати електрони до мітохондрії через спеціальні механізми.

Метаболічна роль коферментів різна: НАД⁺ використовується в окисненні, яке є частиною катаболічних процесів, а НАДФН використовується як відновник в анаболічних реакціях (біосинтези, знешкодження).

Флавінові дегідрогенази - належать до групи складних ферментів, простетичною групою яких є флавінаденіндинуклеотид (ФАД) або флавінмононуклеотид (ФМН) (рис. 10).

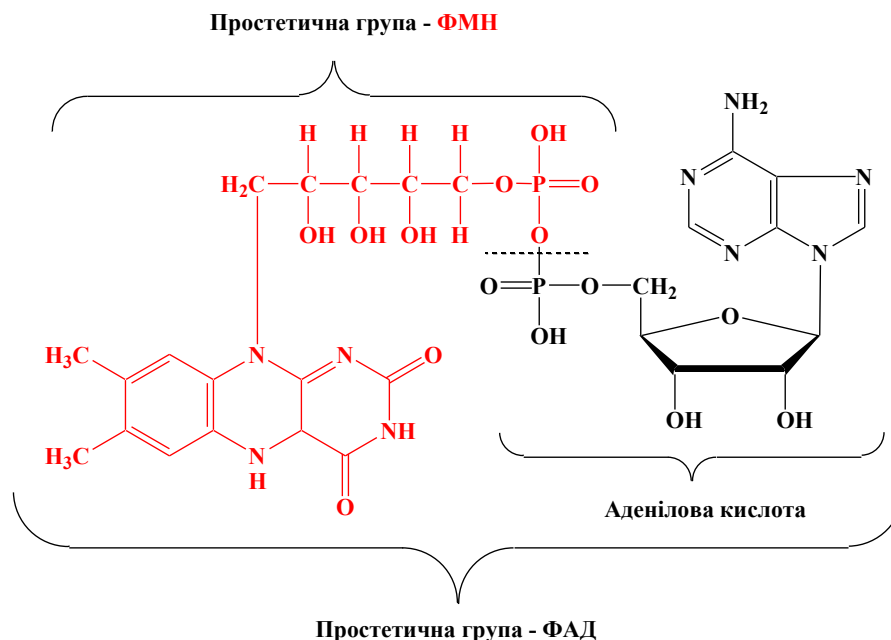


Рис. 10. Структура ФМН, ФАД

Коферменти ФМН і ФАД (на противагу нікотинамідним) міцно зв'язані з апоферментом. До складу цих ферментів входить рибофлавін (вітамін В₂), через що вони дістали назву флавінових ферментів (флавопротеїнів), яких відомо близько 30.

Одні з них (ФАД-залежні) виконують функцію первинних дегідрогеназ. Вони локалізуються на внутрішній поверхні внутрішньої мембрани і їхні активні центри обернені в матрикс. В цьому випадку вони здатні відщеплювати і приймати Гідроген безпосередньо від субстратів (сукцинат, ацилпохідні жирних кислот та ін.), що виключає дію піридинзалежних дегідрогеназ. Інші (оксидази) - одразу передають одержані при дегідруванні субстратів протони й електрони ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) на молекулярний кисень з утворенням Гідроген пероксиду (H_2O_2).

Крім того, існують флавінові ферменти, що є проміжними переносниками атомів Гідрогену від НАДН+ H^+ (які утворились внаслідок дії нікотинамідних дегідрогеназ) на сполуку наступного етапу дихального ланцюга (убіхінон). Таким ферментом є НАДН-дегідрогеназа або флавопротеїн I, що локалізується у внутрішній мембрані мітохондрій і має ФМН в якості простетичної групи.

Електрони і протони, що відщеплюються від відновлених форм НАДН+ H^+ приєднуються до атомів Нітрогену ($\text{N}^1, \text{N}^{10}$) ізоалоксазинового кільця рибофлавіну. При цьому відбувається переміщення подвійних спряжених зв'язків в конденсованих кільцях молекули та утворюється відновлена форма ФМН $_2$ (рис. 11).

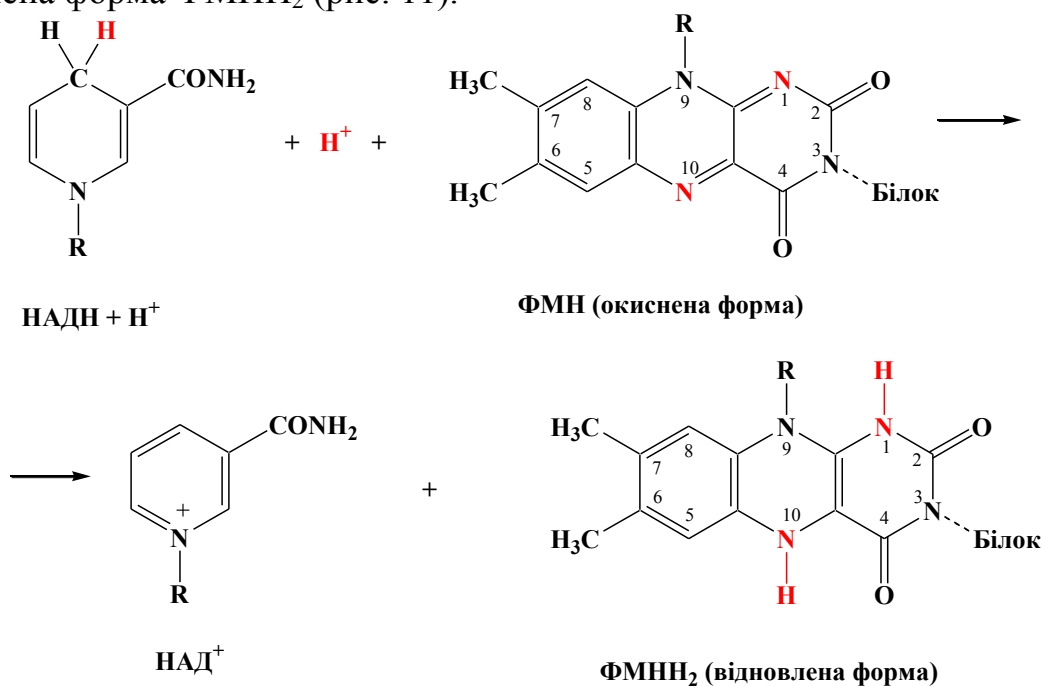


Рис. 11. Утворення відновленої форми ФМН

Убіхінон

Убіхінон (в перекладі з англ. *ubiquinone* означає «всюдисущий хінон») - жиророзчинна вітаміноподібна речовина, похідне бензохінону. Містить довгий ненасичений ланцюг ізопреноїдних одиниць, який надає молекулі високої гідрофобності та сприяє її швидкій дифузії в ліпідних фазах внутрішньої мітохондріальної мембрани. Убіхінон розповсюджений практично у всіх клітинах організму. Його ще називають коензимом Q (КоQ), хоча він не входить до складу жодного з ферментів. Убіхінон виконує роль посередника в

перенесенні відновлених еквівалентів між менш рухливими переносниками електронів в мембрані. Він може приєднувати один або два електрони і перетворюватися на відносно стійкий семіхінон радикал (QH[•]) або убіхінол (QH₂), відповідно. Молекула убіхінону здатна оборотно приєднувати атоми водню від НАД- і ФАД-залежних дегідрогеназ, що супроводжується переходом його окисненої форми у відновну (рис. 12).

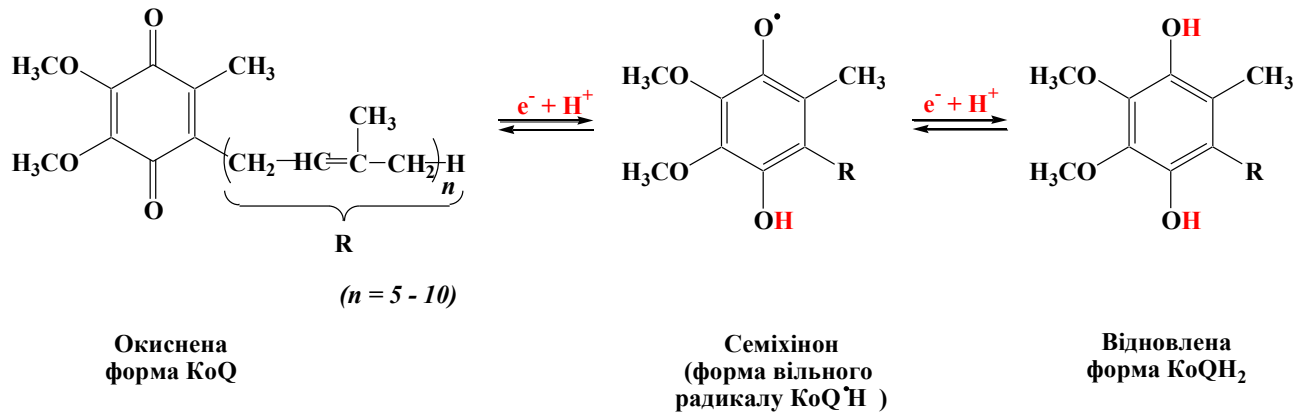


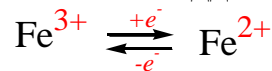
Рис. 12. Убіхінон. Перенос протонів і електронів

Убіхінон може вільно мігрувати в ліпідній фазі мембрани та здійснювати перенос електронів і протонів, дифундуючи від внутрішньої до зовнішньої поверхні внутрішньої мембрани та навпаки. Але потім шляхи електронів і протонів розходяться. Електрони з відновленого убіхінону переносяться далі на систему цитохромів дихального ланцюга, а протони - переходять із внутрішньої поверхні мітохондріальної мембрани на зовнішню.

Система цитохромів

Цитохроми належать до групи складних ферментів, небілковою частиною (простетичною групою) яких є ферумпорфіринові комплекси, подібні до гему гемоглобіну. Таким чином, усі цитохроми є гемопротейінами.

Атом Феруму в цитохромах має властивість змінювати ступінь окиснення, що пов'язано з приєднанням або віддачею електронів:



Катіон Fe³⁺ містить окиснена форма цитохромів, а Fe²⁺ — відновлена.

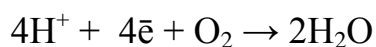
Оскільки одночасно до іону Fe³⁺ може приєднатися тільки один електрон, а від субстрату зазвичай транспортується 2e⁻, то у передачі їх по дихальному ланцюгу беруть участь по два цитохроми.

У процесах тканинного дихання найважливішу роль відіграють *цитохроми b, c₁, c, aa₃*, які включаються в дихальний ланцюг саме в такій послідовності, що зумовлена зміною їх окисно-відновного потенціалу E⁰ (див. нижче рис. 16). В дихальному ланцюгу цитохроми розміщуються між КоQ і киснем. Цитохроми *b, c₁*, та *aa₃* - являють собою нерухомі комплекси внутрішньої мембрани мітохондрій. Цитохром *c* (подібно убіхінону) – рухомий переносник електронів, знаходиться поблизу зовнішньої поверхні внутрішньої

мембрани та виконує роль «човника» з електронами між цитохромами b , c_1 та aa_3 .

Комплекс цитохромів a й a_3 діє як *цитохромоксидаза* (ЦХО), тому й позначається як aa_3 . ЦХО безпосередньо переносить електрони на кисень (термінальний цитохром) та називається ще дихальним ферментом Варбурга (або цитохромом a_3). Цитохромоксидаза - білок четвертинної структури, що складається з шести субодиниць: двох a і чотирьох a_3 . Субодиниці, крім гема з Fe^{2+}/Fe^{3+} , мають 2 катіони Cu^+/Cu^{2+} , які теж беруть участь у переносі електронів, змінюючи валентність.

Цитохромоксидаза, отримавши електрони від цитохрома c , взаємодіє з атомом молекулярного кисню і перетворює його в високоактивну (O^{2-}) форму. Потім, внаслідок повного відновлення молекули кисню ($O_2^0 + 4e^- = 2O^{2-}$) і приєднання чотирьох протонів з мітохондріального матрикса, утворюються дві молекули ендогенної води:



В організмі людини за добу утворюється 300–400 мл ендогенної метаболічної води. При блокуванні ЦХО (наприклад, ціанідами, що зв'язують Fe^{3+}) електрони з цитохромів не будуть переноситися на кисень.

FeS-білки

Крім розглянутих компонентів, дихальний ланцюг включає білки, що містять негемове залізо. Атоми Феруму, які сполучені з атомами Сульфуру утворюють FeS-білки. Такі FeS-кластери розміщені на різних ділянках дихального ланцюга і беруть участь у перенесенні електронів за рахунок зміни ступеню окиснення іона Феруму подібно цитохромам.

Структура дихального ланцюга

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. Отже, в мітохондріях серця дихання відбувається більш активно, ніж у мітохондріях печінки.

Компоненти дихального ланцюга об'єднані в чотири функціональні комплекси, що нерухомо вбудовані у внутрішню мембрану мітохондрій:

I комплекс - НАДН-дегідрогеназа (флавопротеїн I або НАД:КоQ-оксидоредуктаза):

- містить простетичну групу ФМН і декілька FeS-білків;
- є акцептором електронів від усіх НАДН форм, що надходять з матриксу;
- каталізує перенесення електронів від НАДН на убіхінон;
- виштовхує протони у міжмембранний простір.

II комплекс - сукцинатдегідрогеназа (флавопротеїн II або сукцинат:КоQ-оксидоредуктаза):

- містить простетичну групу ФАД, декілька FeS-білків;

– каталізує перенесення електронів та протонів від сукцинату на убіхінон.

Інші субстрати мітохондріальних дегідрогеназ (гліцерол-3-фосфат, ацил-КоА) віддають електрони в дихальний ланцюг на рівні убіхінону, але не через комплекс II (рис. 13).

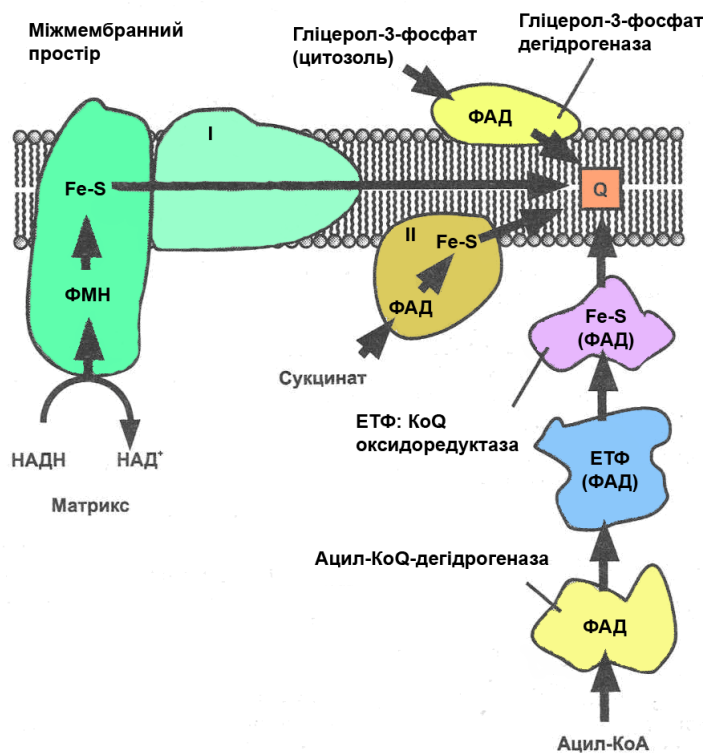


Рис. 13. Рух електронів від НАДН (I комплекс), сукцинату (II комплекс), ацил-КоА та гліцерол-3-фосфату до убіхінону; ЕТФ – електротранспортний флавопротеїн (Nelson D.L., Cox M.M., 2004 зі змін.)

III комплекс - цитохром *bc₁* (убіхінолдегідрогеназа або КоQ: цитохром *c*-оксидоредуктаза):

- містить 2 типи цитохромів *b* і *c₁*, FeS-білки;
- каталізує перенесення електронів від відновленого КоQ на цитохром *c* (рис. 14);
- одночасно транспортує 4 протони з матриксу у міжмембранний простір.

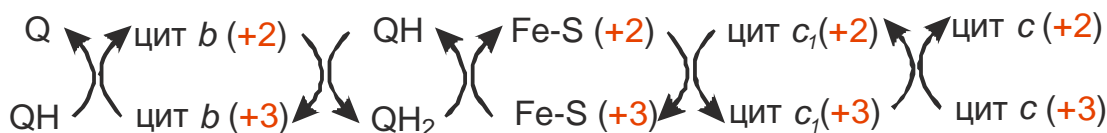


Рис. 14. Перенесення електронів від відновленого КоQ на цитохром *c*

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 с на кисень з утворенням молекули води.

Схема організації дихального ланцюга на внутрішній мембрані мітохондрій представлена на рис. 15.

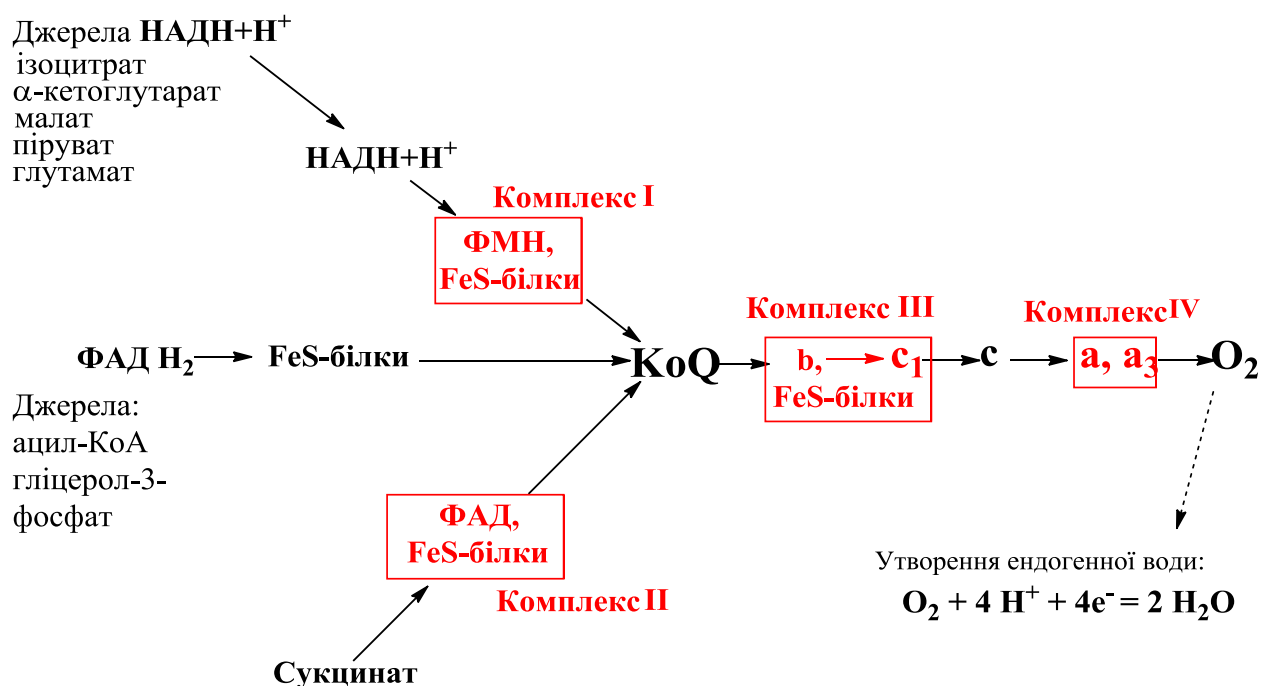


Рис. 15. Організація дихального ланцюга мітохондрій

Чотири комплекси дихального ланцюга поводяться як складні інтегровані білки, будь-яка спроба розділення яких на складові в експерименті веде до порушення їх функції. У зв'язку з надмолекулярною структурою, комплекси не можуть переміщатися у ліпідному бішарі внутрішньої мембрани мітохондрій та прямо передавати один одному електрони. Тому роль рухомих переносників виконують: убіхінон (від комплексів I і II до комплексу III) та цитохром с (від комплексу III до комплексу IV).

Послідовність компонентів дихального ланцюга є також не випадковою, а зумовленою:

- швидкістю окиснення й відновлення окремих компонентів ланцюга дихальних ферментів;
- величиною Ок-Red-потенціалу (E^0 , В) кожного компонента ланцюга дихальних ферментів.

Перенесення Гідрогену та електронів відбувається завжди від компонентів з меншою величиною Ок-Red-потенціалу до каталізатора з більшою величиною Ок-Red-потенціалу, тобто від більш негативного до більш позитивного. Ця послідовність виглядає так (рис. 16):

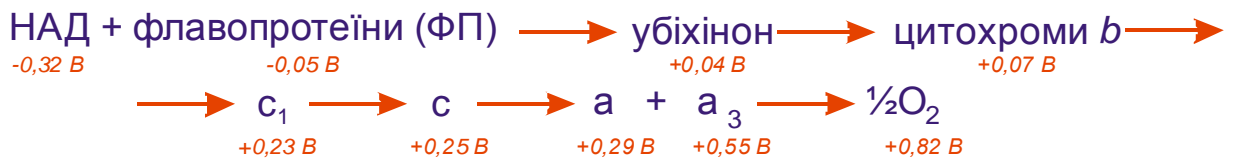


Рис. 16. Зміна значень Ок-Red-потенціалів компонентів дихального ланцюга мітохондрій

При повному переході двох електронів від окисно-відновної пари НАДН/НАД⁺ ($E^0 = -0,32\text{В}$) до окисно-відновної пари $\text{H}_2\text{O}/\frac{1}{2}\text{O}_2$ ($E^0 = +0,82\text{В}$) зміна вільної енергії реакції дорівнює 220 кДж/моль.

Слід підкреслити, що всі окисно-відновні реакції дихального ланцюга є екзергонічними. Кожна ланка переходу електронів між проміжними компонентами дихального ланцюга супроводжується виділенням певної порції вільної енергії, яка може бути використана або для синтезу молекул АТФ (близько 40 %), або розсіюється у вигляді тепла. Чим більша різниця Ок-Red-потенціалів двох окисно-відновних пар, тим більше виділяється вільної енергії. Якщо різниця потенціалів перевищує 0,22 В, перенос електрона супроводжується виділенням енергії, достатньої для синтезу макроергічного зв'язку молекули АТФ. Якщо енергії виділяється мало, вона розсіюється у вигляді тепла, що використовується для підтримки постійної температури тіла.

Таким чином, біологічний сенс поступового ступінчастого окиснення в дихальному ланцюзі полягає у вивільненні вільної енергії частинами (каскадоподібно), і тому вона може бути використана організмом повністю. Якби окиснення відбувалося відразу (шляхом безпосередньої взаємодії між атомами Гідрогену субстрату та молекулярним киснем), це супроводжувалося б одномоментним виділенням всієї кількості енергії, що призвело б до теплового ушкодження мітохондрій.

Альтернативні шляхи тканинного дихання

Поряд із вищенаведеним, який є найбільш поширеним окиснення субстратів, існують також альтернативні: *довші або коротші шляхи*.

Прикладом довших шляхів є утворення НАДН при окисненні пірувату (в піруватдегідрогеназному комплексі) або α -кетоглутарату (в α -кетоглутаратдегідрогеназному комплексі). Перетворення цих субстратів - п'яти стадійний процес, на останній стадії якого утворюється кінцевий продукт окиснення - НАДН, що надалі поступає в дихальний ланцюг мітохондрій.

Коротшим шляхом окиснюється, наприклад, сукцинат (янтарна кислота), атоми Гідрогену якої передаються не на нікотинамідні ферменти, а відразу на флавінові і далі на убіхінон і цитохроми (основний шлях). Цей шлях окиснення має важливе значення при адаптації організму до несприятливих умов, зокрема до холоду. При короткому шляху сукцинат окиснюється швидше, тому й швидше вивільняється енергія, що необхідна організму. Крім цього, при такому шляху окиснення не утворюється надлишок АТФ, який міг би гальмувати окиснення та послаблювати теплоутворення в умовах холоду.

Прикладом ще більш короткого шляху окиснення субстратів є аеробне окиснення органічних речовин (ксантину, гіпоксантину, амінокислот) без участі цитохромної системи. Атоми Гідрогену від цих субстратів передаються на особливі ферумвмісні флавінові ферменти-оксидази, а з них – безпосередньо на молекулярний кисень з утворенням пероксиду водню (пероксидазне окиснення). Енергія окиснення виділяється у вигляді тепла. Цей тип окиснення буде розглянуто далі.

Окисне фосфорилування

Окисним фосфорилуванням називають процес синтезу АТФ з АДФ і ортофосфатної кислоти, що спряжений з транспортом електронів у дихальному ланцюзі від субстратів до кисню. Цей процес було відкрито в 30-х рр. ХХ ст. російським вченим В.О. Енгельгардтом.

Відомо, що синтез АТФ із АДФ у стандартних умовах потребує 34,5 кДж/моль, а в умовах живої клітини – приблизно 50 кДж/моль. Таким чином, перепаду енергії у дихальному ланцюгу - 220 кДж/моль (рис. 16) – достатньо для синтезу не менш 4 молекул АТФ. Однак, експериментальним шляхом із застосуванням специфічних інгібіторів певних ферментів дихального ланцюга було доведено, що синтезується максимум 3 молекули АТФ.

Перша молекула АТФ синтезується під час переносу електронів і протонів на ділянці НАДН-дегідрогеназа → КоQ, друга – при переносі електронів від цитохрому b на цитохром c₁ і третя – на ділянці переносу електронів від цитохромоксидази на молекулярний кисень. Ці ділянки називають пунктами (точками) фосфорилування (або пунктами спряження окиснення і фосфорилування) (Рис. 17).

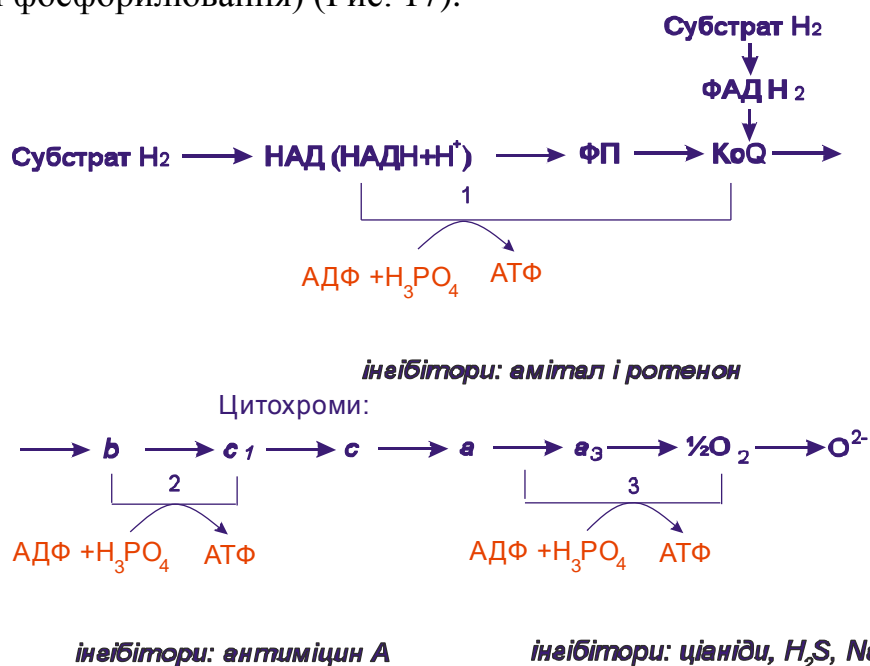


Рис. 17. Локалізація трьох пунктів спряження дихання й фосфорилування в дихальному ланцюзі

Таким чином, потік електронів через ці три ділянки фосфорилування поєднаний з утворенням АТФ (перепад окисно-відновного потенціалу тут достатній для синтезу 1 молекули АТФ), тому при окисненні субстратів НАД-залежними дегідрогеназами утворюється 3 молекули АТФ. При окисненні субстратів ФАД-залежними дегідрогеназами потік електронів від ФАДН₂ до кисню не проходить через перший пункт фосфорилування. У цих випадках синтезується на 1 молекулу АТФ менше, тобто дві.

Для кількісного вираження окисного фосфорилування введений коефіцієнт окисного фосфорилування P/O , який являє собою відношення кількості молекул Н₃Р₄ (неорганічного фосфату - Р), що перейшли до складу молекули АТФ (в процесі тканинного дихання) у розрахунку на один атом поглинутого Оксигену (О). Значення P/O при перенесенні однієї пари електронів від НАДН до кисню - 3 ($P/O = 3$), а від ФАДН₂ - 2 ($P/O = 2$). Відношення P/O знижується при дії інгібіторів тканинного дихання.

Механізм спряження дихання і фосфорилування в мітохондріях

У 1939 р. українські вчені В.О. Беліцер і Є.Т. Цибакова запропонували співвідношення P/O як показник спряження дихання та фосфорилування. Ці роботи стимулювали пошук пунктів спряження, які пізніше були встановлені у роботах Б. Чанса, Е. Рекера, А. Ленінджера. Пізніше в дослідженнях В.О. Беліцера, А. Ленінджера, П. Мітчела, С.Є. Северіна, В.П. Скулачова та інших вчених було значною мірою розкрито сутність окисного фосфорилування.

В теперішній час існує три основні гіпотези, що пояснюють механізм окисного фосфорилування.

1. *Гіпотеза хімічного спряження* (Ф.А. Липман, А. Ленінджер, 30-40 рр. ХХ ст.). Відповідно до цієї гіпотези у спряженні дихання і фосфорилування беруть участь проміжні сполуки, наприклад, сполука «Х», яка акцептує протони та електрони від першого фермента в пункті спряження й взаємодіє з Н₃Р₄. В момент віддачі протонів та електронів другому ферменту пункту спряження зв'язок стає макроергічним. Далі енергія передається на АДФ з утворенням АТФ. До теперішнього часу такі проміжні спряжені сполуки не виділені.

2. *Гіпотеза механохімічного або конформаційного спряження* (Н. Грін, П. Бойер, 50-60 рр. ХХ ст.), згідно якої взаємозв'язок окиснення й фосфорилування здійснюється за рахунок конформаційних змін у структурі білків-ферментів дихального ланцюга. Вони переходять у новий багатий енергією стан, а потім, при поверненні до вихідної конформації, віддають енергію для синтезу АТФ. Гіпотеза частково підтверджена.

3. *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 (рис. 18).

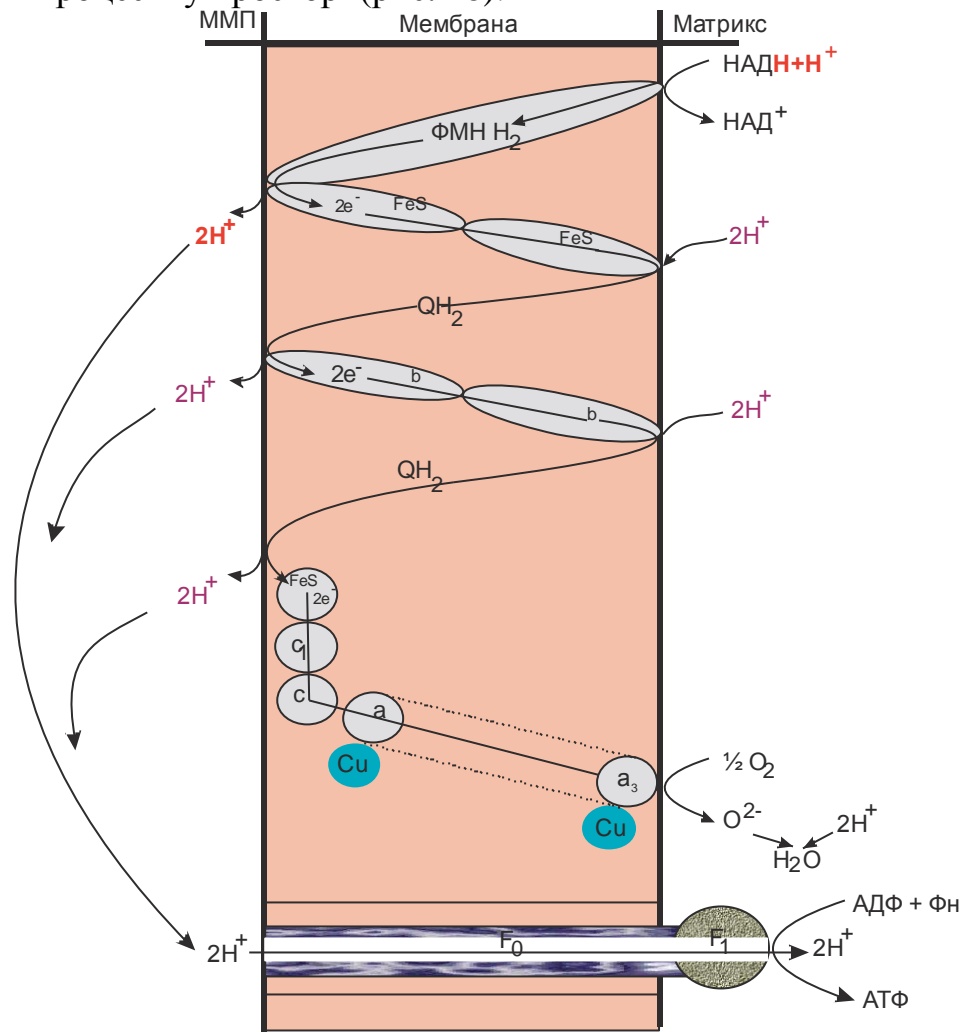


Рис. 18. Схема внутрішньомембранної організації о/в «петель» в дихальному ланцюгу, а також механізму спряження транспорту електронів з синтезом АТФ

Як показано на рис. 18, на внутрішній поверхні мембрани мітохондрій атоми Гідрогену відщеплюються від НАДН+Н⁺ і переносяться за допомогою простетичної групи (ФМН) НАДН-дегідрогенази на зовнішню поверхню внутрішньої мембрани мітохондрій. При цьому два протони виділяються назовні у ММП, а електрони за допомогою атому Феруму FeS-білка переносяться на КоQ до внутрішньої поверхні мембрани. При приєднанні електронів до КоQ він отримує негативний заряд і захоплює протони із матриксу мітохондрій, перетворюючись на відновлену форму КоQH₂. Остання дифундує крізь мембрану до зовнішньої поверхні, де розташований цитохром b. КоQH₂ окиснюється біля зовнішньої сторони мембрани, віддаючи електрони цитохрому b, а протони — виділяються назовні у ММП. Цитохром b передає електрони на іншу молекулу КоQ, який знову захоплює протони із матриксу мітохондрій і виштовхує їх у ММП, а електрони передаються далі по ланцюгу. Остання ланка – цитохромоксидаза – локалізується близько до внутрішньої поверхні мембрани, її активний центр спрямований у матрикс, куди й надходить молекулярний кисень.

При окисненні НАДН+Н⁺ пара електронів субстрату перетинає внутрішню мембрану мітохондрій тричі, при цьому щоразу переносяться по два протони з матриксу на зовнішню поверхню внутрішньої мембрани мітохондрій. Отже, перенос 2e⁻ від НАДН+Н⁺ на кисень супроводжується транслокацією 6 іонів Н⁺ з матриксу (причому, 2 Н⁺ - від субстрату окиснення у складі НАДН і 4Н⁺ - з Н₂O матриксу), а перенос 2e⁻ від ФАДН₂ - транслокацією 4 Н⁺. Джерелами ж електронів, які використовуються для відновлення кисню, є тільки НАДН+Н⁺ або ФАДН₂, які утворюються при дегідруванні субстратів. Деякі дослідники (Donald Voet, Judith G. Voet, 2011) вважають, що кількість протонів, які виштовхуються у міжмембранний простір, може дорівнювати 10Н⁺ (для НАДН+Н⁺) та 6Н⁺ (для ФАДН₂).

Перенесення протонів з матриксу приводить до збільшення концентрації Н⁺ 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 рН ззовні. Одночасно поверхні мембрани набувають протилежних зарядів: зовнішня – позитивного, за рахунок збільшення Н⁺, а внутрішня – негативного, за рахунок зменшення концентрації Н⁺ і надлишку ОН⁻, тобто утворюється градієнт електричного потенціалу (Δφ – дельта пси). На внутрішній мітохондріальній мембрані формується електрохімічний протонний потенціал (ΔμН⁺), який складається з:

$$\Delta\mu\text{H}^+ = \Delta\text{pH} + \Delta\varphi$$

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.

Особливе значення при цьому має утворення АТФ як універсального джерела енергії в клітині. Біосинтез АТФ в процесі окисного фосфорилування проходить за безпосередньою участю особливого білкового комплексу *V* - фактора спряження мітохондрій - АТФ-синтази (АТФ-синтетаза, протонна або H^+ -АТФаза, F_0F_1 -АТФаза), яка розташована у внутрішній мембрані мітохондрій і каталізує оборотну реакцію:



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 $\Delta\mu_{H^+} = 0,25$ В. Цього цілком досить для утворення однієї молекули АТФ ($\geq 0,22$ 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 фосфорилуванням 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 мітохондрій

АТФ-синтазний *V* комплекс мітохондрій різних тканин ссавців являє собою олігомерний білковий комплекс грибоподібної форми. Він складається з двох головних компонентів: F_0 і F_1 (від англ. *factor*). Молекулярна маса АТФ-синтази перевищує 500 кДа, із них на F_1 припадає близько 340 кДа, а на F_0 - решта маси. Кількість F_0 складає близько 15% усього білку внутрішньої мембрани. F_0 (*oligomycin-sensitive*) - «ніжка гриба», це гідрофобний протонний канал, що пронизує наскрізь внутрішню мітохондріальну мембрану. F_1 - «шапка гриба», поза мембранний водорозчинний каталітичний компонент, який закриває з матриксної сторони отвір протонного каналу (рис. 19). Обидва компоненти сполучені центральним стеблом.

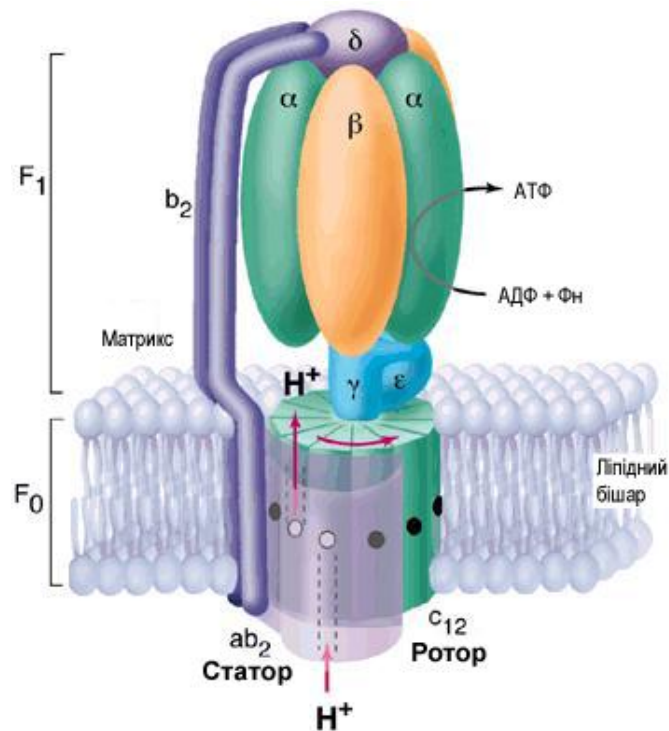


Рис. 19. Будова АТФ-синтази (Pizzo S.V., 2011 зі змінами)

Глобулярний сектор F_1 складається з 9 субодиниць п'яти типів зі стехіометрією $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ (рис. 19). 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 с-субодиниць F_0 . Крім того, з γ -субодиницею зв'язана δ -субодиниця.

Про структурну організацію сектора F_0 відомо мало. В клітинах тварин F_0 містить мультимер з субодиниць трьох типів зі стехіометрією ab_2c_{12} . Вони щільно упаковані відносно один одного і утворюють симетричну циліндроподібну структуру. Зовні с-мультимерного циліндра розташовані а- і b-субодиниці, причому між зануреною в мембрану а-субодиницею та с-циліндром знаходиться отвір, через який йде транслокація протонів. Саме цей отвір, ймовірно, і є так званим протонним каналом АТФ-синтази.

Результати експериментів доказали наявність молекулярної структури в АТФ-синтазному каталітичному механізмі, який обертається. Це дозволило назвати АТФ-синтазу молекулярним «двигуном турбінного типу», що складається із двох частин: першої, фіксованої в мембрані, - «статор» та другої, що обертається, - «ротор». При цьому ротор, який зібраний із с, γ , ϵ -субодиниць, здатний обертатися як єдине ціле, а статор, в якому плече, утворене b-субодиницями, зв'язує а-субодиницю сектору F_0 за допомогою δ -субодиниці сектору F_1 з однією із α -субодиниць гексамеру $\alpha_3\beta_3$. Така тримірна структура була доказана за допомогою ЯМР-спектроскопії кристалізованих препаратів АТФ-синтази, виділених із бактерій та мітохондрій.

Детальний механізм перетворень на заключному етапі процесу фосфорилування, що призводить до утворення АТФ, точно до кінця не

з'ясований. На теперішній час запропоновано дві гіпотези. Згідно першої (Р. Воуер): α - і c -субодиниці мають функціональні групи, необхідні для транслокації протонів через мембрану. Передбачається, що протонування та депротонування цих груп усередині протонного каналу в процесі переносу протонів через сектор F_0 веде до зміни конформації білків і тим самим викликає обертання c -мультимерного циліндра ротора разом з γ - і ε -субодиницями. Обертання γ -субодиниці усередині $\alpha_3\beta_3$ -гексамеру викликає істотні конформаційні зрушення в α - і β -субодиницях. Це забезпечує циклічний процес синтезу АТФ. Кожний акт синтезу однієї молекули АТФ вимагає обертання γ -субодиниці на 120° .

За другим механізмом, вважають, що іони H^+ , використовуючи енергію електрохімічного потенціалу, проходять протонний канал комплексу F_0 , потрапляючи в активний центр F_1 -комплексу, де реагують з атомом Оксигену неорганічного фосфату. Як результат - утворюється реакційноздатне фосфатне похідне, яке безпосередньо взаємодіє з АДФ, фосфорилуючи його.

Робота АТФ-синтази, як спряжуючого пристрою, є зворотною. АТФаза може використовувати енергію гідролізу АТФ для утворення електрохімічного потенціалу протонів, переносючи їх крізь мембрану проти градієнту концентрації і таким чином проявляти H^+ -АТФазну активність. При цьому напрямок дії ферменту, тобто АТФ-синтазна або H^+ -АТФазна активність, залежить від зміни балансу між рівнем електрохімічного градієнту протонів і відношенням концентрації АТФ до АДФ + H_3PO_4 . Отже, посилена витрата АТФ переключає фермент на режим АТФ-синтазної активності, а падіння величини електрохімічного потенціалу автоматично включає H^+ -АТФазну активність.

Крім синтезу АТФ і утворення тепла, енергія електрохімічного потенціалу використовується для транспорту іонів (Ca^{2+} , PO_4^{3-}) та АДФ у матрикс мітохондрій, а також для транспорту АТФ із матриксу мітохондрій у цитозоль. Причому, на транспорт АТФ і АДФ витрачається близько чверті вільної енергії протонного потенціалу.

Процес окисного фосфорилування схильний до тонкої регуляції. Його швидкість знаходиться в прямій залежності від енергетичних потреб клітини, забезпеченості мітохондрій субстратами окиснення, киснем, АДФ і H_3PO_4 .

Відомо, що вільна дифузія таких метаболітів як АТФ, АДФ, PO_4^{3-} через внутрішню мембрану мітохондрій неможлива через її непроникність для заряджених і гідрофільних речовин. Тому ця проблема вирішується за допомогою двох спеціалізованих білкових транспортних систем:

- 1) *транслокази аденілових нуклеотидів* (АДФ-АТФ-транслокази), яка переносить АДФ в мітохондрії, а АТФ – у міжмембранний простір;
- 2) *транслокази аніону $H_2PO_4^-$* , що доставляє його в матрикс (рис. 20).

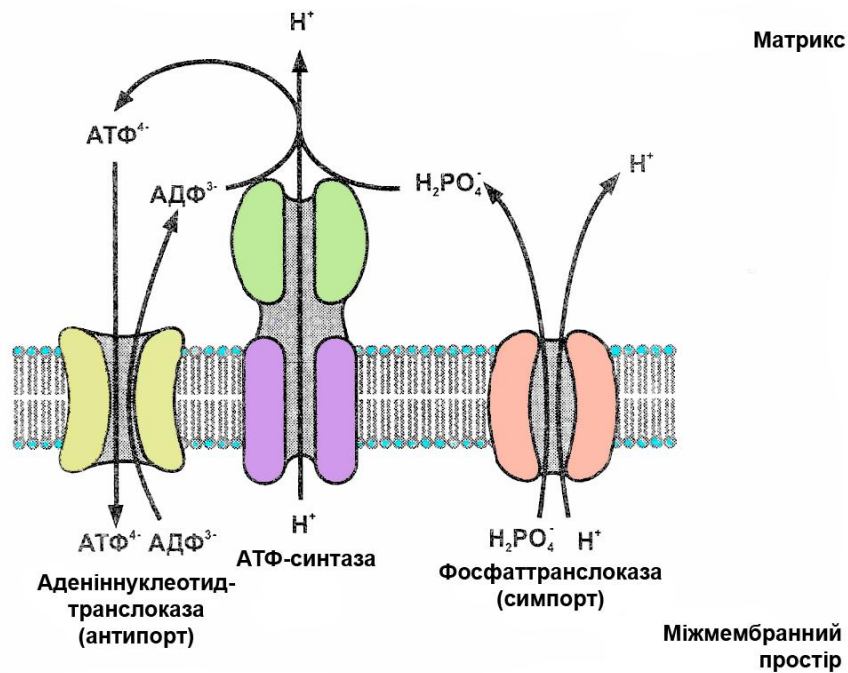


Рис. 20. Аденінонуклеотидтранслоказа та фосфаттранслоказа (Nelson D.L., Cox M.M., 2004 зі змін.)

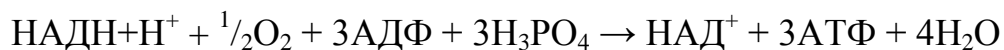
Згідно рис. 20 надходження однієї молекули АДФ (точніше - іону ADP^{3-}) з міжмембранного простору в мітохондрію відбувається в обмін на перенесення в зворотному напрямку однієї молекули АТФ (іону ATP^{4-}) під дією аденіннуклеотидтранслокази (інтегральний білок внутрішньої мембрани, складає до 6 % від усіх білків внутрішньої мембрани). Фермент дуже специфічний і обмінює АТФ тільки на АДФ, але не на АМФ й інші нуклеотиди. Якщо на поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій потенціал відсутній, транслоказа переносить обидва нуклеотиди з рівною ефективністю в обох напрямках. Транслоказа специфічно інгібується атрактилозидом (токсичний глікозид чортополоху або будяку) та бонкрековою кислотою (антибіотик). Атрактилозид зв'язується з транслоказою на зовнішній поверхні мембрани, а бонкрекова кислота – з боку матриксу. Блокада транслокази приводить до зупинки окисного фосфорилування.

Транспорт фосфату (H_2PO_4^-) здійснюється разом з іоном H^+ фосфаттранслоказою (рис. 20). Цей процес забезпечує утворення протонного градієнта. Крім того, дифузія фосфату в матрикс йде в обмін на дифузію в зворотному напрямку іонів дикарбонових кислот (наприклад, малату, глутамату).

Порушення транспорту АДФ або фосфату гальмує синтез АТФ.

Регуляція тканинного дихання

Швидкість окиснення субстратів, зокрема $\text{НАДН}+\text{H}^+$, і транспорту електронів до молекулярного кисню по дихальному ланцюгу мітохондрій залежить від наявності АДФ і H_3PO_4 , лімітується рівнем кисню в клітині та виражається рівнянням:



Концентрація H_3PO_4 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:

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

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 (експерименти Чанса) 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.

Вільне, нефосфорилуюче окиснення

Крім окиснення, спряженого з фосфорилуванням, в організмі може відбуватися тканинне дихання і без фосфорилування, тобто вільне або нефосфорилуюче окиснення, що не супроводжується утворенням макроергів.

При цьому іони H^+ повертаються в матрикс через спеціальні пори, минаючи протонний канал АТФ-синтази. Вільне окиснення необхідне для утворення тепла та підтримки температури тіла на певному рівні, що має важливе значення при адаптації організму до низьких температур. Вільному окисненню сприяють, тобто роз'єднують дихання і фосфорилування, гормон тироксин, антипіретики (аспірин, фенацетин), антибіотики.

Природним роз'єднуючим агентом є *термогенін* - протонний канал в мітохондріях бурих жирових клітин. За своєю структурою термогенін близький до АТФ/АДФ-антипортеру, але він не здатний до транспорту нуклеотидів. Бурий жир був виявлений у новонароджених (у дорослої людини його практично немає) і тварин, які впадають в зимову сплячку. Особливістю внутрішньої мітохондріальної мембрани клітин бурої жирової тканини є відсутність у неї здатності до синтезу АТФ. Фізіологічне призначення цієї тканини – продукування тепла в процесі окиснення триацилгліцеридів для підтримання необхідної температури тіла за наступним механізмом: при охолодженні організму норадреналін активує гормонзалежну ліпазу. Завдяки активному ліполізу в організмі утворюється велика кількість вільних жирних кислот, які розпадаються шляхом β -окиснення і подальшої участі $\text{НАДН} + \text{H}^+$ та ФАДН_2 у дихальному ланцюгу. Оскільки жирні кислоти одночасно

відкривають протонний канал термогеніну, їх розпад не залежить від наявності АДФ, протікає з максимальною швидкістю і генерує енергію у формі тепла.

Незвичайне для бурого жиру коричневе забарвлення пояснюється великим вмістом у ньому мітохондрій, у яких приблизно в 10 разів більше ферментів дихання, ніж фосфорилування, тобто вони меншою мірою призначені для виробництва АТФ.

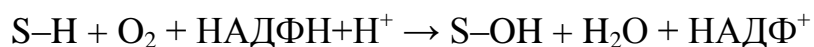
Інші види біологічного окиснення

Як було розглянуто вище, 80-90% спожитого молекулярного кисню в організмі людини використовується в мітохондріях для утворення води та енергії (мітохондріальне окиснення). Але існує ще кілька видів реакцій, в яких споживається приблизно 10% кисню (мікросомальне, пероксидазне, вільнорадикальне окиснення). Ці реакції зустрічаються на різних шляхах метаболізму, особливо в метаболізмі ароматичних і стероїдних сполук, простагландинів і лейкотрієнів, лікарських препаратів, при знешкодженні ксенобіотиків (чужорідних сполук). У більшості цих реакцій атоми Оксигену безпосередньо включаються в молекулу субстрату з утворенням гідроксильної, карбоксильної та інших оксигеновмісних груп.

I. Мікросомальне окиснення речовин

Назва «мікросомальне окиснення» походить від назви фрагментів мембран ендоплазматичного ретикулу - *мікросом*, які мають форму дрібних замкнених везикул і утворюються при гомогенізації й ультрацентрифугуванні тканин. Ферменти окиснення локалізовані переважно в мікросомах печінки й надниркових залоз та здатні використовувати молекулярний кисень для окиснення специфічних органічних сполук. Ферменти поділяються на дві групи:

1. *Монооксигенази* – каталізують реакції, у яких в молекулу органічного субстрату включається тільки один з атомів Оксигену, а другий його атом відновлюється до води. Оскільки найчастіше субстрат в монооксигеназних реакціях гідроксильється, цю групу ферментів називають також *гідроксилазами*:



Для функціонування монооксигеназ необхідно два субстрати, що відновлюють два атоми Оксигену. При цьому головний субстрат (S) приєднує до себе один атом Оксигену, утворюючи гідроксисполуку, а другий субстрат (або косубстрат - НАДФН+H⁺) постачає два атоми Гідрогену для відновлення іншого атома Оксигену до води. Крім НАДФН+H⁺ зрідка донорами атомів Гідрогену може бути НАДН, ФМНН₂, ФАДН₂. Джерелом НАДФН+H⁺ у цитозолі є реакції пентозофосфатного циклу (50%), а інша частина НАДФН+H⁺ синтезується цитоплазматичними ізоцитратдегідрогеназою та малатдегідрогеназою.

Мікросомальний ланцюг ферментів, що здійснює гідроксильування, достатньо вивчений. Зокрема, *гідроксилазна монооксигеназна система кори надниркових залоз* містить НАДФН+H⁺, флавопротеїн, коферментом якого служить ФАД, залізо-сірчаний білок адренодоксин, що містить негемове залізо,

і гемопротейн, який позначається як цитохром P₄₅₀. Ця система каталізує реакції гідроксилування у процесі синтезу стероїдних гормонів. На рис. 21 зображена послідовність компонентів ланцюга переносу електронів монооксигеназної системи кори надниркових залоз.

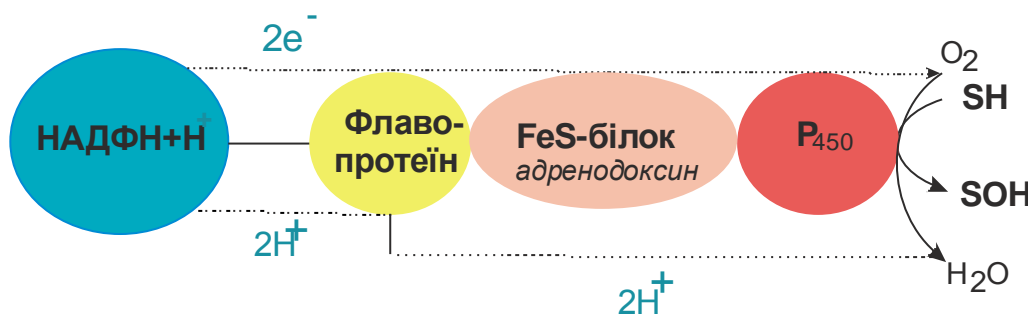


Рис. 21. Схема монооксигеназної системи кори надниркових залоз

Процес монооксигеназного окиснення складається з кількох етапів:

- 1) нікотинамідні ферменти дегідрують різні сполуки і при цьому відновлюються;
- 2) відновлені форми ферментів передають атоми Гідрогену на флавопротеїн;
- 3) далі два іони H⁺ переміщуються в середовище, а електрони за допомогою FeS-білку передаються на цитохром P₄₅₀;
- 4) цитохром P₄₅₀ переносить електрони на молекулу кисню. Вважається, що цитохром P₄₅₀ виконує подвійну функцію. По-перше, він зв'язує субстрат гідроксилування, по-друге, – активує молекулярний кисень з утворенням радикалів [•]OH, HO₂[•] та ін.;
- 5) активований кисень використовується для окиснення субстрату (S) та утворення води.

Цитохром P₄₅₀ являє собою складний фермент – гемтіолатний протеїн. Білкова частина його представлена одним поліпептидним ланцюгом. Відносна молекулярна маса цитохрому P₄₅₀ становить близько 50000. Цитохром P₄₅₀ виявлено в мікосомах печінки, у мікосомах і мітохондріях кори надниркових залоз, проте в мікосомах мозку і скелетної мускулатури його не знайдено. Існує велика кількість ізоформ цитохрому P₄₅₀, які не є специфічними до якогось певного субстрату. Субстрат, що окиснюється цитохромом P₄₅₀, мусить обов'язково бути неполярним. У даному випадку проявляється специфічність ферменту не до структури, а до фізико-хімічних властивостей субстрату (до гідрофобності). Субстрати мікосомальних гідролаз індують синтез молекул цитохрому P₄₅₀ в печінці. Явище індукції пояснює механізм звикання до снодійних засобів (барбітуратів) і до інших лікарських речовин, які окиснюються монооксигеназною системою гепатоцитів.

Монооксигеназна система мембран ендоплазматичного ретикулуму печінки складається з ФАД-залежного флавопротеїну – НАДФН-цитохром P₄₅₀-редуктази, FeS-білка та цитохрому P₄₅₀. Вона каталізує в печінці реакції гідроксилування при синтезі жовчних кислот із холестеролу, інактивації стероїдних гормонів тощо.

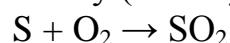
Існують монооксигенази, що не містять цитохрому P₄₅₀, як ферменти, що каталізують реакції гідроксилування фенілаланіну, тирозину, триптофану. Вони складаються з іону Fe³⁺ та органічного фактору біоптерину. Cu²⁺-монооксигеназа каталізує гідроксилування дофаміну з утворенням норадреналіну.

Таким чином, основна функція монооксигеназних систем – окиснення субстратів шляхом гідроксилування. Гідроксилування лікарських речовин: антибіотиків, анальгетиків, нестероїдних протизапальних препаратів та інших чужородних для організму речовин – перший етап знешкодження гідрофобних токсичних ксенобіотиків у печінці. У результаті гідроксилування розчинність таких сполук у воді підвищується, що сприяє їхній детоксикації та виведенню з організму. На жаль, іноді буває навпаки. Наприклад, окиснення нетоксичного бензпірену (міститься в тютюновому димі, копченостях, у вихлопних газах автомобілів) в монооксигеназному ланцюгу призводить до утворення токсичного гідроксибензпірену, який є сильним канцерогеном.

Реакції монооксигеназного окиснення не відбуваються без відновлювального агента. Найчастіше для підтримки металовмісного каталізатора у відновленій формі використовується аскорбінова кислота. Звідси стає зрозумілим її використання разом з лікарськими препаратами при різних захворюваннях.

Необхідно підкреслити, що між мікросомальним і мітохондріальним окисненням існують певні риси схожості й розбіжностей. Спільним є те, що відбувається дегідрування субстрату та перенос протонів і електронів по системі переносників (нікотинамідні, флавінові ферменти, FeS-білки й цитохроми). Одним із кінцевих продуктів є вода. Однак, в мітохондріальному окисненні нікотинамідні коферменти представлені НАД⁺, а у мікросомальному окисненні — НАДФ⁺; цитохроми b, c, a, що функціонують у мітохондріальному окисненні, замінені на цитохром P₄₅₀ у мікросомальному. Нарешті, якщо основна біологічна роль мітохондріального окиснення — вивільнення енергії субстратів і акумуляція її в макроергах, то у мікросомального — утворення біологічно активних сполук (пластична функція) та знешкодження токсичних речовин (детоксикаційна функція).

2. **Діоксигенази** каталізують реакції, в яких до субстрату (S) приєднуються відразу два атоми Оксигену (молекулярний кисень O₂):



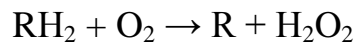
Прикладами реакцій діоксигеназного окиснення є: синтез та окиснення гомогентизинової кислоти на шляху катаболізму тирозину, перехід проліну і лізину в оксипролін і оксилізін при перетворенні проколагену на колаген, окиснення арахідонової кислоти в процесі синтезу лейкотрієнів. Також однією з біологічно важливих діоксигеназних реакцій є перетворення (розділення) молекули β-каротину на 2 молекули ретиналю.

Слід зазначити, що мікросомальній системі організму властиві певні недоліки:

- відсутність її у багатьох життєво важливих органах (серце, головний мозок);
- слабкість захисту організму при деяких шляхах проникнення екзогенних сполук (слизові оболонки, рани, ін'єкції);
- токсифікація речовин. Таким чином, система цитохрому P₄₅₀ перетворює хлороформ (засіб для загального наркозу) у бойову, отруйну речовину фосген, що пояснює високу токсичність хлороформу. Популярний знеболюючий та жарознижуючий фармацевтичний препарат парацетамол перетворюється у метаболіт, який у великих дозах ушкоджує печінку та нирки (необхідна обережність у застосуванні при захворюваннях цих органів).

II. Пероксидазне окиснення

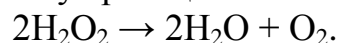
Відомі реакції окиснення субстратів, що мають назву пероксидазних, бо в них відбувається перенесення двох атомів Гідрогену на молекулу кисню з утворенням Гідроген пероксиду:



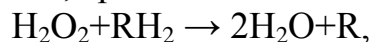
Принципова відмінність пероксидазного окиснення від тканинного дихання полягає в тому, що енергія цих реакцій не запасується у макроергічних сполуках, а виділяється у вигляді тепла. Таким шляхом відбувається окиснення альдегідів, амінів, L- і D-амінокислот, пуринів тощо під дією ферментів: ФМН- і ФАД-залежних оксидаз, а також металопротейнів. У клітині близько 80 % цих ферментів зосереджено в пероксисомах. У лейкоцитах, гістиоцитах і інших фагоцитуючих клітинах пероксидазний шлях окиснення субстратів дуже активний. H₂O₂ використовується для знешкодження хвороботворних бактерій і розпаду інфекційного матеріалу.

Надмірне накопичення Гідроген пероксиду токсично, особливо для нефагоцитуючих клітин, оскільки воно може призводити до ушкодження мембран (онкозахворювання, атеросклероз). Тому знешкодження H₂O₂ здійснюється за допомогою гемовмісних ферментів: каталази й пероксидази.

Каталаза знаходиться в еритроцитах крові, кістковому мозку, слизових оболонках, печінці, нирках і каталізує реакцію:



Пероксидаза ширше представлена в рослинних клітинах, а крім того зустрічається в молоці, лейкоцитах, тромбоцитах і каталізує реакцію:



де RH₂ – хінони, глутатіон, аскорбінова кислота. В еритроцитах, наприклад, міститься глутатіонпероксидаза, яка захищає мембрани і гемоглобін від окиснення пероксидами.

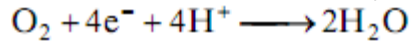
Завдяки дії каталази і пероксидаз концентрація H₂O₂ у цитоплазмі клітин підтримується на низькому рівні (10⁻⁹ – 10⁻⁷ М).

III. Вільнорадикальне окиснення

У клітинах організму в нормальних фізіологічних умовах перебігає велика кількість реакцій окиснення субстратів, які супроводжуються утворенням високоактивних частинок – вільних радикалів. Під вільними

радикалами розуміють молекули або їх частки, які мають неспарений електрон (на молекулярній або зовнішній атомній орбіті). Вільні радикали реакційно здатні і вступають у хімічні реакції для приєднання ще одного електрона. Вони дуже токсичні для клітини, оскільки спричиняють ушкодження біологічно важливих молекул (білків, ліпідів, нуклеїнових кислот).

Для клітини дуже важливо, щоб молекула кисню, приєднавши чотири електрони, повністю відновлювалась до двох молекул води:



При неповному відновленні (приєднанні 1, 2 або 3e) утворюються вільно-радикальні форми кисню: $\text{O}_2^{\cdot -}$ – супероксидний радикал (супероксид-аніон); HO^{\cdot} – вільний гідроксильний радикал, HO^- – гідроксид-аніон (рис. 22).

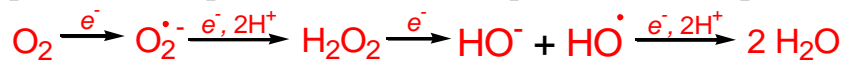


Рис. 22. Відновлення кисню

Джерелом супероксидних радикалів можуть бути:

- реакції неферментативного аутоокиснення гемоглобіну, глутатіону, аскорбінової кислоти; ксантиноксидазна реакція розпаду пуринових нуклеотидів;

- перенесення електронів при роботі дихального ланцюга мітохондрій за участю убіхінону, при наявності переносу одного електрона від відновленого КоQ відразу на молекулярний кисень і втраті електрона із ланцюга (рис. 23).

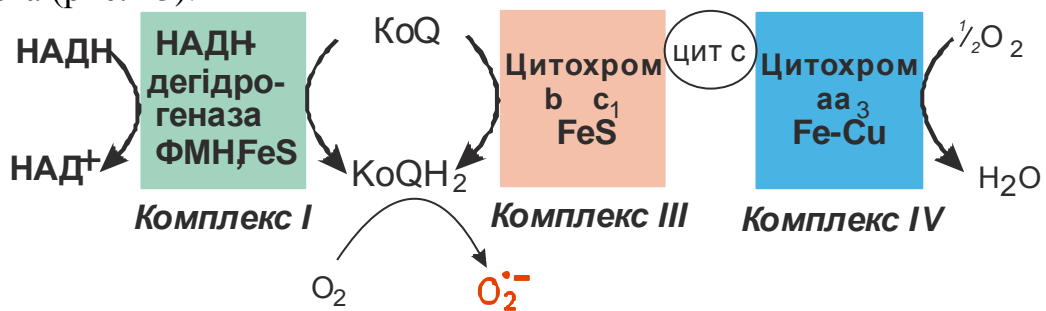
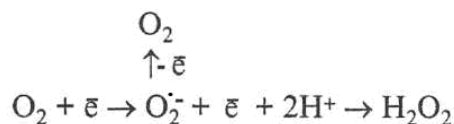


Рис. 23. Утворення супероксид-аніону у дихальному ланцюгу (II комплекс не вказаний)

На відміну від розглянутого механізму, на етапі перенесення електронів у комплексі IV за участю цитохромоксидази втрати їх не відбуваються завдяки наявності в ферменті спеціальних активних центрів, що містять Fe^{2+} і Cu^+ , які відновлюють O_2 без звільнення проміжних вільних радикалів.

Супероксид-, пероксид- і гідроксильний радикали - активні окиснювачі, являють небезпеку для багатьох структурних компонентів клітини.

Супероксид-аніон може діяти як окисник (акцептор електрона) і як відновник – донор електрона. У першому випадку, приймаючи один електрон, він перетворюється на Гідроген пероксид, а у другому випадку – віддає електрон і перетворюється на молекулярний кисень:



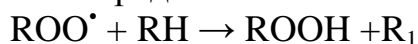
При нагромадженні в тканинах Гідроген пероксиду супероксид-аніон може взаємодіяти з ним, утворюючи вільний гідроксильний радикал (найпотужніший з усіх відомих окисників):



До реактивних форм кисню належать також Нітроген оксид (NO^\bullet), пероксинітрит (ONOO^-) та озон. Суперпродукція NO^\bullet часто посилює ефекти супероксидного аніона.

Вільнорадикальні реакції можуть спричиняти множинні ушкодження в клітині: порушувати структуру мембран, інактивувати ферменти, атакувати ДНК, що може бути причиною мутацій, викликати деполімеризацію полісахаридів, окиснення адреналіну, активувати пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ). Саме вільнорадикальне окиснення ненасичених жирних кислот ліпідів біологічних мембран або *лінопероксидація*, останнім часом викликає особливий інтерес.

Процес ПОЛ має характер ланцюгової реакції, у якій активні форми кисню необхідні тільки для ініціації реакції, де надалі утворюються пероксидні радикали жирної кислоти ($\text{R} + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}^\bullet$), що здатні окиснювати інші молекули жирних кислот до вільних радикалів:



Таким чином, у ланцюгову вільнорадикальну реакцію залучаються все нові й нові молекули молекулярного кисню та жирних кислот. Посилення пероксидного окиснення ліпідів може змінювати їхню конформацію, зменшувати гідрофобність, призводити до утворення ковалентних зшивок між молекулами ліпідів або ліпідів і білків. Внаслідок цього при ПОЛ різко змінюється структура та порушуються функції мембран. Водночас продукти пероксидного окиснення краще розчиняються у воді, ніж вихідні ненасичені вищі жирні кислоти, тому вони легше вимиваються з мембран, що сприяє процесам самовідновлення мембранних структур і є необхідним для нормального їхнього функціонування.

Окрім того, пероксидне окиснення необхідне для біосинтезу ряду біологічних активних речовин, наприклад, кортикостероїдів, прогестерону, простагландинів тощо.

Відомі численні стани, при яких підсилюється вільнорадикальне ушкодження клітин. Це відбувається при іонізуючому опроміненні, дії ультразвуку, стресі, недостатньому надходженні в організм деяких вітамінів, гіподинамії, надлишковому споживанні жиру. З віком накопичення пероксидів ліпідів прискорює процес старіння організму. Крім того, вони також затримують поділ клітин, чим знижують процеси регенерації пошкоджених тканин. Останнім часом з'явилися повідомлення, що надмірне зниження пероксидного окиснення ліпідів стимулює пухлинний ріст, можливо, через те, що пухлинні клітини також є молодими клітинами. Тому особливого значення

набуває формування певного балансу між вільнорадикальним окисненням і антиоксидантними системами захисту від нього.

Антиоксидантний захист

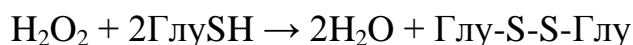
Стимування процесів вільнорадикального окиснення здійснюється за допомогою ферментативних і неферментативних механізмів:

1. *Ферментативний захист клітин* пов'язаний з наявністю в них високоспецифічних ферментів: супероксиддисмутази, каталази, пероксидази (зокрема, глутатіонпероксидази).

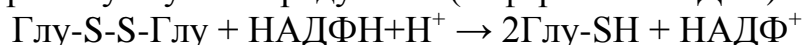
Група ферментів супероксиддисмутаза (СОД) була відкрита у 1969 р. і віднесена до металоферментів. Простетична група ферментів містить Cu^{2+} , Zn^{2+} (у цитозолі, ядрах і лізосомах), а в мітохондріях і у бактерій - Mn^{2+} . Вони каталізують реакцію:



Гідроген пероксид надалі вловлюють і знешкоджують ферменти каталаза або пероксидаза (частіше - глутатіонпероксидаза). Активатор останнього процесу - Se. Ці групи ферментів зводять концентрацію супероксидного радикалу та H_2O_2 в клітинах до абсолютно малої. Таким чином, глутатіонпероксидаза каталізує реакцію окиснення глутатіону Гідроген пероксидом:



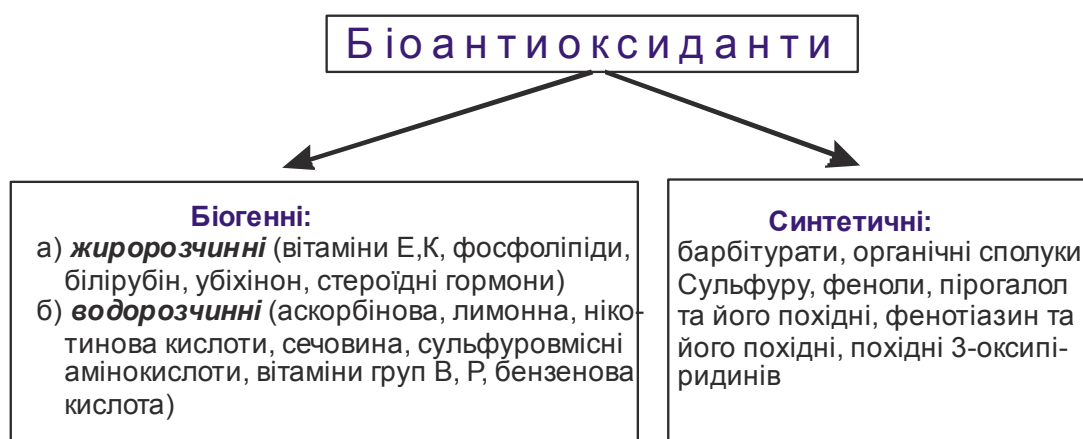
Надалі відновлення окисненого глутатіону відбувається за допомогою НАДФН+ H^+ та ферменту глутатіонредуктази (кофермент НАДФ $^+$):



2. *Неферментативний захист* пов'язаний з дією антиоксидантів, які виявлені практично в усіх органах і тканинах.

Система біоантиоксидантів (БАО) організму складається з екзо- та ендогенних антиоксидантів. Серед них виділяють антиоксиданти біогенного походження і синтетичні:

Одним із найпотужніших природних антиоксидантів є токоферол (вітамін Е), а відомим синтетичним антиоксидантом є препарат дибунол, активність якого перевищує ефект α -токоферолу.



Існує також багато сполук, які можуть активувати пероксидне окиснення (їх називають *прооксидантами*). Наприклад, вітаміни групи ретинолів (А) і кальциферолів (Д), нафтохінони, відновники НАДФН+Н⁺, ліпоєва кислота тощо.

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 фосфорилування; 4) роз'єднувачі окисного фосфорилування.

1) *Інгібітори дегідрогеназ* знижують надходження атомів Гідрогену у дихальний ланцюг шляхом гальмування процесу дегідрування субстратів. Наприклад, препарати ізоніазид, фтивазид, салюзид та інші є структурними аналогами амідів 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 цього циклу.

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

– *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.

– *II комплекс* дихального ланцюга (сукцинатдегідрогеназа - СДГ) інгібірується малоною кислотою, теноїлтрифторацетоном, карбоксином, що інгібірують перехід електронів від СДГ на КоQ.

– *III комплекс* дихального ланцюга (цит в, с₁, FeS-білки) інгібірується 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) інгібірують класичні отрути: сірководень (H₂S), чадний газ (CO), ціаніди (NaCN, KCN),

натрій азид (NaN_3). Наприклад, ціаніди приєднуються до іону Феруму цитохрому а. При цьому валентність Fe^{3+} 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.

3) *Інгібітори окисного фосфорилування* знижують активність АТФ-синтази за рахунок зв'язування з протонним каналом F_0 та зупинкою потоку протонів через фермент. Наприклад, антибіотик олігоміцин повністю припиняє як фосфорилування АДФ в інтактних мітохондріях, так й окиснення субстратів, що веде до зупинки дихання.

4) *Роз'єднувачі окисного фосфорилування*. Окисне фосфорилування може відбуватися лише при певній мінімальній величині електрохімічного потенціалу на внутрішній мітохондріальній мембрані. Штучне зниження електрохімічного потенціалу порушує синтез АТФ і призводить до роз'єднання окиснення (дихання) і фосфорилування. Речовини, що спричиняють роз'єднання окиснення і фосфорилування називають роз'єднувачами.

Загальною властивістю роз'єднувачів є їх здатність знижувати величину протонного градієнту на внутрішній мітохондріальній мембрані. Роз'єднувачі окисного фосфорилування поділяються на:

а). *Протонофори* (переносники протонів) можуть зворотно протонуватися за рахунок позамітохондріальних протонів і в такому вигляді електрофоретично переміщуватися до матриксової поверхні мембрани крізь її гідрофобний шар. Тут відбувається депротонування молекули, і протон, що звільнився, переходить в матрикс. У цьому випадку окиснення може йти без фосфорилування. Типовим протонофором є 2,4-динітрофенол (рис. 24):

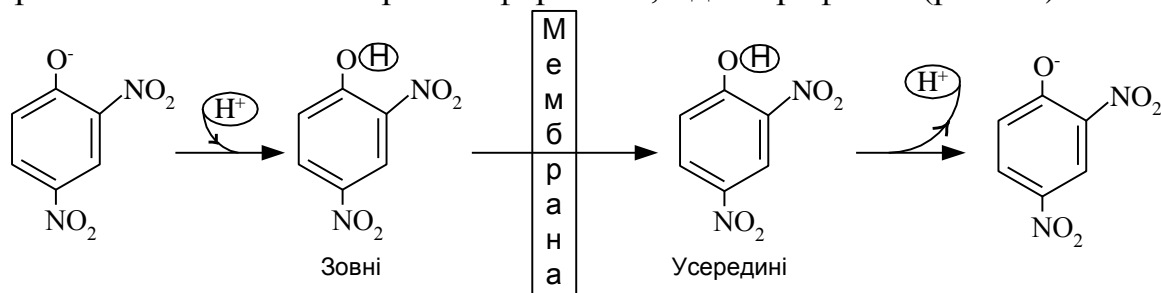


Рис. 24. Дія роз'єднувача 2,4 – динітрофенола

Аналогічну дію мають деякі фармацевтичні препарати (амінобарбітал, фенацетин, аспірин, фенілін), продукти життєдіяльності мікроорганізмів, динітрокрезол, дикумарин, пентахлорфенол, карбонілціанід-*m*-хлорфенілгідразон. Активність останньої сполуки в 100 разів перевищує за специфічністю дії активність 2,4-динітрофенола. Функції природного роз'єднувача в організмі людини виконують гормони щитовидної залози трийодтиронін і тироксин (при концентраціях, що у багато разів перевищують фізіологічні) завдяки накопиченню ненасичених жирних кислот, які є протонофорами. Вільні жирні кислоти у формі аніона ($\text{R}-\text{COO}^-$) зв'язують H^+ на зовнішній поверхні мембрани, переносять їх у молекулярній формі ($\text{R}-\text{COOH}$)

крізь мембрану і далі, дисоціюючи, віддають H^+ на внутрішній поверхні мембрани в матрикс ($R-COOH \rightarrow R-COO^- + H^+$).

б). *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. Однак слід підкреслити, що граміцидин діє як на клітини мікроорганізмів, так і клітини хворого, тому його необхідно застосовувати з обережністю (тільки у вигляді мазей і паст для лікування гнійних ран, остеомієлітів та у вигляді промивань і полоскань при запальних захворюваннях вуха, горла тощо).

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 фосфорилування базується терморегуляторна функція тканинного дихання. У результаті роз'єднання кількість АТФ знижується, а АДФ збільшується.

Відома також ціла група речовин, що мають дію протилежну роз'єднувачам. Це так звані *спряжуючі агенти*. Під їх впливом збільшується ефективність роботи дихального ланцюга за рахунок посилення спряження процесів окиснення і фосфорилування.

Спряжуючі агенти знаходять широке застосування в медицині в якості лікарських засобів. Головний ефект цих препаратів полягає в тому, що під їх впливом при обмеженні інтенсивності дихання (в умовах гіпоксії) мітохондрії зберігають високу здатність до синтезу АТФ. За рахунок цього сполуки стають незамінними для корекції порушень енергетичного обміну при захворюваннях, що супроводжуються розвитком в організмі кисневої недостатності. До таких препаратів належать ноотропи (пірацетам, фенібут і ін.). Дослідженнями була доведена висока ефективність їх застосування для лікування інфаркту міокарда. При дії роз'єднувачів відбувається різке зменшення значення P/O і, навпаки, в присутності спряжуючих агентів величина цього показника зростає.

Крім спряжуючих агентів нормальний обмін речовин в організмі людини поліпшує використання *активаторів енергетичного обміну*: глюкози, фруктози, амінокислот, кислот циклу Кребса (лимонної, яблучної, янтарної), різних поживних сумішей (гідролізат казеїну, амінокровін, фібриносол, амікін та ін.). Широкого терапевтичного застосування набуло використання вітамінів (B_1 , B_2 , B_5 , B_3 , ліпоевої, пантотенової, аскорбінової кислот), а також їх кофакторів, наприклад, фармпрепаратів флавінату (ФАД) та ФМН у випадках порушень біологічного окиснення. Стан гіповітамінозу практично будь-якого вітаміну призводить до порушення обміну речовин. Приховані форми гіповітамінозів завжди є складовими механізми ушкоджень у патогенезі

захворювань. Тому перелічені вище вітаміни повинні складати основу збалансованих полівітамінних препаратів.

Останнім часом зацікавленість викликають спроби медичного застосування деяких ферментів дихального ланцюга. Так, цитохром *c* – ферментний препарат, який отримано шляхом екстракції із тканини серця великої рогатої худоби, підвищує використання кисню в тканинах. Застосовують цитохром *c* для поліпшення тканинного дихання при асфіксії новонароджених, при астматичних станах, хронічній пневмонії, серцевій недостатності, анеміях, деяких отруєннях і та ін.

Сприяють активації дихання і фосфорилювання інсулін, мікроелементи та сам кисень. Отже, позитивний результат кисневої терапії під час гіпо- та аноксичних станів відомий давно.

Біоенергетика і порушення обміну речовин. Гіпоенергетичні стани

Для постійного синтезу АТФ клітинам необхідна наявність субстратів дихання (донори H^+ і e^-) і кисню, як їх кінцевого акцептора (при відсутності кисню вже через 2-3 хв. настає смерть).

Разом з тим запасів АТФ в клітинах практично не існує. Наприклад, у серцевому м'язі людини міститься не більше одного 1 г АТФ, а для роботи серця протягом хвилини за відносного спокою організму необхідна енергія, що відповідає мінімум 40 г АТФ. Тобто, синтез АТФ у клітинах серця повинен здійснюватися безперервно і з великою швидкістю. Порушення будь-якого етапу метаболізму, що призводять до припинення синтезу АТФ, смертельні для клітини.

Різноманітні стани, при яких знижений синтез АТФ, об'єднують терміном «гіпоенергетичні». Їх причинами можуть бути:

- голодування - недостатня кількість субстратів окиснення;
- неможливість використання субстратів окиснення (наприклад, при захворюванні цукровим діабетом);
- недостатня кількість ферментів дихального ланцюга та гіповітамінози вітамінів РР, B_2 , які входять до їх складу;
- блокування процесів окисного фосфорилювання ;
- зменшення активності АТФ-синтази при токсичних враженнях;
- гіпоксія тощо.

Найбільш часта причина гіпоенергетичних станів – гіпоксія, яка може виникнути: а) при недоліку кисню у вдихуваному повітрі; б) при захворюваннях легенів і порушеннях легеневої вентиляції; в) при порушеннях кровообігу, спричинених захворюваннями серця, спазмом і тромбозом судин; г) крововтраті; д) при спадкових чи набутих генетичних порушеннях структури гемоглобіну.

Голодування, при якому відсутні субстрати окиснення, також є причиною гіпоенергетичного стану. При голодуванні в якості джерела енергії використовуються власні речовини тканин, однак їх вистачає на кілька тижнів. При цьому через 2 тижні голодування споживання кисню зменшується на 40 %,

тобто енергетичний обмін знижений. Прикладом порушення енергозабезпечення при голодуванні може бути гіпоглікемія (зменшення вмісту глюкози в крові, як джерела енергії), яка, перш за все, несприятливо впливає на функції мозку: спостерігається гіпоглікемічний шок, втрата свідомості, спазми судин головного мозку. Температура тіла може знизитися на 2 °С.

Ще однією причиною гіпоенергетичних станів можуть бути різні типи гіповітамінозів (В₁, РР, В₂, пантотенової кислоти і біотину) – неолік вітамінів, з яких утворюються коферменти, що беруть участь у реакціях енергетичного обміну.

Частою причиною гіпоенергетичних станів можуть бути порушення процесів використання кисню в клітинах:

- дія інгібіторів і роз'єднувачів в дихальному ланцюгу;
- ферумдефіцитні анемії;
- зниження рівня гемоглобіну та інших ферумвмісних білків (цитохромів, FeS-білків), що призводить до порушення транспорту електронів і синтезу АТФ;
- спадкові дефекти ферментів дихального ланцюга та окисного фосфорилування.

Порушення енергетичного обміну часто виникає при різного роду інтоксикаціях. Вважають, наприклад, що дифтерійний токсин гальмує утворення цитохромів, а хронічна інтоксикація етанолом приводить до пошкодження цитохромоксидази і зміни фосфоліпідної структури внутрішньої мітохондріальної мембрани. Порушення ж фосфоліпідної структури мембрани, у свою чергу, веде до зниження швидкості окисного фосфорилування, зменшення величини дихального контролю та Р/О. Так, при синдромі Рейно різко знижується величина дихального контролю в мітохондріях різних тканин. В основі цього лежить збільшення в сироватці крові хворих концентрації дикарбонових кислот, які мають виражені протоніфторні властивості.

Порушення дихального контролю і роз'єднання окиснення і фосфорилування можуть виникати також при нераціональному застосуванні лікарських препаратів. Наприклад, при передозуванні дикумарину, феніліну, які мають протоніфторну активність, відбувається порушення енергетичного обміну в «тканинах-мішенях» з подальшим порушенням функцій органів і систем. Ще один приклад - лихоманка – підвищення температури тіла, пов'язане, як правило, з бактеріальною або вірусною інфекцією. Стан лихоманки викликають речовини пірогени, які містяться в бактеріях. Під впливом пірогенів дихання роз'єднується із процесом фосфорилування, зменшується виробництво АТФ та посилено виробляється тепло.

Стан стресу, викликаний різноманітними факторами (тепло, холод, рентгенівське випромінювання, травма, чужородні речовини, біль, втрата крові тощо), через центральну нервову й ендокринну системи також веде до підвищення рівня енергетичного обміну за рахунок інтенсифікації метаболічних процесів в організмі. Через деякий час (зазвичай 2–3 дні) попередній рівень метаболічних процесів у тканинах відновлюється.

Патологічні стани характерні безпосередньо і для самого апарата енергозабезпечення, зокрема для мітохондрій: відзначається збільшення їхньої маси у м'язовій тканині, порушення структури мембран, виникає так звана мітохондріальна хвороба. Дихання таких мітохондрій слабо пов'язане з утворенням АТФ. Під час хвороби, що називається мітохондріальною міопатією, помітно знижується активність деяких ферментів біологічного окиснення, наприклад цитохромоксидази.

Однак, слід зазначити, що люди зі значним дефектом енергетичного обміну не виживають.

ФОТОСИНТЕЗ

Усі живі організми поділяються на дві групи:

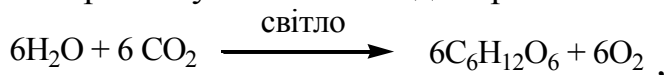
– *автотрофні* організми або клітини (що "самі себе живлять") засвоюють CO₂ повітря в процесі фотосинтезу і з нього будують власні біомолекули (зелені рослини, фотосинтезуючі бактерії, деякі водорості, що містять хлорофіл). Енергію для своїх ендергонічних реакцій вони отримують за рахунок енергії сонячного світла;

– *гетеротрофні* організми або клітини (що "живляться за рахунок інших") отримують Карбон із складних органічних сполук (вуглеводів, ліпідів, білків), що містяться у продуктах харчування, тобто живляться продуктами життєдіяльності інших організмів. Джерелом енергії у гетеротрофів є реакції біологічного окиснення метаболітів.

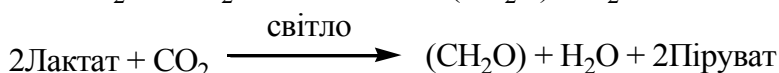
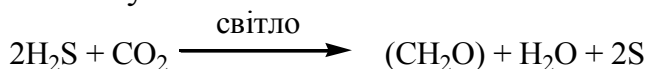
Особливе місце серед автотрофів посідають фотосинтезуючі організми.

Фотосинтез - це біологічний процес засвоєння сонячної енергії, у ході якого відбувається синтез глюкози з вуглекислого газу та виділення кисню в навколишнє середовище. Іншими словами, в процесі фотосинтезу сонячна енергія запасється у вигляді хімічних зв'язків органічних сполук, які синтезуються з неорганічних, тобто відбувається трансформація поглинутої організмом енергії (E) світла в хімічну E органічних (і неорганічних) сполук.

Усі фотосинтезуючі організми розділяються на організми, які утворюють кисень (зелені рослини та ціанобактерії) та не утворюють його (сірчані бактерії). Для перших характерний *кисневий фотосинтез*, в якому для відновлення CO₂ вони використовують в якості донора атомів Гідрогену воду:



а для інших – *безкисневий фотосинтез*, де донором Гідрогену є неорганічні або органічні сполуки:



Спеціалізованими внутрішньоклітинними органелами, в яких відбувається процес фотосинтезу, є хлоропласти, які можливо розглядати, як головні «силові станції» фотосинтезуючих клітин.

Структура хлоропластів

Клітини вищих рослин містять декілька десятків хлоропластів, які здатні до поділу, оскільки мають свою ДНК, РНК та білок-синтезуючий апарат. Окрім хлоропластів у клітинах рослин є також мітохондрії, що забезпечують їх енергією у темряві за рахунок дихання.

Подібно мітохондріям, хлоропласти мають зовнішню та внутрішню мембрану. У внутрішньому просторі знаходиться багато плоских мембранних мішечків або пухирців, які мають назву тилакоїди. Вони зібрані та укладені в стопки - грани. У гранах від 10 до 20 тилакоїдів. В клітинах вищих рослин міститься до 50 гран, які зв'язані між собою мембранними структурами – ламелами. Рідина, що заповнює внутрішньоклітинний простір хлоропласта та оточує тилакоїди має назву строма. (рис. 25).

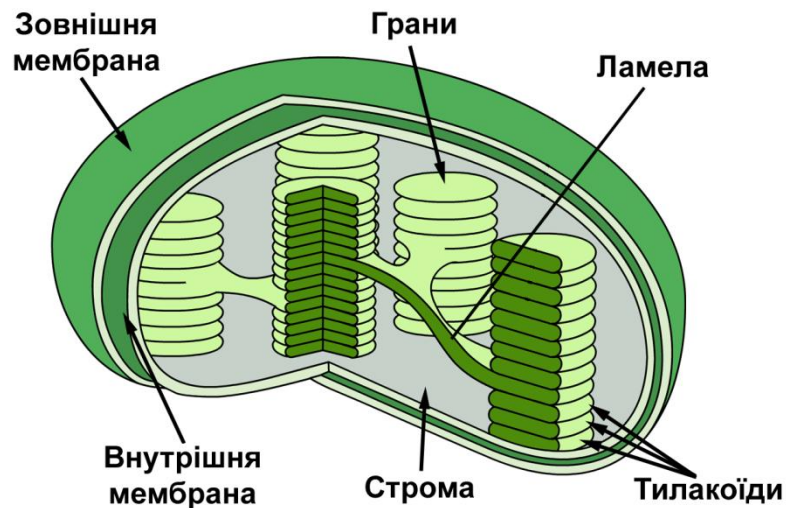


Рис. 25. Схема будови хлоропласту

Тилакоїди містять фотосинтетичні пігменти і ферменти світлової фази фотосинтезу, а строма - ферменти темнових реакцій фотосинтезу. Транспорт речовин через внутрішню мембрану хлоропласта здійснюється за допомогою транслоказ. Крім того, у хлоропластах містяться світлочутливі пігменти.

Пігменти фотосинтезу. До пігментів фотосинтезу відносять: *хлорофіли a, b, c, d*, *каротиноїди* та *фікобіліни*.

1. *Хлорофіли* - зелені магній-порфіринові пігменти, які присутні в клітинах рослин, деяких водоростей і ціанобактерій. Назва походить від грец. *chloros* — зелений і *phyllos* — листок. Відомо більш 10 видів хлорофілу, що відрізняється природою хімічних груп, приєднаних до пірольних структур порфіринового ядра, забарвленням, поширенням серед живих організмів. Слід зазначити, що у найбільшій кількості у склад хлоропластів входить *хлорофіл a*. Встановлено, що існує декілька різновидів цього хлорофілу, які різняться максимумом поглинання світла (680 та 700 нм).

У молекулі *хлорофілу a*, який присутній у хлоропластах усіх клітин зелених рослин, міститься чотири заміщених пірольних кільця. П'яте, непірольне кільце, представлено залишком малонової кислоти, естерифікованої метиловим спиртом. Довгий ізопреноїдний бічний ланцюг молекули є залишком спирту фітолу, приєднаного естерним зв'язком до карбоксильної групи пропіонової кислоти у кільці IV. Чотири центральних атоми Нітрогену координаційно зв'язані з іоном Mg^{2+} (рис. 26).

У фотосинтезуючих клітинах вищих рослин завжди присутні хлорофіли двох типів. Один з них - *хлорофіл a*, а другий - *хлорофіл b*, який відрізняється від *хлорофілу a* тим, що замість метильної групи у кільці II присутня альдегідна група. Атом Mg сприяє утворенню агрегатів молекул хлорофілу, що полегшує поглинання світла. Довгий гідрофобний бічний ланцюг служить не тільки для закріплення молекул хлорофілу в ліпідному бішарі мембрани, а також надає їм певної орієнтації. Всі хлорофіли представляють собою фоторецептори.

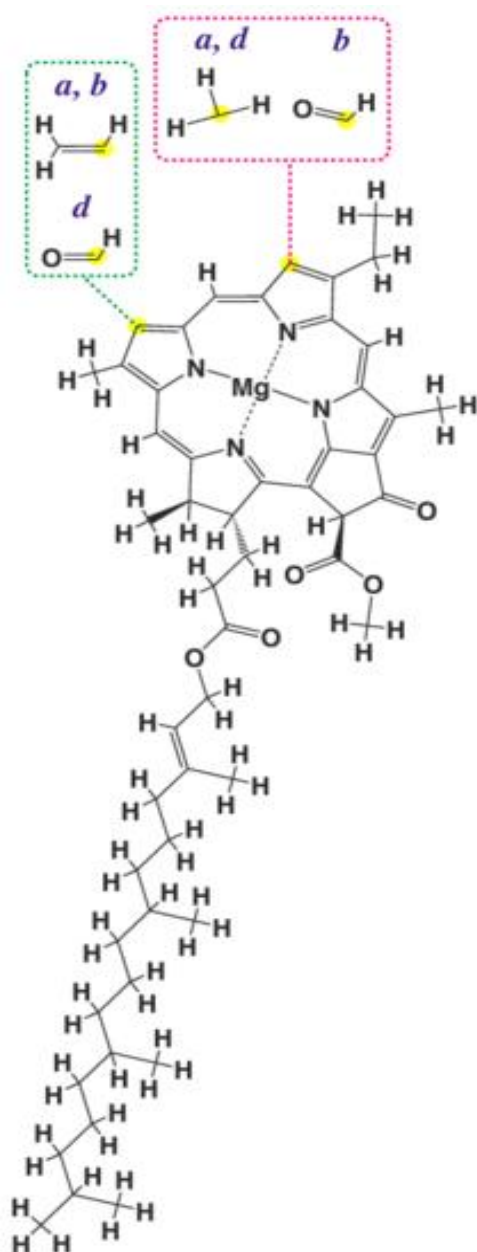


Рис. 26. Будова хлорофілу a, b, d

2. *Каротиноїди* – жовті, червоні, пурпурні допоміжні пігменти. Серед них найбільш поширений червоний β -каротин (рис. 27) – ізопреноїдна сполука, що служить у тварин попередником вітаміну А, а також жовтий каротиноїд *ксантофіл*. Каротиноїди поглинають світло в іншому діапазоні довжини хвилі та передають поглинену енергію на молекули хлорофілу. Через це вони функціонують як світлові рецептори, що доповнюють хлорофіли. Каротиноїди охороняють молекули хлорофілу від руйнування в процесі фотоокиснення.

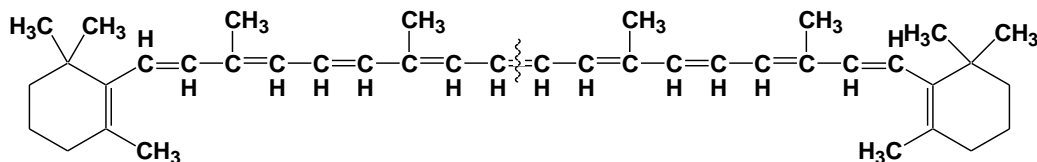


Рис. 27. Будова молекули β -каротину

3. *Фікобіліни* (фікоеритрини, фікоціаніни) – червоні та сині допоміжні пігменти, що побудовані з лінійно зв'язаних чотирьох пірольних структур, які поглинають енергію в зеленій та жовтій областях спектру і також передають її на хлорофіл.

Саме від співвідношення різних пігментів залежить характерне забарвлення різних видів рослин.

Характеристика фотосистем

Світлопоглинальні пігменти фотосинтезу організовані у тилакоїдах в особливі функціональні ансамблі - фотосистеми, що здатні поглинати увесь спектр видимого світла. Кожна пігментна молекула фотосистеми має здатність сприймати кванти видимого світла. У той же час тільки одна з них трансформує світлову енергію в хімічну. Вона представлена молекулою хлорофілу, що пов'язана з особливим білком і утворює фотохімічний реакційний центр фотосистеми. Всі інші молекули допоміжних пігментів у фотосистемі є світлозбираючими (або антенними). Вони сприймають квант світла, передають його на фотохімічний реакційний центр, де проходить фотохімічний акт (рис. 28).

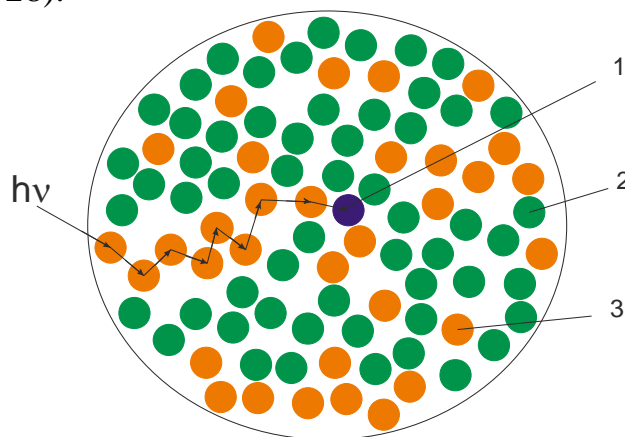


Рис. 28. Схема будови фотосистеми листя рослини (1 – реакційний центр фотосистеми, 2 – молекула хлорофілу, 3 – молекула каротиноїду)

В тилакоїдах вищих рослин існують два типи фотосистем, які відрізняються між собою складом та функціями.

Фотосистема I максимально активується квантами видимого світла з великою довжиною хвилі. Вона містить у складі більше *хлорофілу a* ніж *хлорофілу b*. Ця фотосистема бере участь у відновленні НАДФ.

Фотосистема II максимально активується більш короткохвильовим світлом і містить у своєму складі більше *хлорофілу b*. Вона бере участь в окисно-відновних перетвореннях, які супроводжуються утворенням і виділенням кисню з води.

У клітинах вищих рослин, що виділяють кисень, містяться обидві фотосистеми, а у бактерій, які не виділяють кисень – тільки фотосистема I.

Процес фотосинтезу складається з двох фаз.

I. *Світлова фаза* (здійснюється лише за умови світла). Під час світлової стадії відбувається синтез АТФ, відновлення НАДФ і виділення кисню. Вона складається з трьох процесів:

1. Фотоокиснення – сприйняття квантів сонячної енергії та фотохімічний процес окисного розщеплення води (фотоліз H_2O).

2. Фотосинтетичного фосфорилування – синтез АТФ за рахунок енергії електронів води.

3. Фотовідновлення НАДФ за рахунок енергії електронів.

II. *Темнова фаза* (може здійснюватись за будь-яких умов – як у темряві, так і у світлі). Під час темної стадії відбувається відновлення CO_2 до глюкози (синтез моносахаридів) за участю утворених під час світлової фази АТФ та відновленого НАДФ.

Без світлової стадії темнова неможлива.

Механізм світлової стадії фотосинтезу

Кисень утворюється тільки у світловій фазі фотосинтезу. При поглинанні кванту світла антенними пігментами фотосистеми I відбувається їх збудження, та енергія збудження у вигляді екситонів передається на реакційний центр фотосистеми I – пігмент P_{700} . Внаслідок цього один з електронів пігменту набуває надлишкової енергії, залишає реакційний центр і приєднується до першого переносника ланцюга перенесення електронів – FeS-білку P_{430} . При цьому реакційний центр переходить в окиснений стан, і в ньому утворюється "електронна дірка". Далі електрон передається на наступний компонент електронотransпортного ланцюга - білок ферредоксин. Обидва ці компоненти містять у своєму складі Ферум, що і забезпечує процес транспорту електрона. Термінальним компонентом електронотransпортного ланцюга є флавопротеїн – ферредоксин-НАДФ-оксидоредуктаза, яка здійснює перенесення електрона безпосередньо на НАДФ. Відновлення початкового стану фотосистеми I та заповнення "електронної дірки" забезпечується перенесенням на неї електрону з фотосистеми II. При поглинанні світла фотосистемою II екситони передаються на реакційний центр та збуджують пігмент P_{680} , електрон якого залишає реакційний центр і передається на ланцюг перенесення електронів. Першим переносником в цьому ланцюзі є *феофітин*. За будовою феофітин

нагадує хлорофіл *a*, але не містить в своєму складі магнію. З відновленого феофітину електрон далі переноситься спочатку на міцно зв'язаний пластохінон (окиснений), потім – на рухомий пластохінон (рис. 29).

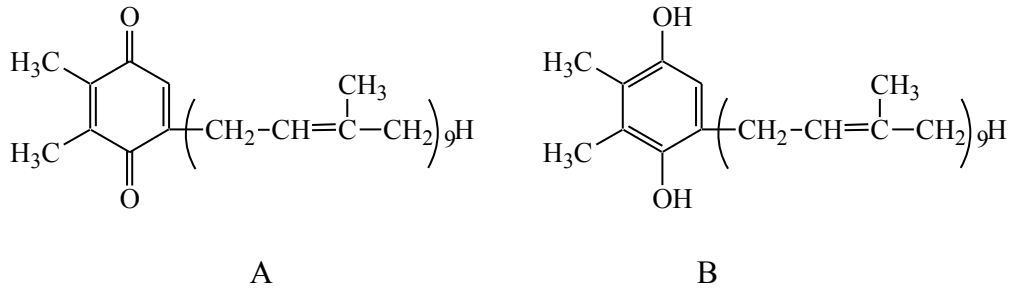


Рис. 29. Структура окисненого (A) та відновленого (B) пластохінону

З молекули відновленого пластохінону електрон переходить на цитохром *b* і далі на цитохром *f*. Потім передається на особливий білок пластоціанін, активним компонентом якого є атом Купруму, що зворотно змінює валентність $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$. Пластоціанін передає електрон безпосередньо на фотосистему I, відновлює пігмент P_{700} тобто заповнює "електронну дірку" фотосистеми I. Схема цього процесу (її часто називають *Z*-схемою від англ. *zigzag* - зігзаг) була запропонована Р. Хіллом, Ф. Бендаллом та Л. Дюйзенсом (рис. 30).

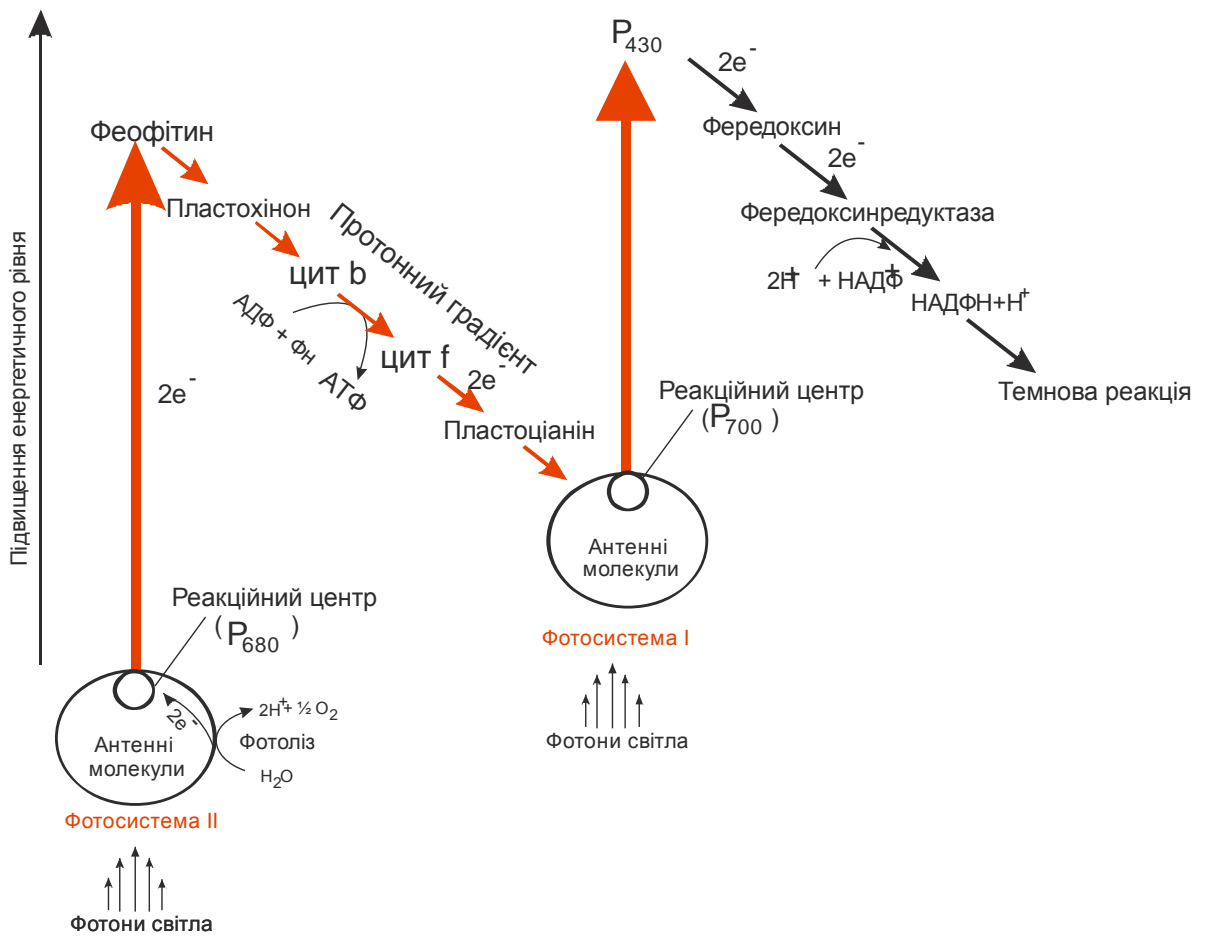


Рис. 30. Взаємодія фотосистем I та II хлоропластів рослин в процесі світлової фази фотосинтезу

Після перенесення електрона на фотосистему I в окисненому стані (з "електронною діркою") лишається реакційний центр фотосистеми II, який у свою чергу, відновлюється за рахунок електрона, що звільнюється в процесі розпаду молекули води (фотолізу води):



Розпад води забезпечується окисненою формою реакційного центру P_{680} . В реакції бере участь марганцевий центр одного з білків фотосистеми II - H_2O -дегідрогеназа.

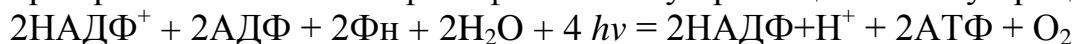
З рівняння реакції видно, що фотоліз води супроводжується утворенням молекулярного кисню (один з кінцевих продуктів світлової фази фотосинтезу), електронів та протонів, які відновлюють НАДФ^+ до $\text{НАДФН} + \text{H}^+$.

Для переносу кожного електрона від води до НАДФ потрібна енергія 2-х квантів світла, які поглинаються кожною фотосистемою.

Такий перенос електронів від H_2O до НАДФ^+ має назву *нециклічного процесу* фотосинтеза.

Крім відновлення НАДФ , в нециклічному процесі фотосинтеза може синтезуватися й АТФ , що пояснюється перенесенням електронів з фотосистеми II на фотосистему I через цитохроми b і f (Рис.30). Різниця потенціалів між цими переносниками достатня для синтезу АТФ .

Сумарне рівняння світлової фази фотосинтезу при нециклічному процесі:



Крім нециклічного можливо проходження *циклічного процесу* переносу електронів, в якому бере участь тільки фотосистема I. При цьому електрони, які викидаються фотосистемою I при її освітленні, не переходять далі до НАДФ^+ , а безпосередньо передаються на фотосистему II (на цитохром b) і таким чином повертаються обхідним шляхом у фотосистему I та заповнюють в ній "електронну дірку". Енергія, що необхідна для проведення одного електрону повз такий цикл, забезпечується поглинанням одного кванта світла. Циклічний перенос електронів не супроводжується утворенням $\text{НАДФН} + \text{H}^+$ та виділенням кисню. Однак для нього характерний синтез АТФ (рис. 31).

Циклічний перенос електронів може проходити паралельно з нециклічним в рослинній клітині тоді, коли вона забезпечена $\text{НАДФН} + \text{H}^+$, але при цьому потребує додаткової кількості АТФ .

Сумарне рівняння для циклічного переносу електронів:



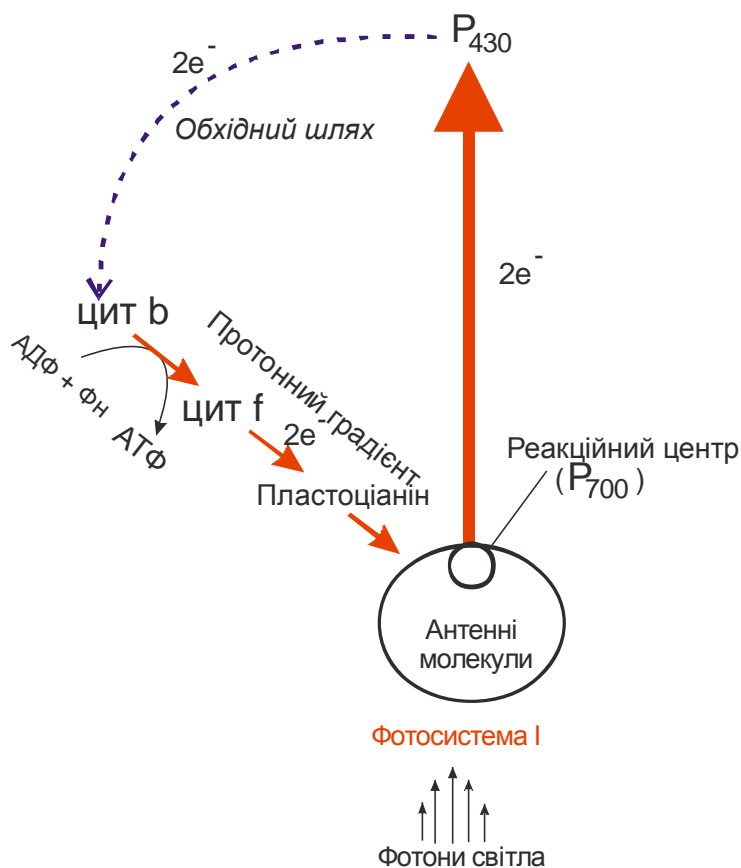


Рис. 31. Механізм циклічного фотофосфорилування в хлоропластах

Таким чином, як нециклічний, так і циклічний процеси переносу електронів супроводжуються виділенням частки світлової енергії, яка акумулюється у фосфатному зв'язку молекули АТФ. Цей процес був названий *фотосинтетичним фосфорилуванням* (або фотофосфорилуванням) на відміну від окисного фосфорилування в мітохондріях. Однак, механізм утворення АТФ у процесі фотосинтезу аналогічний фосфорилуванню в мітохондріях і може бути пояснений хеміосмотичною теорією П. Мітчела. Отже, фотофосфорилування відбувається у замкнутому просторі, оточеному мембраною тилакоїда, яка непроникна для протонів. Обов'язковою умовою фотофосфорилування є цілісність тилакоїдних мембран. На поверхні мембрани тилакоїду (зовні), розміщується фактор спряження CF_1 - від англ. *chloroplast* (аналогічний фактору F_0F_1 мітохондрій, рис. 32).

Перенесення електронів по ланцюгу транспорту електронів фотосистеми II супроводжується формуванням протонного градієнта на мембранах тилакоїдів, енергія якого використовується для синтезу АТФ за допомогою фактора CF_1 . На відміну від мітохондрій, в цьому процесі протони накопичуються всередині тилакоїдів.

Енергії одного захопленого хлорофілом фотосистеми II кванта світла достатньо для утворення 1 молекули АТФ. Подібно окисному фосфорилуванню перенесення електронів через переносники фотосистеми II може роз'єднуватись з процесом синтезу АТФ під впливом протонофорів - речовин, що посилюють протонну провідність мембрани тилакоїду.

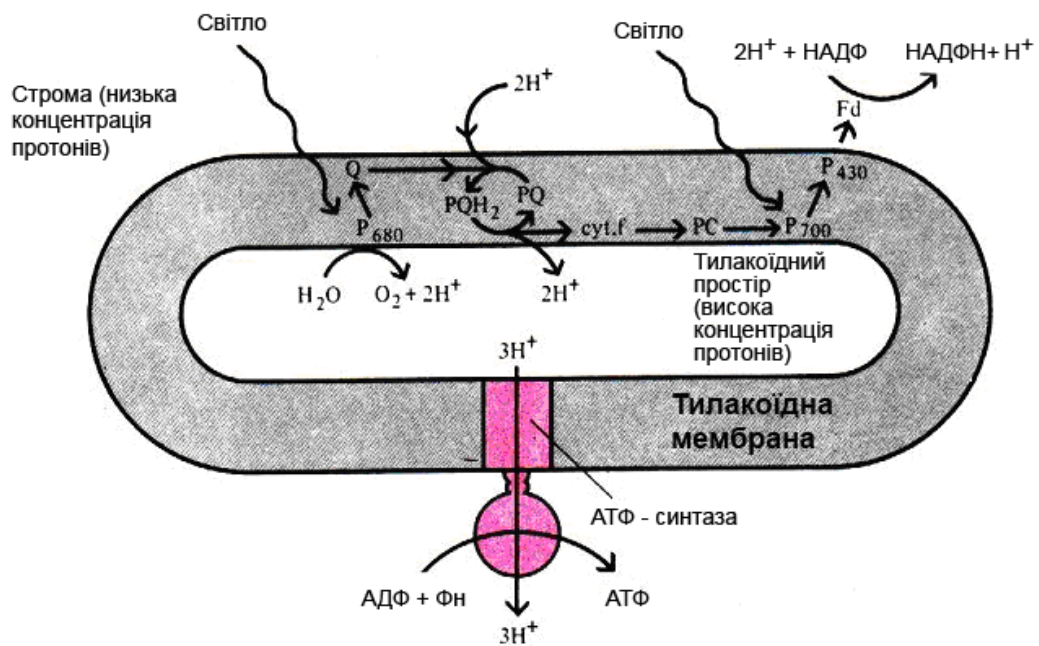
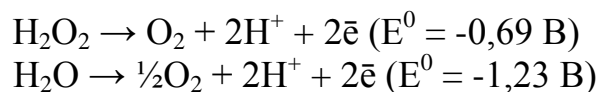


Рис. 32. Розташування компонентів процесів фотосинтезу та фотофосфорилування в тилакоїдах: пігмент P_{680} – реакційний центр фотосистеми II, Q – кофактор Q (феофітин), PQH_2 – пластохінон (відновлений), PQ – пластохінон (окиснений), cyt f - цитохром f, PC – пластоціанін, пігмент P_{700} – реакційний центр фотосистеми I, P_{430} – FeS-білок, Fd - ферредоксин.

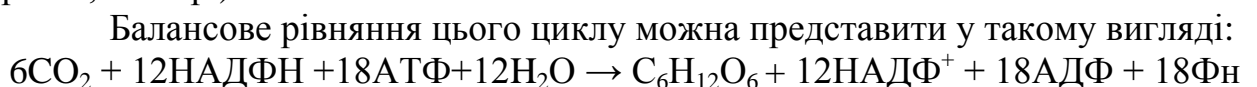
В останні десятиліття набула чинності гіпотеза, згідно якої головним джерелом кисню у світловій фазі фотосинтезу є Гідроген пероксид (Г.Г. Комісаров, 2006). У природній воді завжди присутні його молекули в концентрації близько 10^{-6} моль/л. У процесах руху води в капілярній системі стебла та транспірації (випарювання води рослинами) в листі збільшується концентрація H_2O_2 . Тому існує думка, що у фотосинтетичній системі з двох потенційних джерел кисню (вода та Гідроген пероксид), найбільш ймовірним буде Гідроген пероксид, виходячи з принципу економного використання енергії:



Таким чином, у світловій фазі фотосинтезу утворюється 12 молекул НАДФН, 18 молекул АТФ та 6 молекул кисню. АТФ і відновлений НАДФ, що утворилися в ході світлової стадії фотосинтезу далі використовуються для синтезу глюкози, який здійснюється під час темної фази фотосинтезу.

Механізм темної фази фотосинтезу

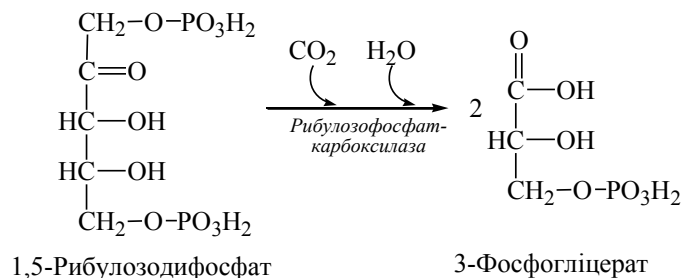
Синтез глюкози, пов'язаний з поглинанням вуглекислого газу рослинами, представляє циклічний процес, який називається циклом Кальвіна (Нобелівська премія, 1961 р.).



Цикл проходить у стромі хлоропласту і складається з трьох стадій:

1. *Карбоксилювання*: CO_2 ковалентно зв'язується з вуглеводним скелетом рибулозо-1,5-дифосфату.
2. *Відновлення*: енергія АТФ та НАДФН використовується для утворення гліцеральдегід-3-фосфату.
3. *Регенерації*: енергія АТФ використовується для регенерації вуглеводного скелету рибулозо-1,5-дифосфату.

Фіксація вуглекислого газу відбувається в реакції, що каталізується рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксілазою або оксигеназою (Rubisco, КФ 4.1.1.39). Цей фермент розташований на зовнішній мембрані тилакоїдів (складає 1/6 частину усіх білків хлоропласту) та є одним з найбільш поширених ферментів, які беруть участь в утворенні біомаси на планеті. У рибулозодифосфаткарбоксілазній реакції проходить карбоксилювання та трансформація рибулозо-1,5-дифосфату в 2 молекули 3-фосфогліцерату:



Кожна з молекул 3-фосфогліцерату містить три атоми Карбону, тому цикл Кальвіна називають також C_3 -шлях фіксації вуглекислого газу:

Потім 3-фосфогліцерат відновлюється за допомогою НАДФН та АТФ до гліцеральдегід-3-фосфата, з кожних 6-ти молекул якого використовуються:

- одна молекула - для синтезу глюкози в реакціях, подібних глюконеогенезу у тварин;
- п'ять молекул - для синтезу рибулозо-1,5-дифосфату на стадії регенерації в реакціях, аналогічних неокислювальній фазі пентозофосфатного циклу.

Спрощена схема перетворення проміжних продуктів у циклі Кальвіна представлена на рис 33:

Лімітуючою стадією темнових реакцій фотосинтезу є реакція карбоксилювання рибулозо-1,5-дифосфату під дією аллостеричного ферменту рибулозодифосфаткарбоксілази. Він активується зростанням рН стромы, надходженням в строму іонів Mg^{2+} в умовах освітлення клітин листя.

Новоутворена в процесі фотосинтезу глюкоза далі може використовуватися для синтезу різних рослинних вуглеводів - крохмалю, сахарози і целюлози. Крохмаль синтезується та запасується у хлоропластах, а сахароза - у цитозолі. Вона є основною транспортною формою вуглеводів в рослинах.

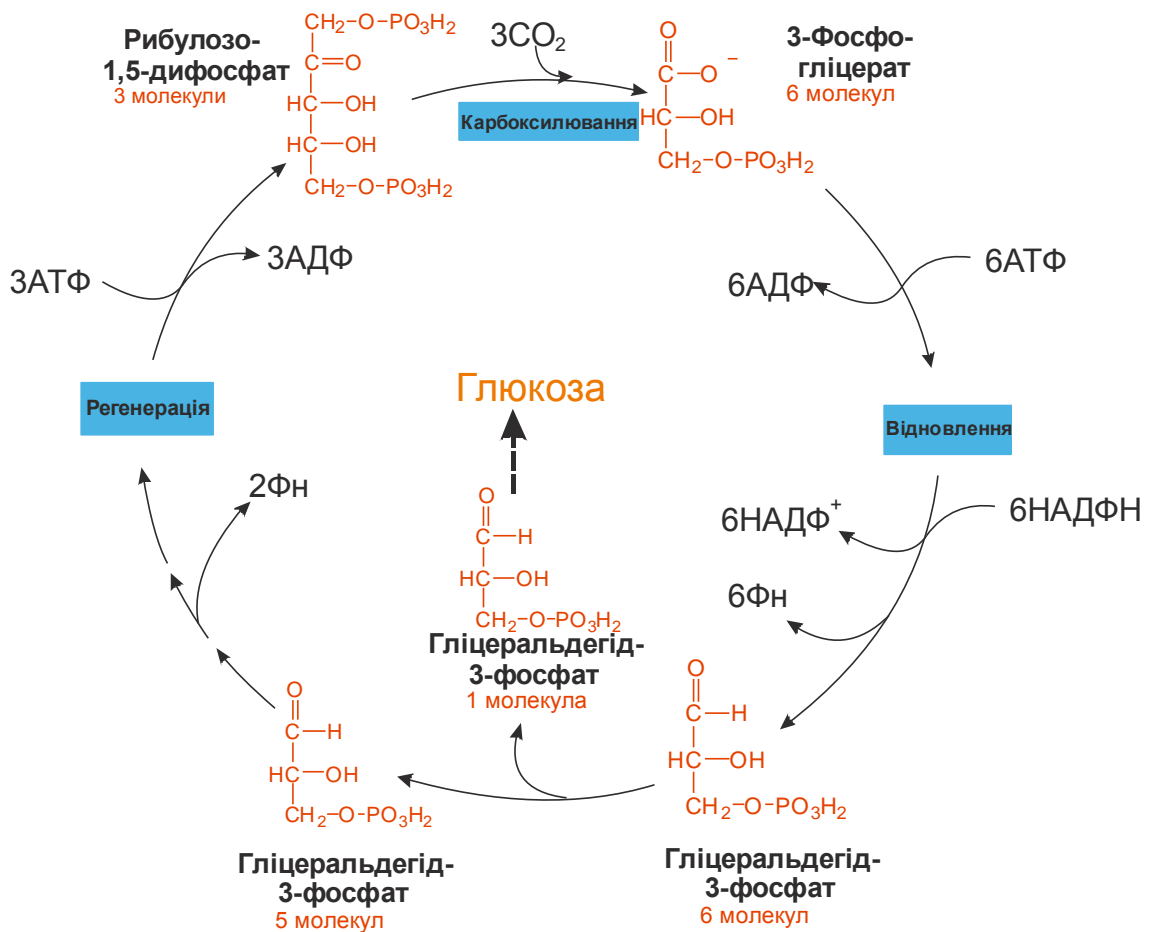


Рис. 33. Цикл Кальвіна (спрощена схема)

Методи вивчення обміну речовин

Для вивчення обміну речовин в організмі використовуються сучасні хімічні, фізико-хімічні та фізичні методи виділення, розділення та ідентифікації. Так, для розділення, очищення складних біологічних сумішей та виділення з них окремих сполук використовують різні види хроматографії й електрофорез. Для вивчення структури біологічних молекул застосовують ІЧ-, УФ-спектроскопію, флуоресцентний та рентгеноструктурний аналіз, ЯМР-спектросметрію. Також використовуються різноманітні методичні підходи до окремих структур організації цілісного організму, ізольованих органів, тканинних зрізів, гомогенатів, екстрактів, субклітинних структур, біологічних рідин та ін. Найчастіше при вивченні обміну речовин застосовується одночасно декілька підходів і методів. При цьому недоліки одного методу компенсуються відповідними перевагами іншого. Залежно від конкретної мети для вивчення обміну речовин на різних рівнях структурної організації живого організму використовують такі методи.

І. Дослідження на рівні цілісного організму

1. *Балансовий метод.* На цілісному організмі вивчають баланс між кількістю введеної в організм речовини і кількістю виділених кінцевих продуктів її розпаду. Далі роблять висновки щодо потреби організму в тій або

іншій речовині, добової потреби та ступеню засвоєння цієї речовини. Завдяки таким експериментам були сформовані поняття про незамінні поживні речовини: вітаміни, поліненасичені жирні кислоти, деякі амінокислоти, мінеральні речовини тощо. Балансові дослідження обміну речовин проводять на лабораторних тваринах, а також при вивченні обміну білків, води, мінеральних речовин у здорових і хворих людей. Балансовий обмін може бути: позитивний – коли в організм потрапляє більше речовини, ніж виводиться; негативний – з організму виводиться більше, ніж було введено; нульовий – надходження речовини в організм врівноважується виведенням такої ж кількості продуктів кінцевого обміну. Балансовий метод інформативний і не має протипоказань для проведення.

2. *Ізотопний метод або метод мічених атомів.* Принцип методу полягає в тому, що у молекули речовин вводяться атоми радіоактивних або важких ізотопів, які у природних сполуках не зустрічаються або зустрічаються в дуже малих кількостях, а далі досліджують появу ізотопної мітки в продуктах перетворення речовин.

У біохімічних дослідженнях застосовують:

а) стабільні ізотопи елементів, які відрізняються за масою від звичайних елементів - Гідрогену (D, дейтерій H^2), Нітрогену (N^{15}), Оксигену (O^{18}), Карбону (C^{13}) і виявляються методом мас-спектрометрії;

б) радіоактивні ізотопи - Карбону (C^{14}), Фосфору (P^{32}), Сульфур (S^{35}), Йоду (I^{131}), Феруму (Fe^{59}), Натрію (Na^{24}), Кальцію (Ca^{45}), Гідрогену (третій - H^3), які виявляють за допомогою спеціальних лічильників.

Можливість застосування цього методу зумовлена тим, що живі організми ставляться однаково до обміну мічених і немічених речовин. Метод дає можливість простежити шляхи перетворення міченої речовини в організмі (шляхи всмоктування, розподілу, переміщення й перетворення тих чи інших речовин, у тому числі й лікарських) і характеризується надзвичайно високою чутливістю (можна визначити 10^{-18} г речовини).

Різновидом ізотопного методу є *радіоімунний аналіз*, який поєднує специфічні імунологічні методи з ізотопним. Експериментальним тваринам вводиться антигенний білок або не антигенна низькомолекулярна речовина, яка зв'язується з білком-переносником і утворює гаптен. У відповідь на це в організмі утворюються антитіла, які мітять найчастіше Йодом-125 і використовують для проведення реакцій антитіло-антиген.

3. *Метод ангиостомії.* Суть методу полягає в тому, що у тварин в стінки певних кровоносних судин, які виведені назовні, вводять срібні або платинові трубочки (канюлі), а потім беруть кров для дослідження. Метод дозволяє вивчати обмін речовин на цілісному організмі шляхом дослідження хімічного складу крові, що притікає до органа і відтікає від нього. Участь будь-якого органа в обміні речовин вивчають шляхом введення катетерів у кровоносні судини. При цьому порівнюється хімічний склад крові, що надходить до органу по артеріях і відтікає через вени. Методом ангиостомії досліджують також вплив на метаболізм органа різних речовин, що вводяться в артеріальну кров.

II. Дослідження на рівні ізольованих органів

Метод заснований на хірургічному виділенні органу та безупинному прокачуванні через ізольований орган поживних речовин (перфузія) для підтримки його життєдіяльності. Крім того, в розчини додають речовини, що підлягають вивченню. Надалі досліджують хімічний склад рідини на вході й виході з органу. Таким чином, з'ясовують шляхи перетворення різних речовин і роль відповідного органу у метаболізмі. Недоліком цього методу є те, що він не дає змоги врахувати впливи центральної нервової та ендокринної систем на обмін речовин в цілісному організмі.

III. Метод зрізів, екстрактів і гомогенатів

Із тканин одержують водні, сольові та інші екстракти (витяжки), гомогенати, а також за допомогою мікротома тонкі зрізи завтовшки приблизно 50 мкм. Далі зріз поміщають у середовище, близьке за складом до внутрішнього середовища організму, і досліджують зміни його складу після додавання різних речовин. Для отримання гомогенату тканину подрібнюють (розтирають або використовують гомогенізатор) і поміщають у біологічно інертний розчин. При цьому клітини руйнуються, але субклітинні структури (ядра, лізосоми, мітохондрії, рибосоми, мікросоми) залишаються непошкодженими і зберігають біологічну активність. Далі використовують метод диференційного центрифугування, при якому гомогенат суспензують і для одержання субклітинних структур фракціонують шляхом послідовного багаторазового швидкісного центрифугування на холоді. Залежно від розмірів, маси та форми субклітинні структури осідають при різній швидкості та тривалості центрифугування. Потім виділені структури використовують для вивчення біохімічних реакцій, які в них локалізовані.

6. ПІДГОТОВКА ДО ІНТЕГРОВАНОГО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК 1. ФАРМАЦІЯ». (див. п. 10 списку основної літератури).

7. МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Отруєння угарним газом призводить до інгібування одного з ферментів дихального ланцюга мітохондрій. Вкажіть цей фермент.

- A. Цитохромоксидаза
- B. Цитохром P₄₅₀
- C. Цитохром B
- D. Цитохром C₁
- E. Цитохром C

2. Вкажіть білки, що приймають участь у переносі електронів від НАДН⁺ першого комплексу дихального ланцюга на убіхінон.

- A. Глікопротеїди
- B. Ліпопротеїди
- C. Нуклеопро­теїди
- D. Залі­зо­сер­чані білки
- E. Фос­фо­про­теїди

3. Вкажіть термінальний учасник транспорту електронів на кисень:

- A. НАДН–дегідрогеназа
- B. Цитохром $a a_3$
- C. Цитохром b
- D. Цитохром c_1
- E. Убіхінон

4. Вкажіть субклітинну органелу, в якій знаходяться ферменти біологічного окислення:

- A. Пероксисома
- B. Рибосома
- C. Лізосома
- D. Ендосома
- E. Мітохондрія

5. Вкажіть найбільш рухомий цитохром дихального ланцюга:

- A. Цитохром b
- B. Цитохром c_1
- C. Цитохром c
- D. Цитохром P_{450}
- E. Убіхінон

6. Вкажіть фермент циклу Кребса, що є компонентом одного з комплексів дихального ланцюга:

- A. Ізоцитратдегідрогеназа
- B. α -Кетоглутаратдегідрогеназа
- C. Малатдегідрогеназа
- D. Сукцинатдегідрогеназа
- E. Сукциніл~SKoA-тіокіназа

7. Вкажіть відновлену форму небілкової частини ферменту, що входить до другого комплексу переносників дихального ланцюга.

- A. НАДН· H^+
- B. НАДФН· H^+
- C. ФАДН₂
- D. KoASH
- E. Ліпоева кислота

8. Вкажіть первинний донор електронів в довгому дихальному ланцюзі:

- A. НАД⁺
- B. НАДФ
- C. НАДН·Н⁺
- D. НАДФН·Н⁺
- E. ФАДН₂

9. Вкажіть вітаміноподібну речовину, що приймає участь у транспорті електронів по дихательному ланцюгу:

- A. Ліпоєва кислота
- B. Пангамова кислота
- C. Нафтохінон
- D. Убіхінон
- E. Біотін

10. Вкажіть клас складних білків, до яких відносять всі цитохроми:

- A. Металопротеїди
- B. Гемопротеїди
- C. Глікопротеїди
- D. Ліпопротеїди
- E. Флавопротеїди

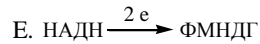
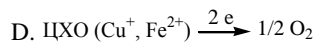
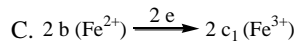
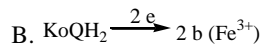
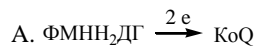
11. Укажіть пункт супряження окислення з фосфорилуванням у дихальному ланцюзі, який блоку-ється при накопиченні барбітура-ту в клітині:

- A. $\text{FMN} \xrightarrow{2e} \text{CoQ}$
- B. $\text{CoQH}_2 \xrightarrow{2e} 2 \text{b} (\text{Fe}^{3+})$
- C. $2 \text{b} (\text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e} 2 \text{c}_1 (\text{Fe}^{3+})$
- D. $\text{ЦХО} (\text{Cu}^+, \text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e} 1/2 \text{O}_2$
- E. $\text{НАДН} \xrightarrow{2e} \text{ФМНДГ}$

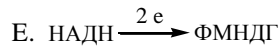
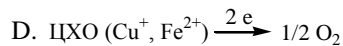
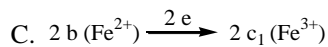
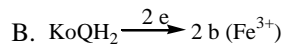
12. Електрохімічний потенціал внутрішньої мембрани мітохондрії утворюється завдяки:

- A. Функції АТФ-синтази
- B. Анаеробному окисленню субстратів
- C. Окисному фосфорилуванню
- D. Субстратному фосфорилуванню
- E. Функції дихального ланцюга

13. Укажіть пункт супряження окислення з фосфорилуванням у дихальному ланцюзі, який блоку-ється при введенні антибіотика антимицина А в клітину:



14. Укажіть пункт супряження окислення з фосфорилуванням у дихальному ланцюзі, який блоку-ється при накопиченні оксиду вуглецю (II) у клітині:



15. Укажіть величину електро-хімічного потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрії, достатню для можливого синтезу АТФ шля-хом окисного фосфорилування:

A. 0,48 в

B. 0,22 в

C. 0,3 в

D. 0,15 в

E. 0,2 в

16. Укажіть прізвище вченого, який запропонував хеміосмотич-ну теорію окисного фосфорилу-вання:

A. Берцеліус С.

B. Ленінджер А.

C. Кребс Г.

D. Мітчелл П.

E. Ліпман Ф.

17. Укажіть показник, за допомо-гою якого оцінюють енергоефект реакції, отриманий завдяки окис-ному фосфорилуванню:

A. Дихальний контроль (АТФ/АДФ)

B. Коефіцієнт фосфорилування P/O)

C. Відношення НАДН/НАД⁺

D. Відношення KoQH₂/KoQ

E. Відношення HSKoA/ацетил-KoA

18. Енергоефект окислення 1 молю сукцинату до фумарової кислоти дорівнює 2 АТФ. Укажіть, як зміниться ця величина при накопи-ченні малонової кислоти в міто-хондрії:

A. Не зміниться

B. Зменшиться

C. Збільшиться

- D. Стане рівною нулю
- E. Стане негативною величиною

19. Енергоефект окислення 1 молю ізоцитрату до α -кетоглутарату дорівнює 3 АТФ. Укажіть, як зміниться ця величина з появою інсектициду ротенону в клітині:

- A. Не зміниться
- B. Зменшиться
- C. Збільшиться
- D. Стане рівною нулю
- E. Стане негативною величиною

20. Укажіть кількість макроергичних субстратів, які синтезуються завдяки субстратному фосфорилюванню в одному циклі Кребса:

- A. Один
- B. Три
- C. одинадцять
- D. дванадцять
- E. дев'ять

8. ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ ДО КОНТРОЛЮ ЗАСВОЄННЯ ЗМІСТОВОГО МОДУЛЮ 2.

1. Характеристика обміну речовин в організмі та методи його вивчення.
2. Анаболічні, катаболічні та амфіболічні шляхи, їх особливості.
3. Механізми регуляції метаболізму.
4. Поняття про енергетичний баланс організму.
5. Біологічна роль біоенергетичних процесів в організмі.
6. Ендергонічні та екзергонічні реакції, приклади, особливості.
7. Загальна характеристика макроергичних сполук та шляхи їх використання в організмі.
8. Роль АТФ в енергетичному обміні.
9. Характеристика двох основних біоенергетичних шляхів фосфорилювання – субстратного та окиснювального.
10. Загальний шлях катаболізму та його характеристика.
11. Сучасні уявлення про механізм тканинного дихання.
12. Структурна організація мітохондрій.
13. Назвіть компоненти, що утворюють дихальний ланцюг. За яким принципом вони розміщені?
14. Окисне фосфорилювання: коефіцієнт окисного фосфорилювання: механізми спряження, АТФ-синтетаза мітохондрій.
15. Дайте характеристику хеміосмотичної теорії П. Мітчела.
16. Регуляція тканинного дихання.
17. Мікросомальне окиснення, його біологічна роль, характеристика ферментів цієї окислювальної системи.
18. Пероксидне окиснення ліпідів та його біологічне значення.

19. Прооксидантна та антиоксидантна системи організму. Природні та штучні антиоксиданти як лікарські препарати.
20. Назвіть інгібітори та роз'єднувачі окисного фосфорилування.
21. Які стадії включає процес фотосинтезу? Охарактеризуйте їх.

9. ЛІТЕРАТУРА (див. с. 74)

Література:

Основна

1. Біохімія : підруч. для студентів фармацевт. спец. / [А. Л. Загайко та ін.] ; за ред. проф. А. Л. Загайка, проф. К. В. Александрової. - Харків : Форт, 2014. - 725 с. : рис.
1. Біологічна хімія / Вороніна Л.М. [та ін].— Харків: Основа, 2000.- 608 с.
2. Березов Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. - М.: Медицина, 1998. – 704 с.
3. Биологическая химия : Учебное пособие для самостоятельной работы по подготовке к лицензионному интегрированному экзамену «Крок 1. Фармация» по модулю 1 «Общие закономерности метаболизма. Метаболизм углеводов, липидов и его регуляция» для студентов фармацевтического факультета специальностей 7.12020101 «Фармация» и 7.12020104 «Технологии парфюмерно-косметологических средств» / под общей редакцией проф. Е.В. Александровой – Запорожье.: .Изд-во ЗГМУ, 2014. – 142 с.
4. Гонський Я. І. Біохімія людини: Підручник / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. - 736 с.
5. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Ю. І. Губський. - Київ-Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. - 508 с.
6. Збірник тестових завдань з біологічної хімії для студентів вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації / Романенко М.І. [та ін] .- Запоріжжя : Вид.ЗДМУ.- 2005. - 98 с.
7. Лабораторні та семінарські заняття з біологічної хімії./ Л.М. Вороніна [та ін].- Х.: Вид-во НФаУ; 2004.-384 с.
8. Николаев А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. - М. : Мед. инфор. агентство, 1998. - 496 с.
9. Практикум з біологічної хімії : Посібник / [Бойків Д.П. та ін] ; за ред. О.Я. Скларова. – К. : Здоров`я, 2002. - 298 с.

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. Боєчко Л. Ф. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник / Л. Ф. Боєчко, Л. О. Боєчко. - К. : Вища шк., 1993. - 528 с.
3. Бышевский А. Ш. Биохимия для врача / А. Ш. Бышевский, О. А. Терсенов. – Екатеринбург : Урал. рабочий, 1994. - 384 с.
4. Комаров Ф.И. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин., В. В. Меншиков. – Элиста: АЛЛ "Джангар", 1998. – 250 с., ил.
5. Кушманова О. Д. Руководство к практическим занятиям по биологической химии / О. Д. Кушманова, Г. М. Ивченко. – М.: Медицина, 1983. – 424 с.
6. 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.
7. Мак-Мюррей В. Обмен веществ у человека / В. Мак-Мюррей. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
8. 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.
9. 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.
10. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов / Я. Мусил. - М. : Медицина, 1985. - 432с.
11. Николс Д.Дж. Биоэнергетика. Введение в хемио-осмотическую теорию / Д.Дж. Николс. – М. : Мир, 1985. - 190 с.
12. 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.
14. Розен В.Б. Основы эндокринологии / В. Б. Розен. - М. : Высш. шк., 1984. - 336 с.

15. 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.
17. 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.