

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

Д. Г. Іванченко, Н. П. Рудько

ОСОБЛИВОСТІ ЕНЕРГООБМІНУ В ЖИВИХ ОРГАНІЗМАХ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

для самостійної роботи студентів III курсу

спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»

Запоріжжя

2025

УДК 577.121.7(075.8)

I-23

Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМФУ

(протокол № 3 від «28» _02_ 2025 р)

та рекомендовано для використання в освітньому процесі

Автори:

Д. Г. Іванченко – д-р фарм. наук, професор;

Н. П. Рудько – канд. біол. наук, ст. викладач.

Рецензенти:

О. В. Ганчева - завідувачка кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології ЗДМФУ, д-р мед. наук, професорка;

А. Г. Каплаушенко - завідувач кафедри фізикоїдної хімії, д-р фарм. наук, професор

Іванченко Д. Г.

I-23 Особливості енергообміну в живих організмах :
навчальний посібник для самостійної роботи студентів III
курсу спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація» /
Д. Г. Іванченко, Н. П. Рудько. – Запоріжжя : [ЗДМФУ], 2025. –
95 с.

УДК 577.121.7(075.8)

© Іванченко Д. Г., Рудько Н. П., 2025

© Запорізький державний медико-
фармацевтичний університет, 2025

ЗМІСТ

ВВЕДЕННЯ В ОБМІН РЕЧОВИН І ЕНЕРГІЇ.....	6
ОСНОВНІ ШЛЯХИ РЕГУЛЯЦІЇ МЕТАБОЛІЗМУ.....	10
ВВЕДЕННЯ В БІОЕНЕРГЕТИКУ.....	12
МАКРОЕРГІЧНІ СПОЛУКИ.....	14
СТАДІЇ КАТАБОЛІЧНИХ ШЛЯХІВ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ.....	19
РЕАКЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО ОКИСНЕННЯ. ТКАНИННЕ ДИХАННЯ...	21
СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА.....	25
Будова мітохондрії.....	25
Компоненти дихального ланцюга.....	28
Убіхінон.....	32
Система цитохромів.....	33
Залізо-сіркові білки.....	35
Структура дихального ланцюга.....	36
Альтернативні шляхи тканинного дихання.....	40
Окисне фосфорилування.....	41
Механізм спряження дихання і фосфорилування в мітохондріях.	42
Будова АТФ-синтази мітохондрій.....	47
Регуляція тканинного дихання.....	51
Вільне, нефосфорилуюче окиснення.....	52
Інші види біологічного окиснення.....	54
Антиоксидантний захист.....	62
Речовини, які впливають на енергетичний обмін у клітинах.....	63
Біоенергетика і порушення обміну речовин. Гіпоенергетичні стани.....	68
Методи вивчення обміну речовин.....	71
ЗАПИТАННЯ ТА ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ.....	75
ТЕСТ ЗАКЛЮЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	76
ВІДПОВІДІ.....	94
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	95

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

а. о. м.	атомна одиниця маси
АДФ	аденозиндифосфат
АТФ	аденозинтрифосфат
ЕТЛ	електрон-транспортний ланцюг
ЕХП	електрохімічний потенціал
ММП	міжмембранний простір
МХ	мітохондрія
КоQ	коензим Q
НАД ⁺	нікотинамідаденіндинуклеотид
ПОЛ	пероксидне окиснення ліпідів
СДГ	сукцинатдегідрогеназа
ФАД	флавінаденіндинуклеотид
ФМН	флавінмононуклеотид
ФФн (або РР)	пірофосфат неорганічний ($H_4P_2O_7$)
Фн (або Р)	фосфат неорганічний (H_3PO_4)
ЦТК	цикл трикарбонових кислот
ЦХО	цитохромоксидаза
FeS білки	залізо-сіркові білки

Передмова

Навчальний посібник є додатковим посібником для вивчення біологічної хімії студентами спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація». Він поєднує як традиційно послідовне викладення так і найсучасніші наукові данні з проблематики енергообміну в живих організмах.

Створення умов для активного, проблемно-орієнтованого навчання з метою посилення конкурентоспроможності на вітчизняному та міжнародному ринках праці спеціалістів галузі «Фармація» реалізується шляхом забезпечення якісної професійної підготовки майбутніх фахівців. Питання енергогенерації та енергозабезпечення потреб людського організму є ключовим у розумінні фізіологічних та патологічних процесів в окремих органах та тканинах людини та впливу на них фармацевтичних препаратів. Навчальний матеріал, що охоплює широке коло найактуальніших питань щодо молекулярних механізмів функціонування таких важливих систем організму людини як цикл трикарбонових кислот, дихальний ланцюг тощо за умов норми та при порушеннях, викладено в даному посібнику.

Він складається з введення, основних розділів інформаційного матеріалу і тестових завдань перевірки вивченого матеріалу, відповідей до тестових завдань і списку рекомендованої літератури. Зміст навчального посібника включає інформаційний матеріал, опрацювання якого дає можливість цілісно у повному обсязі розглянути основні метаболічні системи енергетичного обміну клітин живого організму, структурні та функціональні особливості цих складових.

Для полегшення сприйняття і розуміння наведеної інформації усі розділи ілюстровані яскравими рисунками, докладними схемами, таблицями,

Зміст практикуму відповідає робочій програмі навчальної дисципліни «Біологічна хімія» для підготовки магістрів спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація», та охоплює теми розділу 1 та 2.

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 метаболізму і, зазвичай до патології. У широкому значенні термін "метаболізм" є тотожним "обміну речовин", у більш точному і вузькому значенні "метаболізм" позначає проміжний обмін, тобто перетворення речовин усередині клітин з моменту їх надходження до утворення кінцевих продуктів. Усі 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 регенерується, в той самий час як інша речовина перетворюється на 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 катаболізмом;

2) *анаболічні* - синтез специфічних для даного 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 гідролізу 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.

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 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, які каталізуються спеціальними ферментами. Саме завдяки неідентичності стадій за рахунок спрямованої зміни активності ферментів регулюються швидкості розпаду і синтезу глюкози. Крім того, шляхи катаболізму та анаболізму часто 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 проходить 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 метаболічним статусом (*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 та інших полімерних або складних сполук в травному тракті до мономерів (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, гліцерину тощо) 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 або 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 складній регуляції. Потреба в енергії, насамперед, визначає швидкість катаболічних шляхів, а синтез речовин (нуклеїнових кислот та їх структурних компонентів, білків, ліпідів, вуглеводів)у певній кількості відбувається тільки тоді, коли вони необхідні.

Існують системи, що узгоджують і координують роботу різних органів і тканин. Таку інтегруючу роль відіграють нервова, гормональна, 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 і нейромедіаторів. В ендокринній системі носіями інформації виступають 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 метаболічного шляху. 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: швидкості потоків метаболітів та газів в клітину і з клітини, електрохімічного потенціалу мембран, 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 у вигляді глікогену в печінці та скелетних м'язах або нетральних жирів в адипоцитах.

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, ліпідів 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 однооментно, 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 перебуває у стані 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 спряження з окисними реакціями, в результаті яких відбувається вивільнення енергії. Для спряження ендергонічних реакцій з екзергонічними реакціями потрібні акумулятори енергії в організмі, в яких запасається приблизно 50 % енергій (рис. 1).

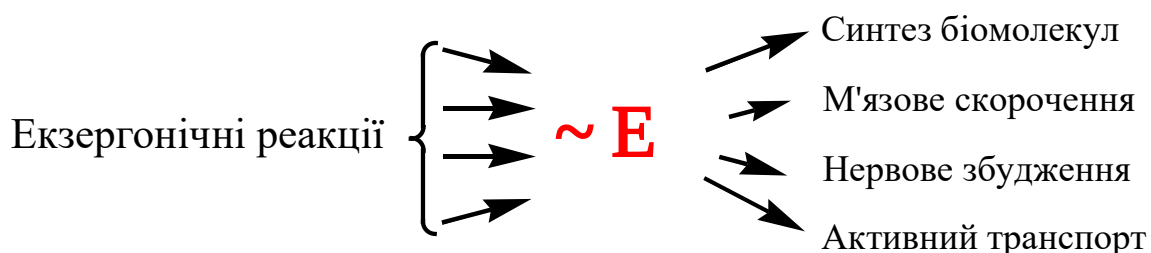


Рис. 1. Спряження екзергонічних та ендергонічних процесів

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 (тобто «багаті енергією») зв'язки. 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).

Таблиця 2

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

Сполуки	ΔG° , кДж/моль
Фосфоенолпіруват	-61,9
1,3-дифосфогліцерат	-49,4
Сукциніл-КоА	-43,5
Креатинфосфат	-43,1
Пірофосфат (ФФн)	-33,5
АТФ $\rightarrow$ АМФ + ФФн*	-32,2
АТФ $\rightarrow$ 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 ($\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$);

** - **Фн** або **Р** – фосфат неорганічний (H_3PO_4).

Зв'язок вважається високоенергетичним, якщо при гідролізі сполуки, яка його містить, зміна вільної енергії, що вивільняється, буде більше 21

кДж/моль. Макроергічні зв'язки, які позначаються символом $\sim$ (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.

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).

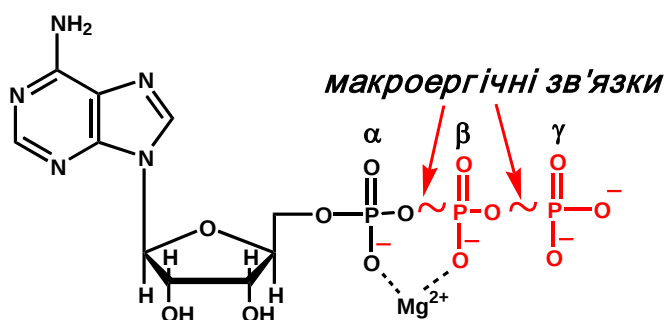


Рис. 2. АТФ – аденозинтрифосфатна кислота (у вигляді аніону АТФ⁴⁻)

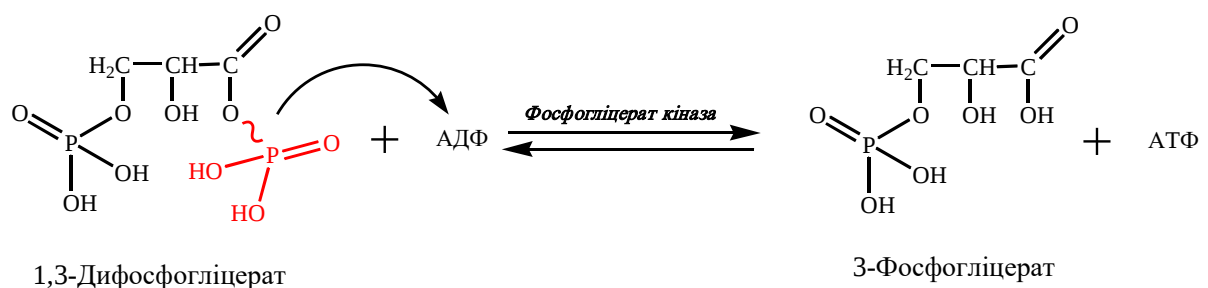
АТФ є похідною аденілової кислоти (аденозинмонофосфат або АМФ), до якої приєднані ще дві молекули ортофосфатної кислоти. АТФ містить два макроергічних зв'язки та є термодинамічно нестійкою молекулою, в результаті її гідролізу утворюються АДФ або АМФ. При гідролізі АТФ до АДФ в стандартних умовах виділяється -30,5 кДж/моль енергії. Однак, оскільки у клітинах АТФ знаходиться переважно в комплексі з іонами Mg^{2+} ,

пов'язаними з α - та β -фосфатом, це збільшує зміну вільної енергії при гідролізі АТФ 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 Mg^{2+} , 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, ліпідів, 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).

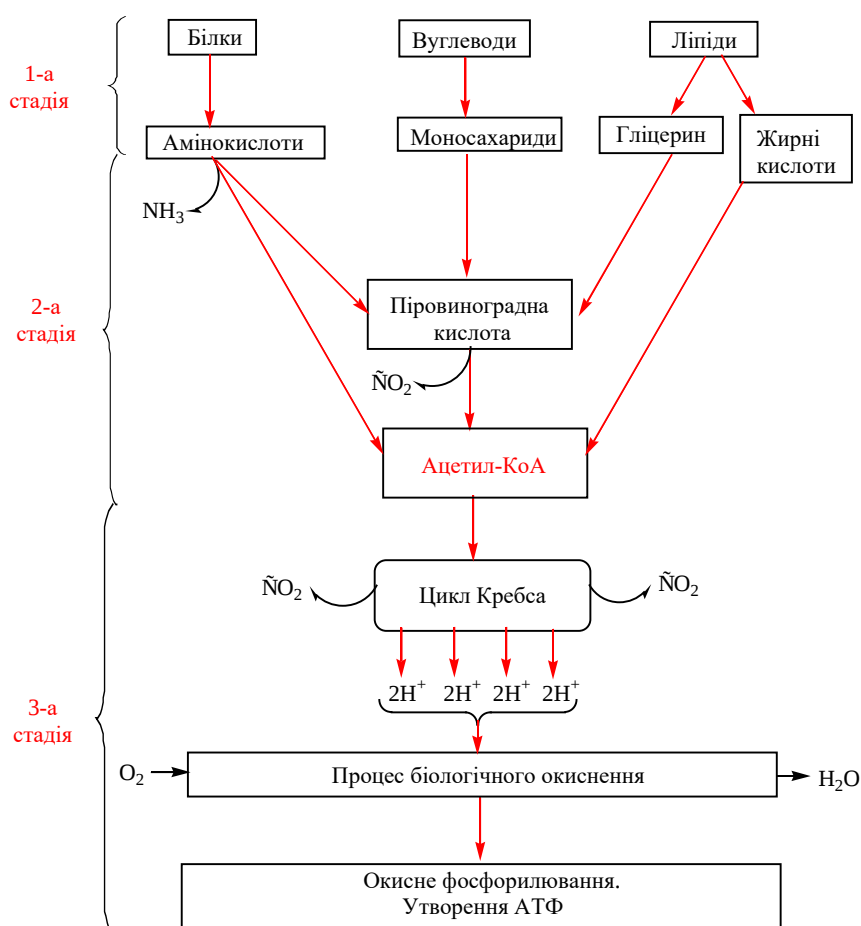


Рис. 3. Стадії катаболізму біомолекул

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, триацилгліцероли – 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):

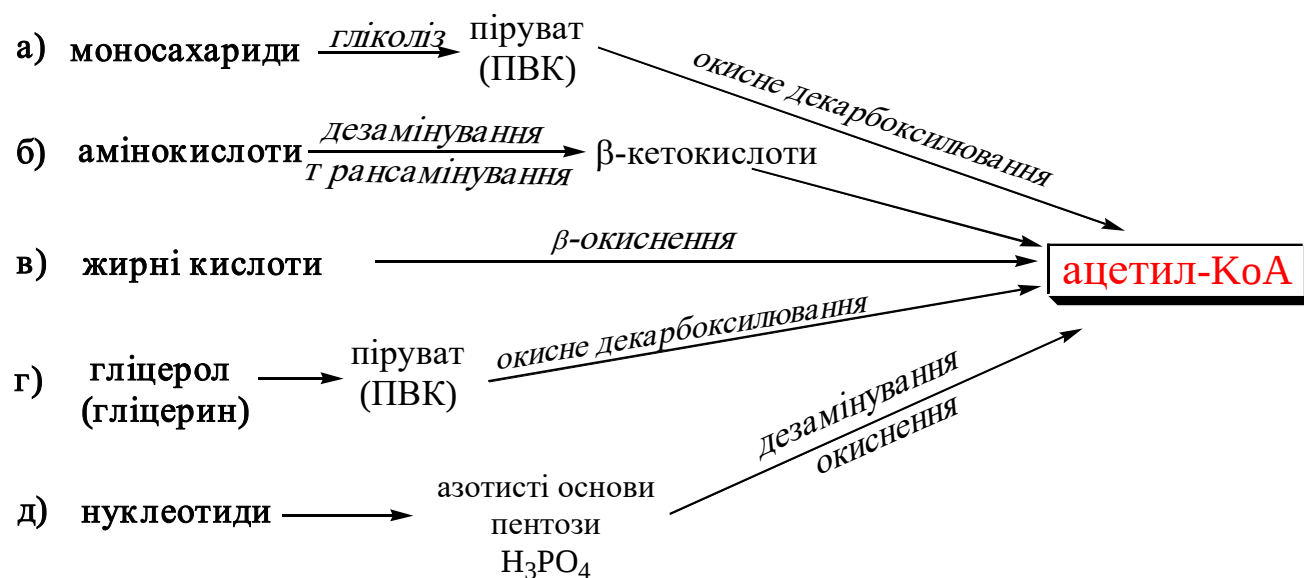


Рис. 4. Друга стадія катаболізму біомолекул

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 вивільняється 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 або цикл лимонної кислоти), внаслідок функціонування якого утворюється CO_2 , і відновлені коферменти (атоми гідрогену переносяться на коферменти НАД⁺ і ФАД);
- дихального ланцюга перенесення електронів від відновлених 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*.

РЕАКЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО ОКИСНЕННЯ. ТКАНИННЕ ДИХАННЯ

Сукупність усіх окисно-відновних реакцій в організмі називають біологічним окисненням. Для живих організмів біологічне окиснення має величезне значення, оскільки саме в цьому процесі клітини отримують необхідну енергію для життєдіяльності. Ще в середині XVIII ст. А. Лавуазьє висловив припущення, що між процесами горіння органічних сполук в природі і процесами їх окиснення в організмі багато подібного (утворюються CO_2 і H_2O , виділяється тепло). Разом з тим, було звернуто увагу на те, що між цими процесами існують істотні розбіжності:

– по-перше, процеси горіння органічних сполук перебігають при температурі $\geq 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ із полум'ям, а окиснення їх у клітині відбувається при температурі $35\text{--}39^{\circ}\text{C}$. Таким чином, біологічне окиснення — це низькотемпературне горіння без полум'я;

– по-друге, процеси горіння перебігають у повітряному середовищі за наявності кисню, а окиснення — за наявності води в тканинах. Крім того, на відміну від горіння, біологічне окиснення може відбуватися як за участю, так і без участі кисню;

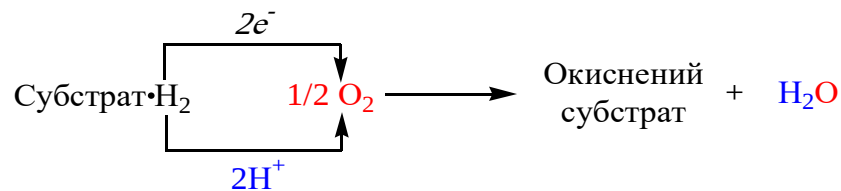
– по-третє, горіння органічних сполук супроводжується виділенням великої кількості енергії у вигляді тепла та світла. При окисненні біомолекул енергія перетворюється не тільки на тепло, але й на інші види біологічної енергії — м'язове скорочення, нервову провідність, акумулюється в АТФ тощо.

Для пояснення перебігу біологічного окиснення спочатку була запропонована теорія активації кисню в організмі (пероксидна теорія Шенбайна-Баха), а потім – теорія окиснення субстратів шляхом відщеплення гідрогену у процесі дегідрування (теорія Паладіна-Віланда). Значний внесок у вивчення особливостей біологічного окиснення зробили Д. Кейлін, Г. Кребс, П. Мітчел, Д. Грін, А. Ленінджер, Б. Чанс, Е. Рекер, В. О. Енгельгардт, В. О. Беліцер, С. Є. Северін, В. П. Скулачов.

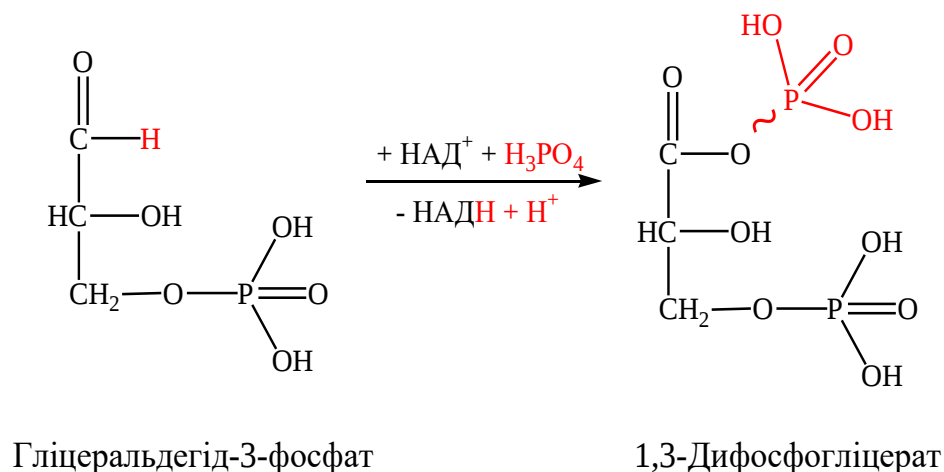
За сучасними уявленнями біологічне окиснення органічних сполук каталізується ферментами класу оксидоредуктаз та може відбуватися кількома шляхами:

- а) відщепленням від субстратів атомів гідрогену (дегідрування);
- б) відщепленням від субстратів електронів;
- в) приєднанням до субстрату кисню.

Більшість реакцій біологічного окиснення перебігає шляхом дегідрування субстрату, тобто відщепленням атомів гідрогену. Якщо акцептором атомів гідрогену є кисень, то процес називається *аеробним окисненням (або тканинним диханням)*:



Наприклад, при окисненні ацетил-КоА у ЦТК атоми гідрогену відщеплюються від субстратів ЦТК і переносяться по ланцюгу дихальних ферментів на кисень з утворенням H_2O . Якщо ж акцептором гідрогену є якась інша речовина, то процес називається *анаеробним окисненням*. Прикладом анаеробного окиснення може бути реакція перетворення гліцеральдегід-3-фосфату в 1,3-дифосфогліцерат під дією гліцеральдегідфосфатдегідрогенази в гліколізі:



Таким чином, з хімічної точки зору відмінність між анаеробним та аеробним окисненням (тканинним диханням) зводиться до різниці у кінцевих акцепторах водню, який дегідрується від різних речовин під час окиснення.

Тканинне (клітинне) дихання представляє собою молекулярні процеси, в результаті яких відбувається використання ферментативними системами клітини кисню і утворення вуглекислого газу та води. Клітинне дихання включає три стадії (рис. 5):

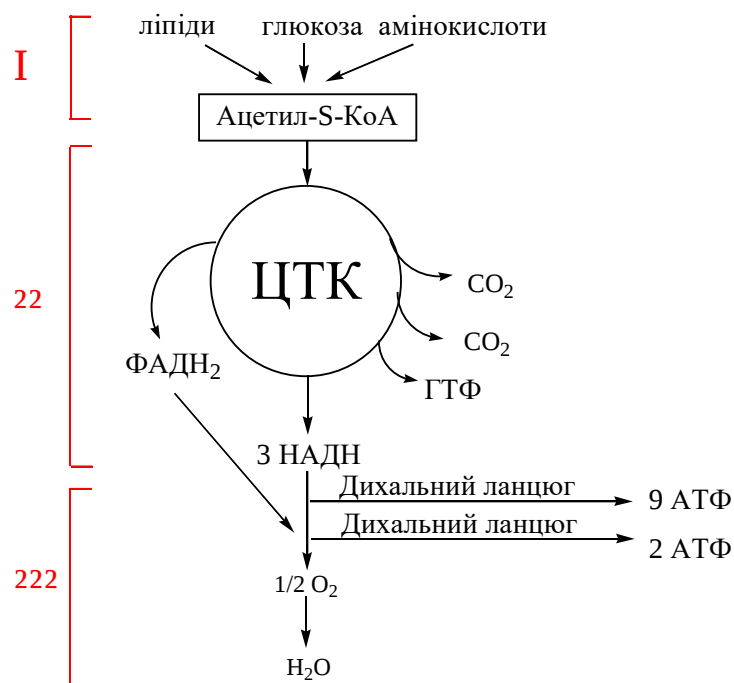


Рис. 5. Стадії клітинного дихання

На першій стадії органічні молекули - глюкоза, жирні кислоти і деякі амінокислоти - окислюються з утворенням ацетил-КоА. На другій стадії - ацетил-КоА вступає в ЦТК, де його ацетильна група ферментативно окислюється до CO_2 з відщепленням HS-КоА. Атоми гідрогену (електрони та протони), а відповідно енергія, що вивільняється, накопичується у відновлених коферментах НАДН і FADH_2 . На третій стадії (термінальне окиснення) електрони переносяться компонентами дихального ланцюга (інша назва електрон-транспортний ланцюг, ЕТЛ) до O_2 — кінцевого акцептора. Вільна енергія, що звільняється в дихальному ланцюгу під час перенесення електронів, використовується для синтезу АТФ із АДФ шляхом окисного фосфорилування.

I і II стадії тканинного дихання можуть перебігати в цитоплазмі, ендоплазматичній сітці і в мітохондріях. III-я стадія тканинного дихання локалізована на внутрішній мембрані мітохондрій. Окиснення, що відбувається на внутрішній мембрані мітохондрій, називається мітохондріальним окисненням.

Нормальна течія тканинного дихання забезпечується насамперед завдяки діяльності системи зовнішнього дихання і кисеньтранспортної функції гемоглобіну крові. Молекулярний кисень надходить до клітини шляхом простої дифузії.

Окиснення шляхом включення одного або двох атомів кисеню у молекулу субстрату з метою його модифікації відбувається у мембранах ендоплазматичного ретикулума гепатоцитів печінки та клітинах інших спеціалізованих тканин і називається *мікросомальним окисненням*. Та при таких реакціях синтез АТФ не відбувається, а енергія окиснення використовується або для знешкодження токсичних речовин або для біосинтезу нових сполук.

СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА

Будова мітохондрій

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

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

У спеціалізованих клітинах органів тварин містяться сотні і навіть тисячі мітохондрій, особливо багато їх у клітинах мозку, серця, скелетних м'язів. Хімічний склад мітохондрій дещо коливається. В основному це білково-ліпідні органели. Вміст білка в них становить 60-65%, причому структурні та ферментативні білки містяться приблизно в рівній пропорції, а також близько 30% ліпідів. Мітохондрії оточені подвійною мембраною.

Товщина мембран складає 6-10 нм. Мембрани істотно різняться одна від одної за складом, властивостями та функціями.

Зовнішня мембрана МХ гладенька, складається приблизно на 50 % із білків і на 50 % — із ліпідів. Має багато пор завдяки наявності каналоутворюючого білку порину. Він формує у зовнішній мембрані отвори діаметром 2-3 нм, крізь які можуть проникати невеликі молекули та іони, що мають а. о. м. 5-10 кДа. Мембрана містить ферменти метаболізму ліпідів, такі як монооксидази, ацил-КоА-синтази, фосфоліпази A_2 тощо. Виконує захисну функцію щодо внутрішньої мембрани.

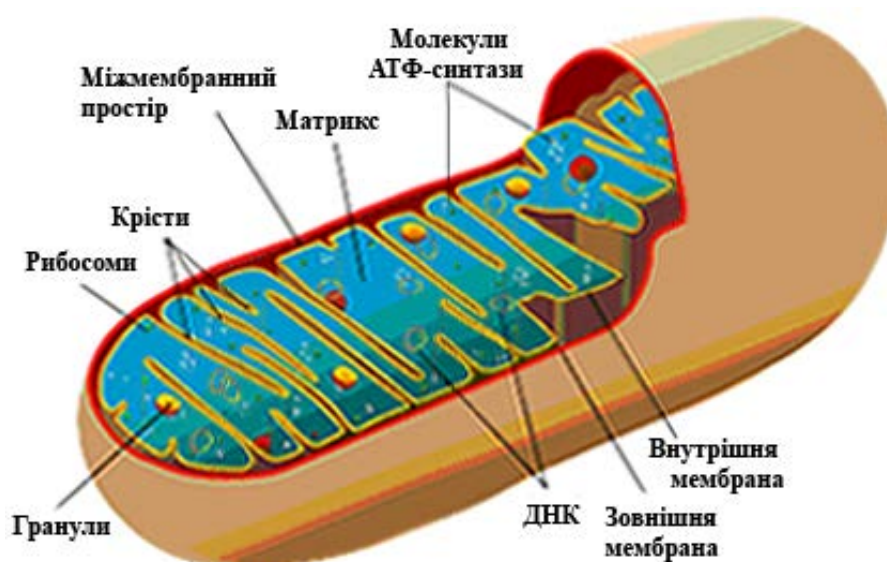


Рис. 6. Будова мітохондрії (Mariana Ruiz Villarreal, 2006)

Внутрішня мембрана мітохондрій утворює численні складки – крісти (лат. *crista* – гребінь), розташовані перпендикулярно до поздовжньої осі органели і перегороджують весь внутрішній простір мітохондрій на окремі відсіки. Однак, оскільки вирости-перегородки неповні, між цими відсіками зберігається зв'язок. Ця мембрана непроникна для більшості речовин (зокрема $НАД^+$, $НАДФ^+$, $НАДН$), іонів (H^+ , $ОН^-$, K^+ , Cl^-) та полярних молекул. Ця найважливіша властивість є основою утворення електрохімічного градієнта. Внутрішня мембрана мітохондрій проникна для CO_2 і NH_3 . Містить специфічні трансмембранні переносники, наприклад, для АТФ, цитрату, пірувату, малату тощо (рис. 7).

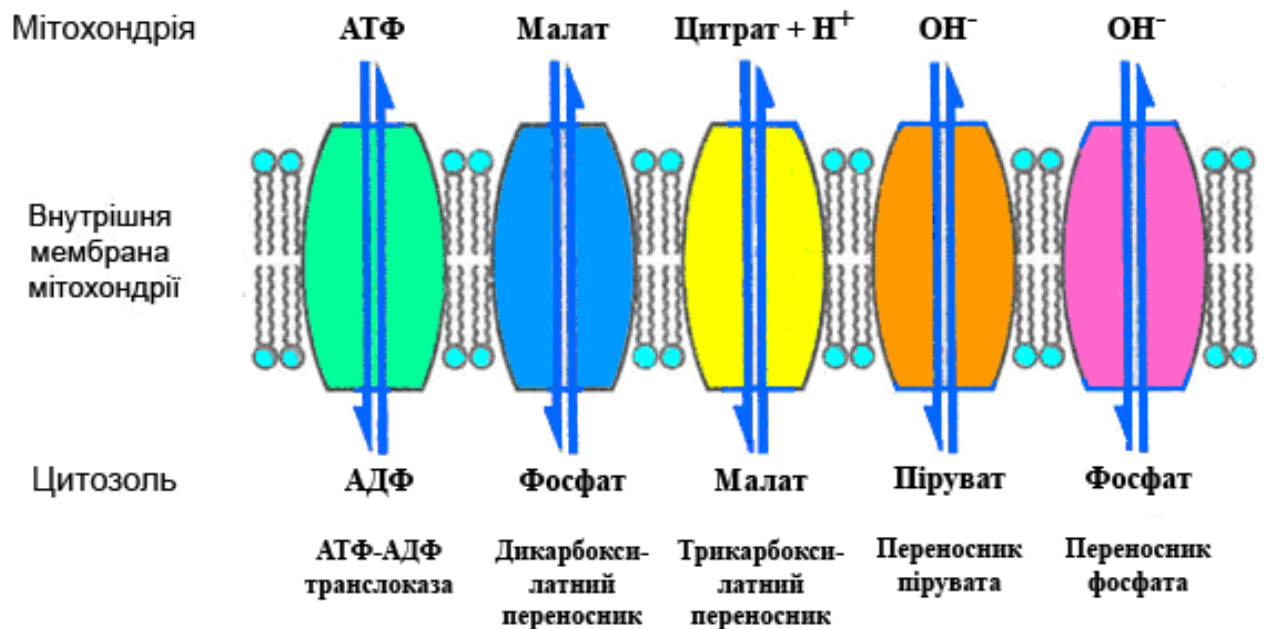


Рис. 7. Транспортери сполук через внутрішню мембрану мітохондрій (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L., 2002 зі змін.)

Мембрана складається приблизно на 75 % із білків і на 25 % — із ліпідів. Фосфоліпіди представлені фосфатидилхоліном, фосфатидилетаноламіном, а також специфічними фосфоліпідами. Характерною рисою складу внутрішньої мембрани є наявність особливого фосфоліпіду – *кардіоліпіну* (20% усіх ліпідів), 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). У внутрішній мембрані локалізовано дихальний ланцюг. На внутрішній поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій рівномірно розташовані грибоподібні білки. Кожна мітохондрія містить 104-105 таких грибоподібних білків, які являють собою фермент АТФ-синтазу, що каталізує утворення АТФ. На внутрішній мембрані відбувається спряження біологічного окиснення із синтезом АТФ.

Між мембранами знаходиться заповнений рідиною перимітохондріальний простір, що дорівнює 10 нм. *Міжмембранний простір*

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

Внутрішній простір мітохондрій заповнений напіврідкою гелеподібною масою – *матриksom*, 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. У матриксі мітохондрії знаходяться нуклеїнові кислоти: РНК - 1% і ДНК - 0,5% (є одна молекула ДНК, яка містить інформацію про склад певних мітохондріальних білків та РНК), вся система синтезу білка: транскрипційна та трансляційна системи, зокрема рибосоми.

Мембрани мітохондрій мають велику міцність і гнучкість, вони здатні до руху. Це має велике значення у житті клітини, оскільки мітохондрії пересуваються до тих місць, де йде посилене споживання енергії. Вони можуть асоціювати один з одним як шляхом тісного зближення, так і за допомогою сполучних тяжів. Спостерігаються також контакти мітохондрій з ендоплазматичною мережею, ядром. Відомо, що мітохондрії здатні до набухання, а при втраті води - зменшення об'єму. У клітинах, що ростуть, у мітохондріальному матриксі кількість кристів зростає — це корелює зі збільшенням інтенсивності дихання.

Компоненти дихального ланцюга

Процес біологічного окиснення починається у матриксі мітохондрій з дегідрування субстратів, яке відбувається в результаті дії піридинзалежних і флавінзалежних дегідрогеназ – ферментів, які переносять 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 таких 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.

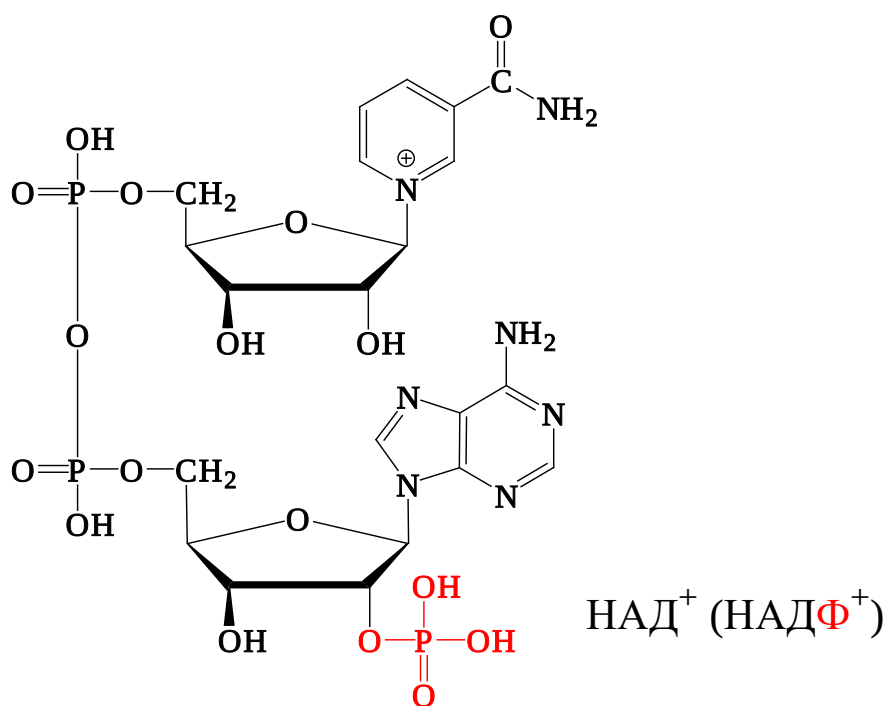


Рис. 8. Структура НАД^+ (НАДФ^+)

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 атому гідрогену та електрону пов'язана саме з наявністю в їх структурі аміду нікотинової кислоти (рис. 9):

Встановлено, що атом водню (один протон і один електрон) займають пара-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.

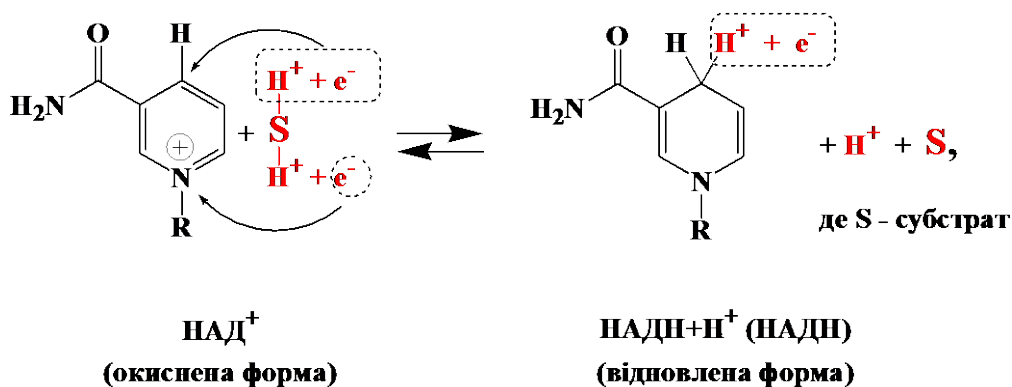
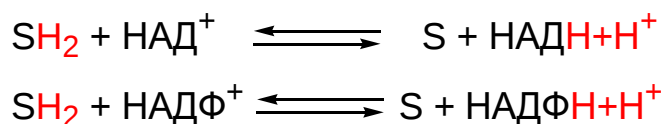


Рис. 9. Утворення відновленої форми НАДН

Відновлені форми НАД та НАДФ позначають як НАДН та НАДФН або НАД(Ф)Н+H⁺. Рівняння реакції, що каталізується піридинзалежними дегідрогеназами, можна відобразити наступним чином:



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

Коферменти НАД⁺ або НАДФ⁺ є водорозчинними, слабо зв'язаними з апоферментом і тому сполучені з ним тільки під час реакції. Відновлені коферменти легко дисоціюють від дегідрогеназ і далі знову окиснюються шляхом перенесення H⁺ та 2e⁻ 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, здебільшого, в анаболічних реакціях (біосинтези, знешкодження).

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

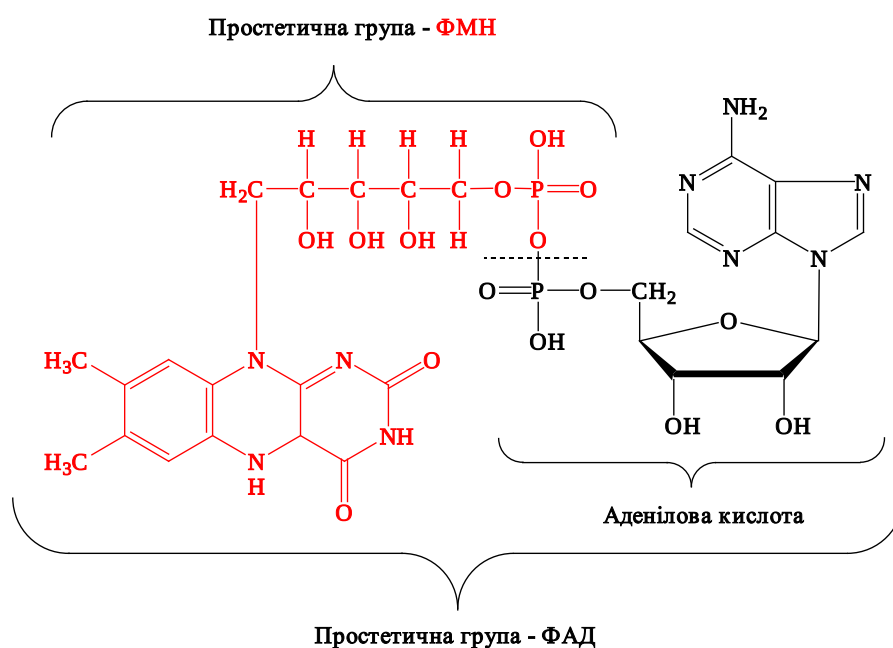


Рис. 10. Структура ФМН, ФАД

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 (які утворились внаслідок дії нікотинамідних дегідрогеназ) на сполуку наступного етапу дихального ланцюга (убіхінон). Таким ферментом є НАДН-дегідрогеназа комплексу I, що локалізується у внутрішній мембрані мітохондрій і має ФМН в якості простетичної групи.

Електрони і протони, що відщеплюються від відновлених форм НАДН приєднуються до атомів нітрогену (N^1 , N^{10}) ізоалоксазинового кільця рибофлавіну. При цьому відбувається переміщення подвійних спряжених зв'язків в конденсованих кільцях молекули та утворюється відновлена форма ФМНН₂ (рис. 11).

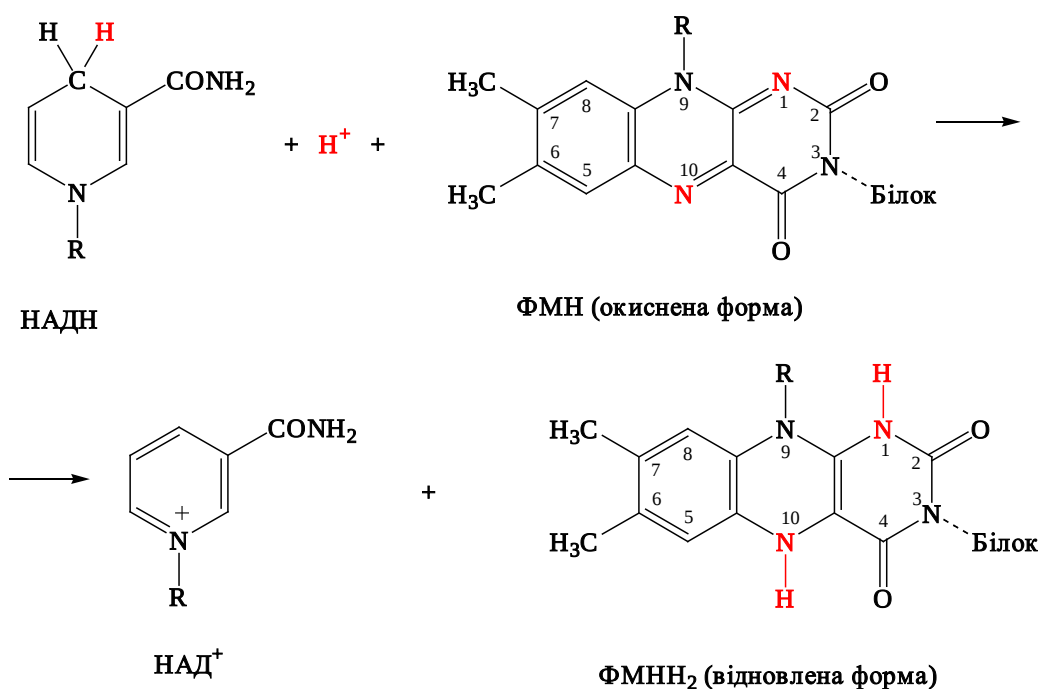


Рис. 11. Утворення відновленої форми ФМН

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).

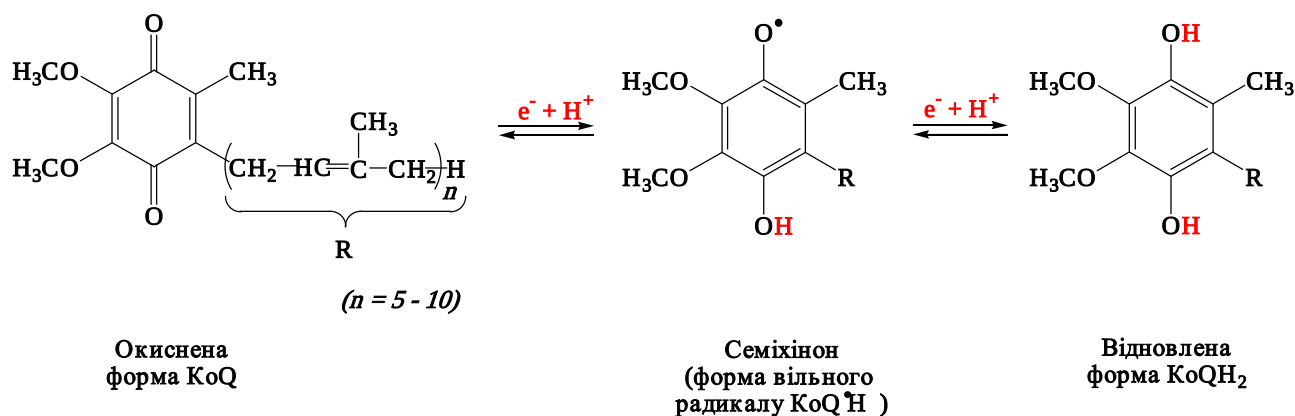


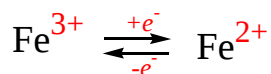
Рис. 12. Убіхінон. Перенос протонів і електронів

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 гемопротейнами.

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

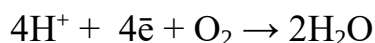


Катіон Fe^{3+} містить окиснена форма цитохромів, а Fe^{2+} — відновлена.

Оскільки одночасно до іону Fe^{3+} може приєднатися тільки один електрон, а від субстрату зазвичай відокремлюється $2\bar{e}$, то у передачі їх по дихальному ланцюгу беруть участь 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 E^0 (рис. 16). В дихальному ланцюгу цитохроми розміщуються між КоQ і киснем. Цитохроми *b, c₁*, та *aa₃* є складовими малорухомих інтегральних комплексів внутрішньої мембрани мітохондрій. Цитохром c (подібно убіхінону) – рухомий переносник електронів, знаходиться на зовнішній поверхні внутрішньої мембрани та виконує роль «човника» з електронами між цитохромами *b, c₁* та *aa₃*.

Комплекс цитохромів *a* й *a₃* позначається як *aa₃* і діє як *цитохромоксидаза* (ЦХО). ЦХО безпосередньо переносить електрони на кисень, тому є термінальним комплексом дихального ланцюга. Цитохромоксидаза - білок четвиртинної структури, що складається з шести субодиниць: двох *a* і чотирьох *a₃*. Субодиниці, крім гема з $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, мають 2 катіони $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$, 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 ($\text{O}_2^0 + 4\bar{e} = 2\text{O}^{2-}$) і приєднання чотирьох протонів з мітохондріального матрикса, утворюються дві молекули ендогенної води:



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

Залізо-сіркові білки

Крім розглянутих компонентів, дихальний ланцюг включає білки, що містять негемове залізо — FeS білки. Відмінна особливість FeS-білків - будова їх активного центру, що містить негемове залізо, пов'язане нековалентними зв'язками з кислотолабільною сіркою та сіркою, що входить до складу цистеїнових залишків пептидного ланцюга. Різні типи залізо-сіркоцентрів (FeS-центри) широко поширені у клітинах (рис 13).

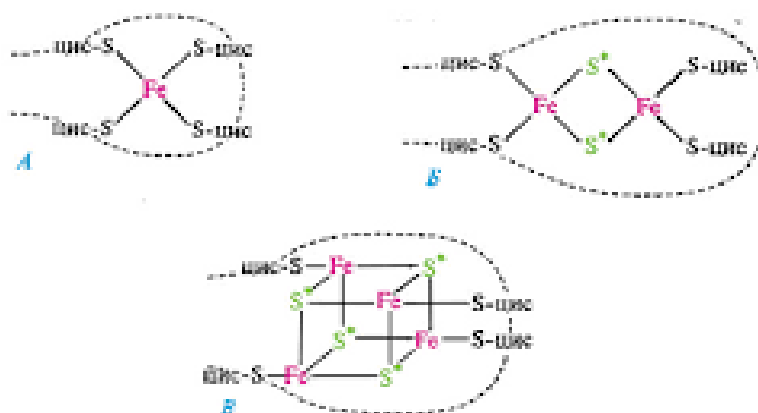


Рис. 13. Залізо-сіркоцентри FeS білків: А. Ферум нековалентно пов'язаний в молекулі білка з чотирма залишками цистеїну; Б. До складу яких входять атоми феруму та неорганічна кислотолабільна сірка; В. Fe_4S_4 -центри

Найпростіший містить один атом заліза, нековалентно пов'язаного в молекулі білка з чотирма залишками цистеїну. Він бере участь у реакціях одноелектронного перенесення, основу якого лежить перехід заліза: Fe^{2+} перетворюється оборотно в Fe^{3+} .

Інші FeS-білки мають складніше організовані FeS-центри, до складу яких входить також неорганічна кислотолабільна сірка. Відомі Fe_2S_2 -центри (містять по два атоми заліза та неорганічної сірки), Fe_3S_3 - і Fe_4S_4 -центри. FeS-білки можуть містити один або більше таких центрів. Залежно від

особливостей будови FeS-центрів залізо-сіркові білки можуть здійснювати одночасне перенесення одного або двох електронів.

У структурі більшості FeS-вмісних ферментативних комплексів крім FeS-центрів є й інші кофактори: метали (молібден, селен), флавіни, геми, птеридини.

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 майже нерухомо вбудовані у внутрішню мембрану мітохондрій:

I комплекс - НАДН-дегідрогеназа (флавопротеїн I або НАДН: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. 14).

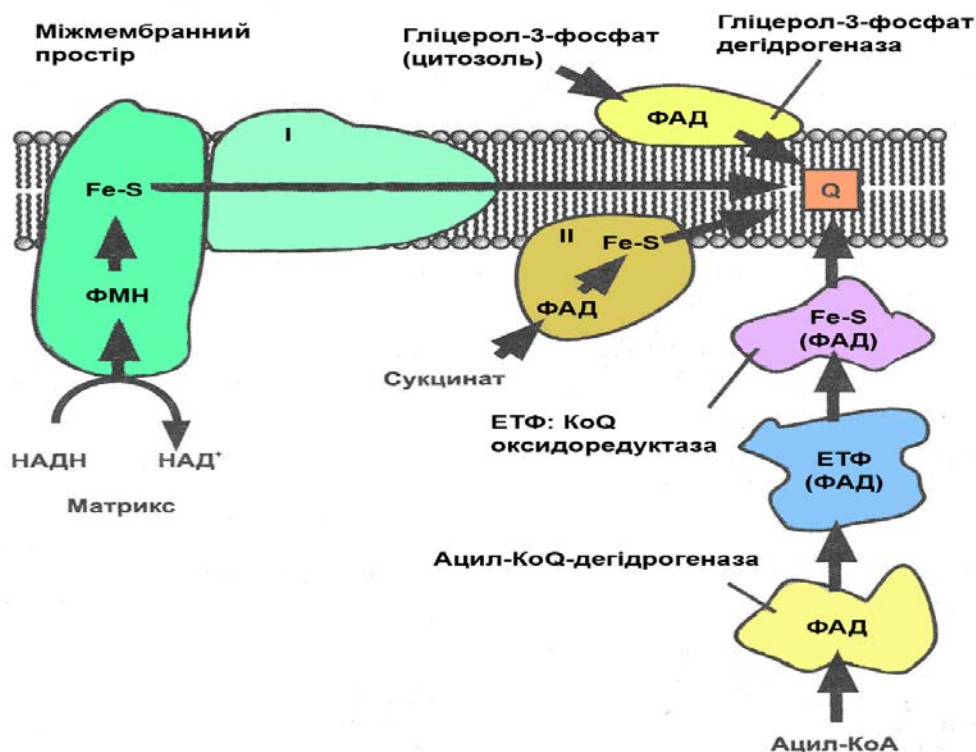
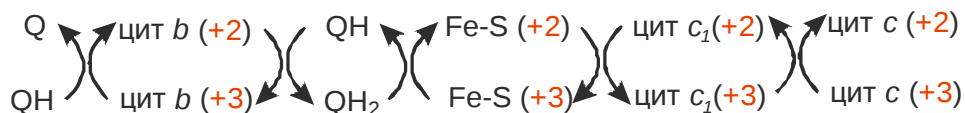


Рис. 14. Рух електронів від НАДН (I комплекс), сукцинату (II комплекс), ацил-КоА та гліцерол-3-фосфату до убіхінону; ЕТФ – електротранспортний флавопротеїн (Nelson D.L., Cox M.M., 2004 зі змін.)

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*;
- одночасно транспортує 4 протони з матриксу у міжмембранний простір.



IV комплекс - цитохром *a* і *a₃* (цитохром *c*:O₂-оксидоредуктаза або цитохромоксидаза):

- містить молекули цитохромів *a* і *a₃* та 2 катіони Cu⁺;
- каталізує перенесення електронів від відновленого цитохрому *c* на кисень з утворенням молекули води.

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

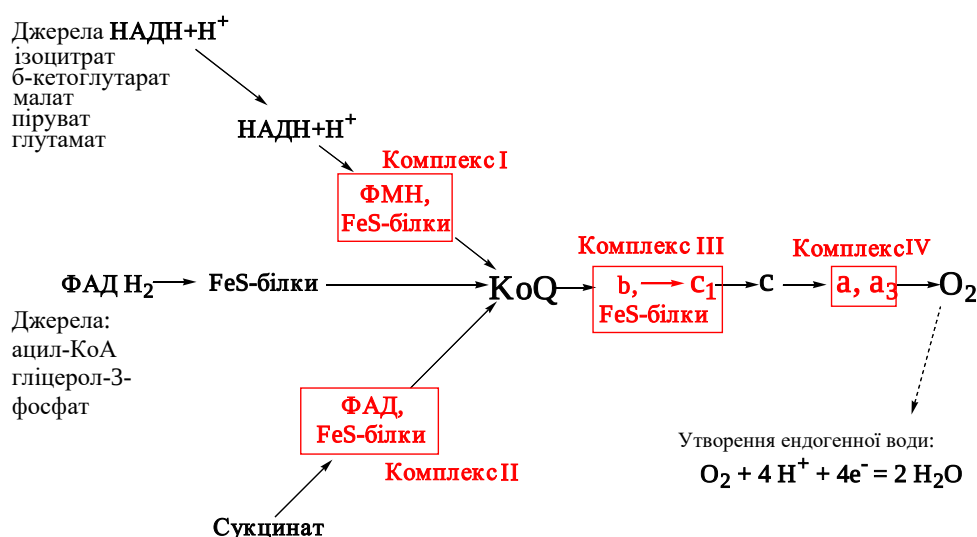


Рис. 15. Організація дихального ланцюга мітохондрій

Чотири комплекси дихального ланцюга поведуться 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 *c* (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 Ох-Red-потенціалу (E^0 , В) кожного компонента ланцюга дихальних ферментів.

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

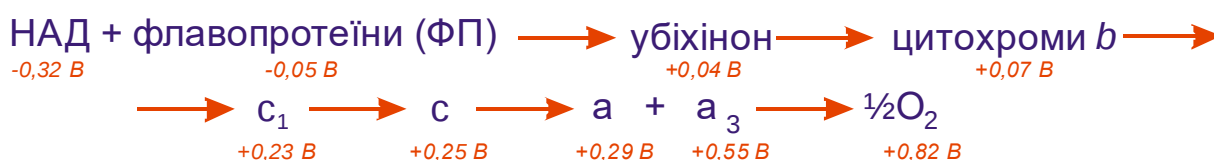


Рис. 16. Зміна значень Ох-Red-потенціалів компонентів дихального ланцюга мітохондрій

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 Ох-Red-потенціалів двох окисно-відновних пар, тим більше виділяється вільної енергії. Якщо різниця потенціалів перевищує $0,22\text{ В}$, 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 мітохондрії.

Альтернативні шляхи тканинного дихання

Поряд із вищенаведеним, який є найбільш поширеним окисненням 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 послабляти 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 роках ХХ ст. 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 за рахунок енергії, що вивільняється під час переносу електронів і протонів на ділянці НАДН-дегідрогеназа $\rightarrow$ КоQ, друга – при переносі електронів від цитохрому b на цитохром c_1 і третя – на ділянці переносу електронів цитохромоксидазою на молекулярний кисень. Ці ділянки називають пунктами (точками) фосфорилування (або пунктами спряження окиснення і фосфорилування) (Рис. 17).

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.

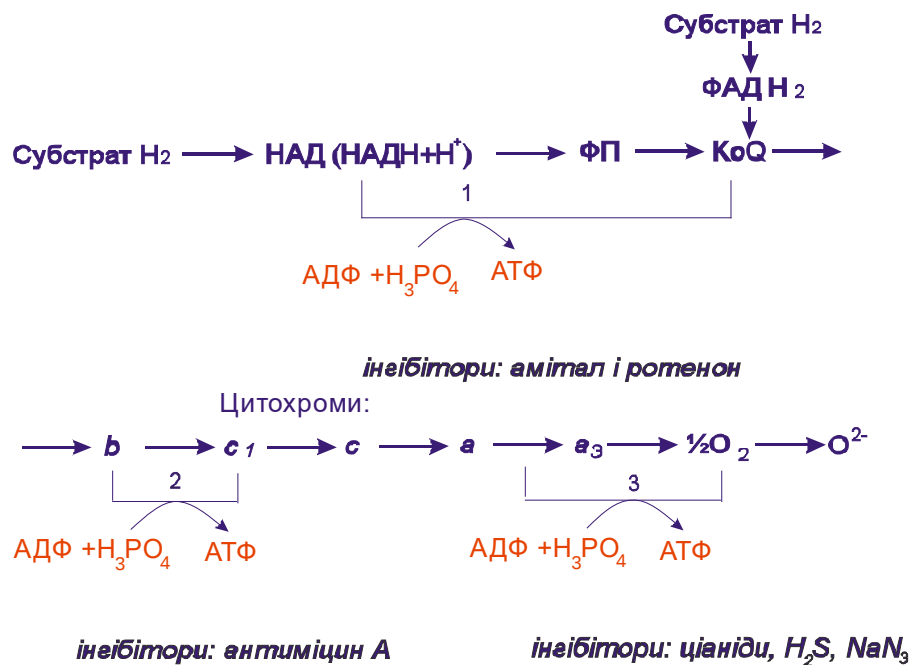


Рис. 17. Локалізація трьох пунктів спряження дихання й фосфорилювання в дихальному ланцюзі

Для кількісного вираження окисного фосфорилювання введений коефіцієнт окисного фосфорилювання P/O , який являє собою відношення кількості молекул H_3PO_4 (неорганічного фосфату - P), що перейшли до складу молекули АТФ (в процесі тканинного дихання) у розрахунку на один атом поглинутого кисню (O). Спочатку було встановлено значення P/O при перенесенні однієї пари електронів від НАДН до кисню - 3 ($P/O = 3$), а від ФАДН₂ - 2 ($P/O = 2$). Проте подальші дослідження дають вагомий докази того, що $P/O = 2,5$ для НАДН і $P/O = 1,5$ для ФАДН₂.

Відношення P/O знижується при дії інгібіторів тканинного дихання.

Механізм спряження дихання і фосфорилювання в мітохондріях

У 1939 р. українські вчені В. О. Беліцер і Є. Т. Цибакова запропонували співвідношення P/O як показник спряження дихання та фосфорилювання. 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. Ліпман, А. Ленінджер, 30-40 рр. XX 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 H_3PO_4 . 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 механо-хімічного або конформаційного спряження* (Н. Грін, П. Бойер, 50-60 рр. XX 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 $\rightarrow$ зовнішня сторона внутрішньої мембрани». Передбачається, що асиметрично розміщені у внутрішній мембрані мітохондрій компоненти дихального ланцюга укладені у вигляді трьох окисно-відновних петель, які утворені комплексами I, III, IV відповідно, що забезпечує певну спрямованість процесів у просторі (рис. 18).

На внутрішній поверхні мембрани мітохондрій атоми гідрогену відщеплюються від НАДН 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 іону 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 $CoQH_2$. Далі $CoQH_2$ дифундує крізь мембрану до зовнішньої поверхні, де розташований цитохром b комплексу III. $CoQH_2$ окиснюється біля зовнішньої сторони мембрани, віддаючи електрони цитохрому b, а протони вивільняються назовні у ММП. Остання ланка – цитохромоксидаза – локалізується близько до внутрішньої поверхні мембрани, її активний центр спрямований у матрикс, куди й надходить молекулярний кисень.

При окисненні НАДН пара електронів субстрату рухається вздовж внутрішньої мембрани мітохондрій, при цьому переносяться протони з матриксу на зовнішню поверхню внутрішньої мембрани мітохондрій. Отже,

перенос $2e^-$ від НАДН на кисень супроводжується транслокацією у міжмембранний простір $10 H^+$ (для НАДН) та $6 H^+$ (для ФАДН₂).

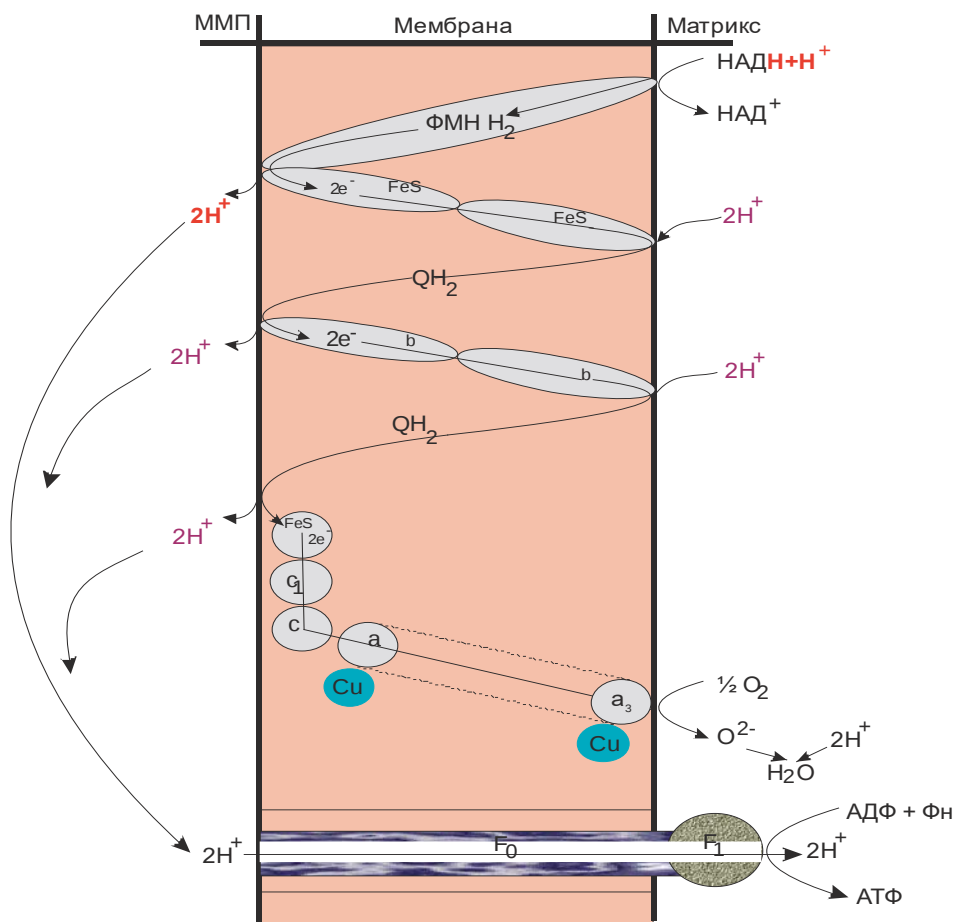


Рис. 18. Схема внутрішньомембранної організації окисно-відновних петель в дихальному ланцюгу, а також механізму спряження транспорту електронів з синтезом АТФ

Перенесення протонів з матриксу приводить до збільшення концентрації H^+ на зовнішній поверхні внутрішньої мітохондріальної мембрани, і, навпаки, до зниження їх вмісту в матриксі. Внаслідок цього на внутрішній мітохондріальній мембрані виникає осмотичний протонний градієнт (ΔpH), з меншим значенням pH ззовні. Одночасно поверхні мембрани набувають протилежних зарядів: зовнішня – позитивного, за рахунок збільшення H^+ , а внутрішня – негативного, за рахунок зменшення концентрації H^+ і надлишку OH^- , тобто утворюється градієнт електричного потенціалу ($\Delta\Phi$ – дельта пси). На внутрішній мітохондріальній мембрані

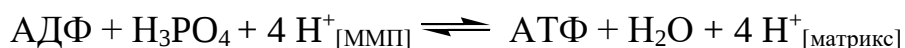
формується електрохімічний протонний потенціал ($\Delta\mu\text{H}^+$), який складається з:

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

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) 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, ЕС 7.1.2.2), яка розташована у внутрішній мембрані мітохондрій і каталізує оборотну реакцію:



Фермент забезпечує спряження синтезу АТФ (із АДФ та H_3PO_4) з електрохімічним потенціалом. Розрахунки показали, що дихальний ланцюг мітохондрій при переносі двох протонів утворює потенціал $\Delta\mu\text{H}^+ = 0,25 \text{ В}$. Цього цілком досить для утворення однієї молекули АТФ ($\geq 0,22 \text{ В}$). Виникнення електрохімічного потенціалу на мембрані приводить до формування зворотного струму протонів, спрямованого в матрикс, по градієнту концентрацій через протонні канали АТФ-синтази. Зворотна дифузія H^+ у матрикс призводить до вирівнювання різниці концентрацій H^+ , і відбувається розрядження внутрішньої мембрани (зникає електричний потенціал). Таким чином, при спряженні тканинного дихання з

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. Так як опис структури ферменту є тривіальним, він є досить непослідовним. Позначення компонента F_1 є скороченням від "Fraction 1" (частина 1), а символом F_0 (в індексі записана буква O, а не нуль) позначається ділянка зв'язування олігоміцину. Деякі субодиниці ферменту мають також літерні позначення: грецькі: α , β , γ , δ , ϵ ; латинські: a, b, c, d, e, f, g, h; та інші складніші позначення, такі як F6 (від "Fraction 6"); OSCP - білок, чутливий до олігоміцину (від англ. the oligomycin sensitivity conferral protein) тощо.

АТФ-синтаза складається з двох головних компонентів: F_0 і F_1 . 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», позамембранний водорозчинний каталітичний компонент, який закриває з матриксної сторони отвір протонного каналу (рис. 19). Обидва компоненти сполучені центральним стеблом.

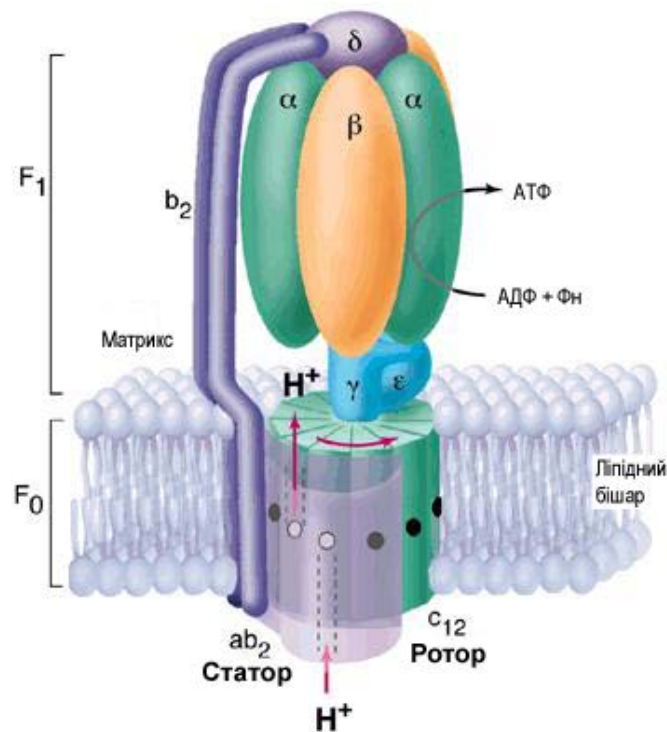


Рис. 19. Будова АТФ-синтази (Pizzo S.V., 2011 зі змінами)

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 c -субодиниць F_0 . Крім того, з γ -субодиницею зв'язана δ -субодиниця.

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 c -мультимерного циліндра розташовані a - і b -субодиниці, причому між зануреною в мембрану a -субодиницею та c -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 c , γ , ϵ -субодиниць, здатний обертатися як єдине ціле, а статор, в якому плече, утворене b -субодиницями, зв'язує a -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 еукаріотів.

На теперішній час запропоновано дві гіпотези, що пояснюють механізм перетворень на заключному етапі процесу фосфорилування, що призводить до утворення АТФ. Згідно першої (Р. Boyer): a - 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 кисню 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 . Вільна дифузія таких метаболітів як АТФ, АДФ, PO_4^{3-} через внутрішню мембрану мітохондрій неможлива через її непроникистість 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).
- 3) Згідно рис. 20 надходження однієї молекули АДФ (точніше - іону АДФ^{3-}) з міжмембранного простору в мітохондрію відбувається в обмін на перенесення в зворотному напрямку однієї молекули АТФ (іону АТФ^{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.

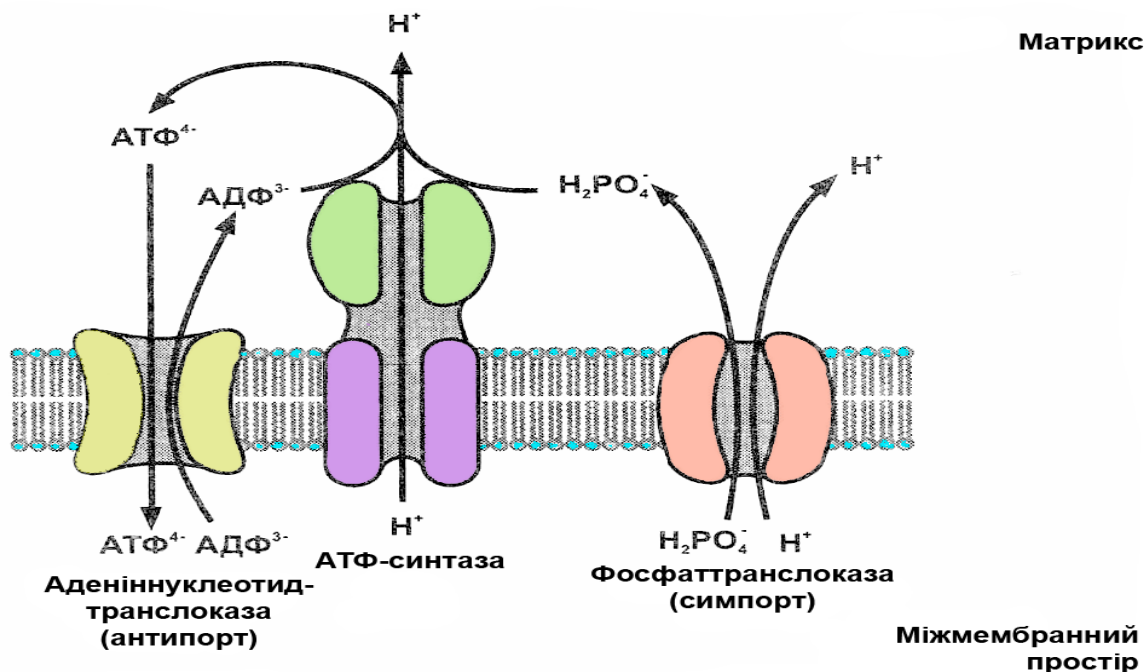


Рис. 20. Аденінонуклеотидтранслоказа та фосфаттранслоказа (Nelson D.L., Cox M.M., 2004 зі змін.)

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 НАДН, і транспорту електронів до молекулярного кисню по дихальному ланцюгу мітохондрій лімітується рівнем кисню, залежить від наявності АДФ і H_3PO_4 , 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 зниженні коефіцієнта $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}]$ 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 збільшенні співвідношення $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}]$ 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, тобто роз'єднанню дихання і фосфорилування, сприяють гормон тироксин, вільні жирні кислоти, білок термогенін, 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 транспортує через внутрішню мембрану нуклеотиди. Бурий жир був виявлений у новонароджених (у дорослої людини його практично немає) і тварин, які впадають в зимову сплячку. Фізіологічне призначення цієї тканини – продукування тепла в процесі окиснення триацилгліцеролів для підтримання необхідної температури тіла за наступним механізмом: при охолодженні організму норадреналін активує гормонзалежну триацилгліцеролліпазу. Завдяки активному ліполізу в організмі утворюється велика кількість вільних жирних кислот для аеробного окиснення, що дає велику кількість НАДН та $FADH_2$, які є субстратами для дихального ланцюга. 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.

Особливістю внутрішньої мітохондріальної мембрани клітин бурої жирової тканини є знижена здатність до синтезу АТФ. 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.

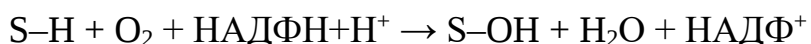
Інші види біологічного окиснення

Як було розглянуто вище, 80-90% спожитого молекулярного кисню в організмі людини використовується в мітохондріях для утворення енергії (мітохондріальне окиснення). Але існує ще кілька видів реакцій, в яких споживається приблизно 10% кисню (мікросомальне, пероксидазне, вільнорадикальне окиснення). Такі реакції зустрічаються у різних шляхах метаболізму, особливо в метаболізмі ароматичних і стероїдних сполук, простагландинів і лейкотрієнів, при знешкодженні ксенобіотиків (чужорідних сполук), зокрема лікарських препаратів. У більшості цих реакцій атоми кисню 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 ретикулуму - *мікросом*, які утворюються при гомогенізації й ультрацентрифугуванні тканин та мають форму дрібних замкнених везикул. 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 кисню, 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 кисню. При цьому головний субстрат (S) приєднує до себе один атом кисню, утворюючи гідроксисполуку, а другий субстрат (або косубстрат - НАДФН+H⁺) постачає два атоми гідрогену для відновлення іншого атома кисню до води. Крім НАДФН зрідка донорами атомів

гідрогену може бути НАДН, ФМНН₂, ФАДН₂. Джерелом НАДФН у цитозолі є реакції пентозофосфатного циклу (50%), а інша частина НАДФН утворюється завдяки цитоплазматичним ізоцитратдегідрогеназі та малатдегідрогеназі.

Мікросомальний ланцюг ферментів, що здійснює гідроксилювання, достатньо вивчений. Зокрема, *гідроксилазна монооксигеназна система кори надниркових залоз* містить НАДФН, флавопротеїн НАДФН-редуктазу, коферментом якого служить ФАД, залізо-сірчаний білок адрендоксин, що містить негемове залізо, і гемопротеїн цитохром Р₄₅₀. Ця система каталізує реакції гідроксилювання 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 відновлюють свої коферменти — утворюється НАДФН;
- 2) відновлені коферменти НАДФН у складі редуктаз монооксигеназної системи передають атоми гідрогену на їх флавіновий кофермент;
- 3) далі два H⁺ вивільняються у цитозоль, а електрони за допомогою FeS-білку передаються на цитохром Р₄₅₀;

4) цитохром P_{450} переносить електрони на молекулу кисню. Вважається, що цитохром P_{450} виконує подвійну функцію. По-перше, він зв'язує субстрат гідроксилювання, по-друге, – активує молекулярний кисень з утворенням радикалів $\cdot\text{OH}$, $\text{HO}_2\cdot$ та ін.;

5) активований кисень використовується для окиснення субстрату (S) та утворення води.

Цитохроми P_{450} являють собою складні ферменти. Білкова частина представлена одним поліпептидним ланцюгом. Особливо багато таких ферментів у мембранах ендоплазматичного ретикулу та мітохондрій клітин таких органів, як печінка, надниркові та статеві залози. Існує велика кількість ізоформ цитохрому P_{450} , які не є специфічними до якогось певного субстрату. Субстрат, що окиснюється цитохромом P_{450} , зазвичай є неполярною молекулою. У даному випадку проявляється специфічність ферменту не до структури, а до фізико-хімічних властивостей субстрату (до гідрофобності). Деякі субстрати мікросомальних гідроксилаз є індукторами цитохрому P_{450} 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 ретикулу печінки складається з ФАД-залежного флавопротеїну – НАДФН-цитохром P_{450} -редуктази, FeS-білка, цитохром b_5 та цитохрому P_{450} . Вона каталізує реакції гідроксилювання при синтезі жовчних кислот із холестеролу, інактивації стероїдних гормонів, ксенобіотиків тощо.

Існують монооксигенази, що не містять цитохрому P_{450} , такі як ферменти гідроксилювання фенілаланіну, тирозину, триптофану. Вони містять кофермент біоптерин та Fe^{3+} . Cu^{2+} -монооксигеназа каталізує гідроксилювання дофаміну з утворенням норадреналіну.

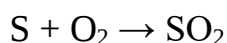
Таким чином, основна функція монооксигеназних систем – окиснення субстратів шляхом гідроксилювання. Гідроксилювання лікарських речовин: антибіотиків, анальгетиків, нестероїдних протизапальних препаратів та

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. Цитохром P₄₅₀-вмісні системи у якості відновлювального агента використовують НАДФН, тоді як металовмісні (Fe³⁺, Cu²⁺) монооксигенази — аскорбінову кислоту. 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 НАДН, а у мікросомальному окисненні — НАДФН; цитохроми b, c, a, що функціонують у мітохондріальному окисненні, замінені на цитохром P₄₅₀, цитохром b₅ 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 кисню (молекулярний кисень O₂):



Прикладами реакцій діоксигеназного окиснення є: синтез та окиснення гомогентизинової кислоти на шляху катаболізму тирозину, перехід проліну і

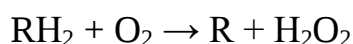
лізину в окипролін і окисілін при перетворенні проколагену на колаген, окиснення арахідонової кислоти в процесі синтезу лейкотрієнів. Також однією з біологічно важливих діоксигеназних реакцій є перетворення (розділення) молекули β-каротину на 2 молекули ретиналю ферментом β-каротин-15,15'-діоксигеназою.

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 у великих дозах перетворюється у метаболіт, який 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 полягає в тому, що енергія цих реакцій не запасється 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, гістіоцитах та інших фагоцитуючих клітинах пероксидазний шлях окиснення субстратів дуже

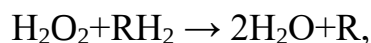
активний. H_2O_2 використовується для знешкодження хвороботворних бактерій і розпаду інфекційного матеріалу.

Надмірне накопичення гідроген пероксиду токсично, особливо для фагоцитуючих клітин, оскільки це може призводити до ушкодження ліпідів мембран, білків, ДНК і, як наслідок, до онкозахворювань, атеросклерозу тощо. Тому клітини мають ферментативні засоби знешкодження H_2O_2 , зокрема, такі гемовмісні ферменти як каталаза та пероксидази.

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



Пероксидази ширше представлені в рослинних клітинах, а крім того зустрічаються в молоці, лейкоцитах, тромбоцитах і каталізує реакцію:



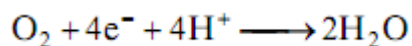
де RH_2 – хінони, глутатіон, аскорбінова кислота. В еритроцитах, наприклад, міститься глутатіонпероксидаза, яка захищає мембрани і гемоглобін від окиснення пероксидами.

Завдяки дії каталази і пероксидаз концентрація H_2O_2 у цитоплазмі клітин підтримується на низькому рівні ($10^{-9} - 10^{-7}$ M).

III. Вільнорадикальне окиснення

У клітинах організму в нормальних фізіологічних умовах перебігає велика кількість реакцій окиснення субстратів, які супроводжуються утворенням високоактивних 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 електрону. 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 3ē) утворюються вільно-радикальні форми кисню: $\text{O}_2^{\bullet-}$ – супероксидний радикал (супероксид-аніон); $\text{HO}^{\bullet}$ – вільний гідроксильний радикал, HO^- – гідроксид-аніон (рис. 22).

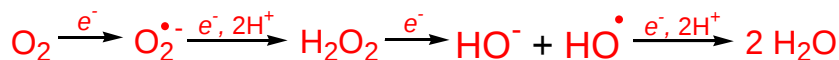


Рис. 22. Відновлення кисню

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 електрону від відновленого КоQ відразу на молекулярний кисень і втраті електрону із ланцюга (рис. 23).

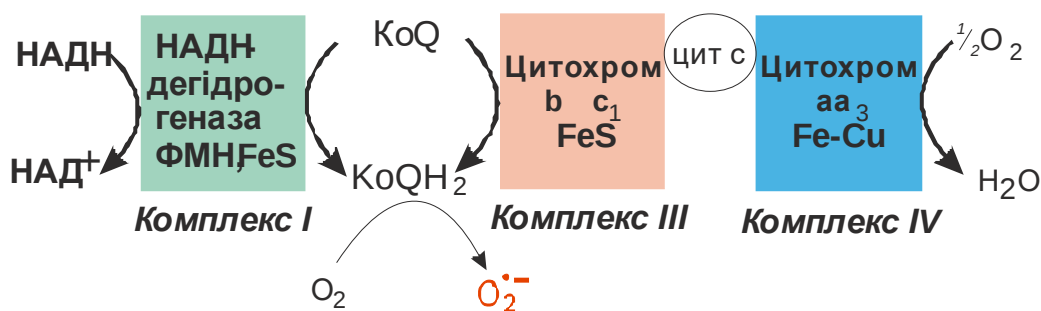
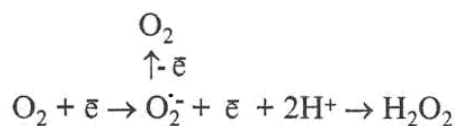


Рис. 23. Утворення супероксид-аніону у дихальному ланцюгу

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:



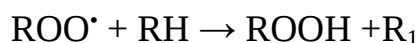
При накопиченні в клітинах гідроген пероксиду супероксид-аніон може взаємодіяти з ним, утворюючи вільний гідроксильний радикал (найпотужніший з усіх відомих окисників):



До реактивних форм кисню належать також нітроген оксид ($\text{NO}^\bullet$), пероксинітрит (ONOO^-) та озон. Суперпродукція $\text{NO}^\bullet$ 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*, викликає особливий інтерес. Процес ПОЛ має характер ланцюгової реакції, у якій активні форми кисню необхідні тільки для ініціації реакції, 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 ліпідів. Посилення пероксидного окиснення ліпідів призводить до зміни їх конформації, зменшення гідрофобності, 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, тому вони легше вимиваються з мембран, що, з іншого боку, 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. Надмірне зниження пероксидного окиснення ліпідів асоційоване зі стимуляцією пухлинного росту. Тому особливого значення набуває формування певного балансу між вільнорадикальним окисненням і антиоксидантними системами захисту від нього.

Антиоксидантний захист

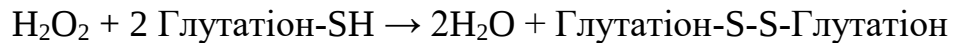
Стимування процесів вільнорадикального окиснення здійснюється за допомогою ферментативних і неферментативних механізмів:

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

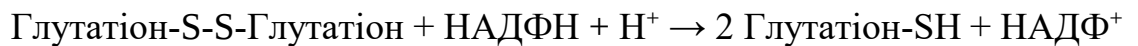
Група ферментів супероксиддисмутаза (СОД) була відкрита у 1969 р. і віднесена до металоферментів. Протетична група ферментів містить Cu^{2+} , Zn^{2+} (у цитозолі, ядрах і лізосомах), а в мітохондріях і у бактерій — Mn^{2+} . Вони каталізують реакцію:



Гідроген пероксид надалі вловлюють і знешкоджують ферменти каталаза або пероксидаза (частіше – Se-вмісна глутатіонпероксидаза). Ці групи ферментів зводять концентрацію супероксидного радикалу та H_2O_2 в клітинах до абсолютно малої. Таким чином, глутатіонпероксидаза каталізує реакцію знешкодження гідроген пероксиду відновленим глутатіоном:



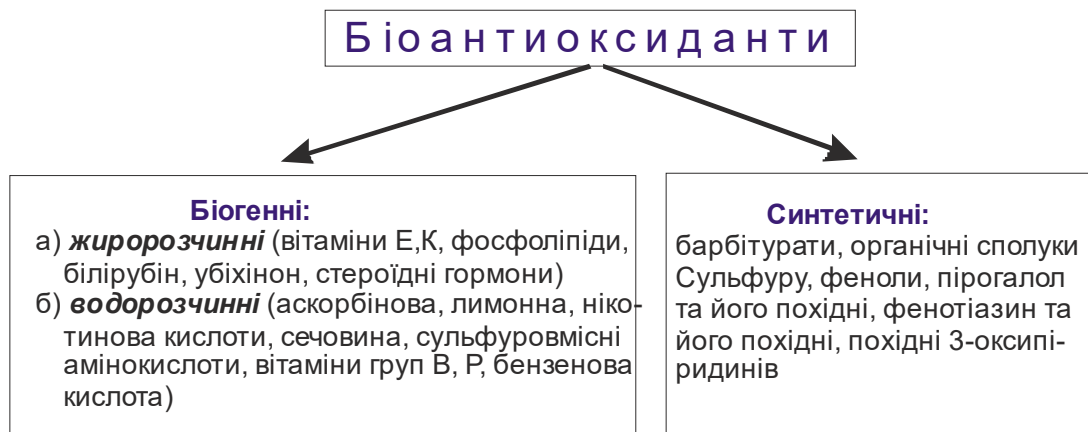
Надалі відновлення окисненого глутатіону відбувається за допомогою ферменту глутатіонредуктази (кофермент НАДФН):



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.



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 інгібування НАД-залежних дегідрогеназ, яке призводить до пригнічення їх дії.

Малонова кислота є конкурентним інгібітором ФАД-вмісної сукцинатдегідрогенази, яка відновлює свою простетичну групу ФАД за рахунок атомів гідрогену сукцинату — одного із субстратів циклу Кребса, що знижує швидкість цього метаболічного шляху і, відповідно, утворення макроергічного АТФ.

2) *Інгібітори електронного транспорту* або інгібітори тканинного дихання (дихальні отрути) - порушують електронтранспортну 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, фенobarбітал, 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 (цитохроми b , c_1 , 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.

– *IV комплекс* дихального ланцюга (цитохромоксидаза) інгібують класичні отрути: сірководень (H_2S), 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) інгібуює цитохромоксидазу шляхом зв'язування з гемом у місці, де мав би бути кисень, отже має місце конкурентне інгібування.

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 тканинного 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 матриксної поверхні мембрани крізь її гідрофобний шар. Тут відбувається депротонування молекули, і протон, що

звільнився, переходить в матрикс. У цьому випадку окиснення може йти без фосфорилування. Типовим протонатором є 2,4-динітрофенол (рис. 24):

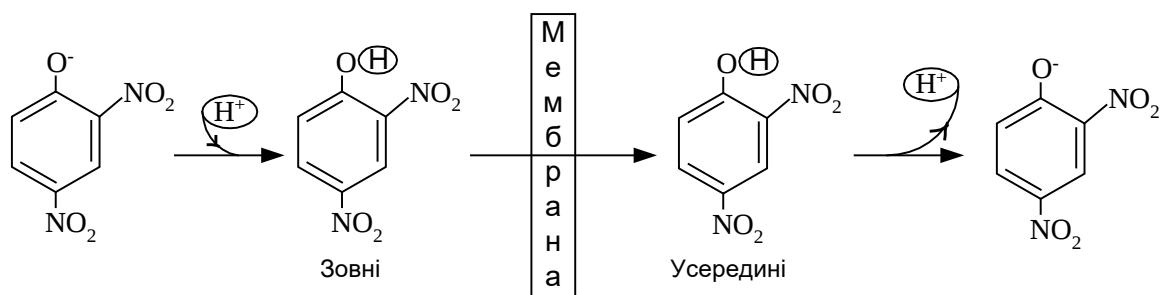


Рис. 24. Дія роз'єднувача окисного фосфорилування 2,4 – динітрофенола

Аналогічну дію мають деякі фармацевтичні препарати (амінобарбітал, фенацетин, аспірин, фенілін), продукти життєдіяльності мікроорганізмів, динітрокрезол, дикумарин, пентахлорфенол, карбонілціанід-м-хлорфенілгідазон. 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), ненасичені жирні кислоти, які є протонаторами. Вільні жирні кислоти у формі аніона ($R-COO^-$) зв'язують H^+ на зовнішній поверхні мембрани, переносять їх у молекулярній формі ($R-COOH$) 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 грамїцидін 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 грамїцидин 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 суттєво не збільшується. 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 та ін.). Дослідженнями була доведена 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_3 , B_5 , ліпоєвої, аскорбінової кислот), а також їх кофакторів, наприклад, фармпрепарат кокарбоксилаза (тіаміндіфосфат) коферментна форма вітаміну B_1 , у випадках порушень біологічного окиснення. Стан гіповітамінозу практично будь-якого вітаміну призводить до порушення обміну речовин. Приховані форми гіповітамінозів завжди є складовими механізму ушкоджень у патогенезі захворювань. Тому перелічені вище вітаміни повинні складати основу збалансованих полівітамінних препаратів.

Фермент дихального ланцюга цитохром c знайшов медичне застосування. Препарат цитохрому c , який отримано шляхом екстракції із тканини серця великої рогатої худоби, підвищує використання кисню в тканинах, його використовують для поліпшення тканинного дихання при асфіксії новонароджених, при астматичних станах, хронічній пневмонії, серцевій недостатності, анеміях, деяких отруєннях та ін.

Сприяють активації дихання і фосфорилування інсулін, мікроелементи та сам кисень. 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 (донорів H^+ і e^-) і кисню, як їх кінцевого акцептора (при відсутності кисню в високоенергетичних аеробних клітинах вже через 2-3 *хвилини* 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, смертельне 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, В₂, які входять до складу їх коферментів;
- блокування процесів окисного фосфорилування;
- зменшення активності АТФ-синтази при токсичних ураженнях;
- гіпоксія тощо.

Найбільш часта причина гіпоенергетичних станів – гіпоксія, яка може виникнути: а) при недостатності кисню у 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 ресурси тканин, однак їх вистачає на кілька тижнів. При цьому через 2 тижні голодування споживання кисню зменшується на 40%, — енергетичний обмін знижується. 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, що може проявлятися запамороченням, спазмом судин головного мозку, втратою свідомості. Температура тіла може знизитися на 2°C.

Ще однією причиною гіпоенергетичних станів можуть бути різні типи гіповітамінозів (В₁, РР, В₂, пантотенової кислоти і біотину) – недостатність

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 протоніформні 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 протоніформну 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.

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-спектрометрію. 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.

I. 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}), кисню (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.

ЗАПИТАННЯ ТА ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

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 макроергічних 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 фосфорилювання.

ТЕСТ ЗАКЛЮЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Укажіть клас ферментів, завдяки яким відбувається утворення відновлених форм коферментів і простетичних груп – донорів електронів:
 - A. Оксидоредуктази
 - B. Гідролази
 - C. Трансферази
 - D. Ізомерази
 - E. Лігази
2. Укажіть місце локалізації першої стадії катаболічних шляхів для екзогенних ліпідів, білків та вуглеводів:
 - A. Шлунково-кишковий тракт
 - B. Клітини всіх типів тканин
 - C. Клітини печінки
 - D. Клітини м'язів
 - E. Клітини нервової тканини
3. Укажіть місце локалізації процесу окисного фосфорилування:
 - A. Цитоплазма
 - B. Мітохондрії
 - C. Ендоплазматичний ретикулум
 - D. Ядро
 - E. Лізосоми
4. Укажіть відновлену форму небілкової частини ферменту, для якої окисне фосфорилування забезпечує енергоефект, що дорівнює 2АТФ:
 - A. НАДН
 - B. НАДФН
 - C. ФАДН₂
 - D. HSKoA
 - E. Ліпоєва кислота

5. Укажіть місце дихального ланцюга, в якому призупиняється транспорт електронів під впливом ціанідів:
- A. Між НАДН і ФМН
 - B. Між ФАДН і КоQ
 - C. Між цитохромом $a a_3$ і O_2
 - D. Між $CoQH_2$ і цитохромом b
 - E. Між цитохромами b і c
6. Укажіть вітамін, необхідний для утворення простетичної групи НАДН-дегідрогенази дихального ланцюга:
- A. B_1
 - B. B_2
 - C. B_6
 - D. PP
 - E. U
7. При ряді патологічних процесів, що супроводжуються гіпоксією, відбувається неповне відновлення молекул кисню в дихальному ланцюзі і накопичення в клітині токсичних продуктів. Укажіть фермент, що забезпечує руйнування цих продуктів:
- A. Фумараза
 - B. Цитохромоксидаза
 - C. Сукцинатдегідрогеназа
 - D. Аконітаза
 - E. Каталаза
8. Укажіть, порушення функції якої залози внутрішньої секреції є причиною зниження енергетичного забезпечення міокарду:
- A. Гіперфункція щитовидної залози
 - B. Пухлина надниркових залоз
 - C. Недорозвинення паращитовидної залози
 - D. Гіперфункція підшлункової залози
 - E. Гіпофункція гіпофізу

9. Укажіть термін, який характеризує сукупність процесів синтезу складних речовин з більш простих із затратою вільної енергії живої системи:
- A. Амфіболізм
 - B. Катаболізм
 - C. Анаболізм
 - D. Метаболізм
 - E. Дуалізм
10. Укажіть термін, який характеризує сукупність процесів розщеплення складних речовин до більш простих субстратів з утворенням вільної енергії:
- A. Амфіболізм
 - B. Катаболізм
 - C. Анаболізм
 - D. Метаболізм
 - E. Дуалізм
11. Укажіть речовину, у зв'язках якої переважно накопичується енергія, що виділяється в катаболічних процесах:
- A. Білок
 - B. Глюкоза
 - C. ДНК
 - D. АТФ
 - E. цАМФ
12. Укажіть кінцевий продукт розпаду речовин, що містять атом азоту, який екскретується у складі сечі:
- A. Двоокис вуглецю
 - B. Вода
 - C. Сечовина
 - D. Нуклеотид
 - E. Глюкоза

13. Укажіть субстрат другої стадії катаболічних шляхів, з якого утворюється піровиноградна кислота:
- A. Вища жирна кислота
 - B. Глюкоза
 - C. Ацетил-КоА
 - D. Лимонна кислота
 - E. Білок
14. Амфіболічний процес є джерелом метаболітів для:
- A. Анаболічних процесів
 - B. Катаболічних процесів
 - C. Анаболічних та катаболічних процесів
 - D. Усіх процесів у клітині
 - E. Синтеза білка
15. Укажіть субстрат другої стадії катаболічних шляхів, з якого не може бути утворений продукт ацетил-КоА:
- A. Глюкоза
 - B. Аденін
 - C. Піруват
 - D. Гліцерол
 - E. Вища жирна кислота
16. Укажіть макроергичну речовину, яка використовується в якості донора фосфатної групи для синтезу АТФ шляхом субстратного фосфорилування у м'язах:
- A. АМФ
 - B. ГМФ
 - C. Креатинфосфат
 - D. Пірофосфат
 - E. ГТФ

17. Виберіть назву процесу першої стадії катаболізму екзогенних субстратів:

- A. Перетравлення
- B. Фосфорилування
- C. Реабсорбція
- D. Ресинтез
- E. Ліполіз

18. Укажіть органелу, яка найбільш активно бере участь в окисленні субстратів:

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

19. Укажіть клітинну локалізацію утворення ацетил-КоА:

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

20. Укажіть речовини, які розщеплюються до гліцеролу та вищих жирних кислот:

- A. Білки
- B. Нуклеїнові кислоти
- C. Полісахариди
- D. Холестерин
- E. Тригліцериди

21. Укажіть речовини, які руйнуються до аміаку, двоокису вуглецю та води:
- A. Моносахариди
 - B. Амінокислоти
 - C. Одноатомні спирти
 - D. Жирні кислоти
 - E. Кетокислоти
22. Укажіть заключну стадію катаболічних шляхів для вуглеводів, ліпідів і простих білків у тканинах людини:
- A. Гліколіз
 - B. Окисне декарбоксилювання пірувату
 - C. Цикл Кребса
 - D. Синтез глікогену
 - E. Окислення вищих жирних кислот
23. Укажіть співвідношення, яке відповідає поняттю “дихальний контроль”:
- A. АТФ/ГТФ
 - B. АТФ/АДФ
 - C. АТФ/ТТФ
 - D. ГТФ/ГДФ
 - E. НАДН/НАД⁺
24. Назвіть процес, що відповідає останній стадії тканинного дихання:
- A. Цикл Кребса
 - B. Орнітиновий цикл
 - C. Цикл β -окислення вищих жирних кислот
 - D. Транспорт електронів у дихальному ланцюзі
 - E. Окисне фосфорилування
25. Укажіть первинний донор електронів у довгому дихальному ланцюзі:
- A. НАД⁺
 - B. НАДФ

- C. НАДН
- D. НАДФН
- E. ФАДН₂

26. Укажіть вітаміноподібну речовину, яка бере участь у транспорті електронів по дихальному ланцюзі:

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

27. Укажіть клас складних білків, до якого належать усі цитохроми:

- A. Металопротейни
- B. Гемопротейни
- C. Глікопротейни
- D. Ліпопротейни
- E. Флавопротейни

28. Укажіть білки, які беруть участь у переносі електронів від НАДН-дегідрогенази на убіхінон у дихальному ланцюзі:

- A. Глікопротейни
- B. Ліпопротейни
- C. Нуклеопротейни
- D. Залізо-сіркові білки
- E. Фосфопротейни

29. Укажіть термінальний компонент дихального ланцюга:

- A. НАДН-дегідрогеназа
- B. Цитохром aa₃
- C. Цитохром b
- D. Цитохром c₁
- E. Убіхінон

30. Укажіть найбільш рухливий цитохром дихального ланцюга у внутрішній мембрані мітохондрій:

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

31. Катіон міді містить тільки один цитохром дихального ланцюга. Укажіть його:

- A. Цитохром b
- B. Цитохром c_1
- C. Цитохром c
- D. Цитохром P_{450}
- E. Цитохром aa_3

32. Укажіть цитохром дихального ланцюга, молекула якого здатна прийняти два електрони:

- A. Цитохром b
- B. Цитохром c_1
- C. Цитохром c
- D. Цитохром P_{450}
- E. Цитохром aa_3

33. Укажіть цитохром дихального ланцюга, який є акцептором електронів від убіхінону ($KoQH_2$):

- A. Цитохром aa_3
- B. Цитохром c_1
- C. Цитохром b
- D. Цитохром P_{450}
- E. Цитохром c

34. Для якого з зазначених цитохромів частіше використовують назву цитохромоксидаза:

- A. Цитохром b
- B. Цитохром c₁
- C. Цитохром c
- D. Цитохром P₄₅₀
- E. Цитохром aa₃

35. Укажіть фізико-хімічну характеристику, яку визначають для кожної пари учасників дихального ланцюга:

- A. Температура плавлення
- B. Температура замерзання
- C. Електрохімічний потенціал
- D. Ред-окс потенціал
- E. Константа дисоціації

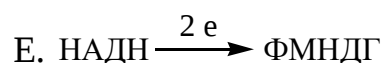
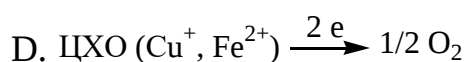
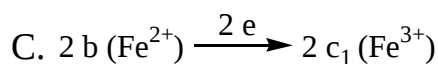
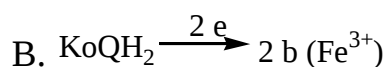
36. Укажіть величину електрохімічного потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрії, достатню для можливого синтезу АТФ шляхом окисного фосфорилування:

- A. 0,48 в
- B. 0,22 в
- C. 0,3 в
- D. 0,15 в
- E. 0,2 в

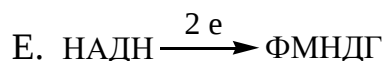
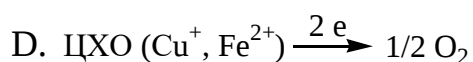
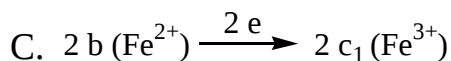
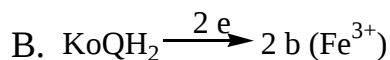
37. Укажіть пункт спряження окислення з фосфорилуванням у дихальному ланцюзі, який блокується при накопиченні барбітурату в клітині:

- A. $\text{FMN} \xrightarrow{2e^-} \text{CoQ}$
- B. $\text{CoQH}_2 \xrightarrow{2e^-} 2b(\text{Fe}^{3+})$
- C. $2b(\text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e^-} 2c_1(\text{Fe}^{3+})$
- D. $\text{ЦХО}(\text{Cu}^+, \text{Fe}^{2+}) \xrightarrow{2e^-} 1/2 \text{O}_2$
- E. $\text{НАДН} \xrightarrow{2e^-} \text{ФМНДГ}$

38. Укажіть пункт спряження окислення з фосфорилюванням у дихальному ланцюзі, який блокується при введенні антибіотика антимицина А в клітину:



39. Укажіть пункт спряження окислення з фосфорилюванням у дихальному ланцюзі, який блокується при накопиченні оксиду вуглецю (II) у клітині:



40. Електрохімічний потенціал внутрішньої мембрани мітохондрії утворюється завдяки:

A. Функції АТФ-синтази

B. Анаеробному окисленню субстратів

C. Окисному фосфорилюванню

D. Субстратному фосфорилюванню

E. Функції дихального ланцюга

41. Укажіть прізвище вченого, який запропонував хеміосмотичну теорію окисного фосфорилювання:

A. Берцеліус С.

B. Ленінджер А.

- С. Кребс Г.
D. Мітчелл П.
Е. Ліпман Ф.
42. Виберіть умову, необхідну для дії АТФ-синтази:
- A. Створення градієнту протонів на внутрішній мембрані мітохондрії
 - B. Повна проникність внутрішньої мембрани мітохондрії для протонів
 - C. Присутність речовини-роз'єднувача в мітохондрії
 - D. Присутність олігоміцину в мітохондрії
 - E. Надлишок АТФ у матриксі мітохондрії
43. Укажіть субстрати АТФ-синтетази мітохондрій:
- A. АМФ і $H_4P_2O_7$
 - B. АМФ і H_3PO_4
 - C. АДФ і H_3PO_4
 - D. АДФ і ГТФ
 - E. АДФ і ЦТФ
44. Укажіть інгібітор НАДН-дегідрогенази дихального ланцюга:
- A. Карбоксин
 - B. Олігоміцин
 - C. Ротенон
 - D. Малонат
 - E. Антиміцин А
45. Укажіть інгібітор сукцинатдегідрогенази – II комплексу дихального ланцюга:
- A. Малонат
 - B. Барбітурат
 - C. Аскорбат
 - D. Ротенон
 - E. Сірководень

46. Укажіть інгібітор комплексу цитохромів b і c_1 з заліzosірковими білками:
- A. Малонат
 - B. Барбітурат
 - C. Ціанід
 - D. Антиміцин А
 - E. Карбоксин
47. Укажіть інгібітор цитохромоксидази:
- A. Малонат
 - B. Барбітурат
 - C. Ціанід
 - D. Антиміцин А
 - E. Карбоксин
48. Укажіть показник, за допомогою якого оцінюють енергоефект реакції, отриманий завдяки окисному фосфорилуванню:
- A. Дихальний контроль (АТФ/АДФ)
 - B. Коефіцієнт фосфорилування (P/O)
 - C. Відношення НАДН/НАД⁺
 - D. Відношення КоQH₂/КоQ
 - E. Відношення HSKoA/ацетил-КоА
49. Енергоефект окислення 1 молю сукцинату до фумарової кислоти дорівнює 2 АТФ. Укажіть, як зміниться ця величина при накопиченні маленової кислоти в мітохондрії:
- A. Не зміниться
 - B. Зменшиться
 - C. Збільшиться
 - D. Стане рівною нулю
 - E. Стане негативною величиною

50. 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
51. При введенні ціанідів у мітохондрію тканинне дихання цілком зупиняється. Це обумовлено тим, що блокується дія:
- A. Сукцинатдегідрогенази
 - B. НАДН-дегідрогенази
 - C. Цитохрому b
 - D. Цитохромоксидази
 - E. Цитохрому c
52. Кількість неорганічних фосфатів, які використовуються для синтезу АТФ при переносі пари електронів на один атом молекулярного кисню прийнято називати:
- A. Коефіцієнтом регуляції синтезу АТФ
 - B. Константою субстратного фосфорилування
 - C. Дихальним контролем
 - D. Коефіцієнтом циклізації
 - E. Коефіцієнтом фосфорилування
53. Укажіть термін, який використовується для назви ліпофільної речовини, яка перешкоджує утворенню протонного градієнту на внутрішній мембрані мітохондрій шляхом включення протонів у свою структуру:
- A. Інгібітор тканинного дихання
 - B. Інгібітор циклу Кребса
 - C. Протонофор-роз'єднувач
 - D. Йонофор-роз'єднувач

Е. Інгібітор АТФ-синтетази

54. Укажіть гормон, який за умовою накопичення у клітині-мішені може виконувати функцію роз'єднувача:

А. Соматотропін

В. Інсулін

С. Тироксин

Д. Кальцитонін

Е. Паратгормон

55. Укажіть фактор регуляції швидкості синтезу АТФ у мітохондрії:

А. Відношення концентрацій глюкози до глюкозо-6-фосфату

В. Відношення концентрацій АТФ до АДФ

С. Коефіцієнт фосфорилування

Д. Концентрація аланіну

Е. Концентрація білка у цитоплазмі

56. Укажіть лікарський препарат, який інгібує тканинне дихання:

А. Фенобарбітал

В. Пеніцилін

С. Стрептоцид

Д. Вікасол

Е. Левоміцетин

57. Укажіть характер зміни відношення АТФ/АДФ у матриксі мітохондрії при введенні в неї речовини 2,4-динітрофенолу:

А. АТФ/АДФ знижується

В. АТФ/АДФ підвищується в два рази

С. АТФ/АДФ не змінюється

Д. АТФ/АДФ стає рівним нулю

Е. АТФ/АДФ підвищується в чотири рази

58. Укажіть характер зміни відношення АТФ/АДФ у матриксі мітохондрії при введенні в мітохондрію надлишку ціанідів:

А. АТФ/АДФ знижується

- В. АТФ/АДФ підвищується в два рази
С. АТФ/АДФ не змінюється
D. АТФ/АДФ стає рівним нулю
Е. АТФ/АДФ підвищується в чотири рази
59. У одному циклі β -окислення вищих жирних кислот утворюються 1 НАДН і 1 ФАДН₂. Укажіть сумарний енергоефект (у молях АТФ) цього процесу за рахунок окисного фосфорилування:
- А. 3 АТФ
В. 2 АТФ
С. 5 АТФ
D. 6 АТФ
Е. 9 АТФ
60. При окисному дезамінуванні 1 молю глутамату в матриксі мітохондрій утворюється 1 моль НАДН. Укажіть енергетичний ефект для даної реакції за рахунок окисного фосфорилування:
- А. 3 АТФ
В. 2 АТФ
С. 1 АТФ
D. 2,5 АТФ
Е. Не утворюється АТФ
61. Укажіть речовину, яка здатна цілком блокувати тканинне дихання:
- А. Барбітурат
В. Малонат
С. Антиміцин А
D. Синильна кислота
Е. Валіноміцин
62. Мітохондрії - субклітинні органели, притаманні всім клітинам, окрім зрілих еритроцитів, бактерій, синьо-зелених водоростей. У яких основних клітинних функціях приймають участь мітохондрії?
- А. Секреція

- В. Зборка рибосом
 - С. Гідроліз речовин
 - Д. Окислювальне фосфорилування
 - Е. Транскрипція
63. У синтезі АТФ в клітині бере участь цілий ряд ферментів. Ферменти дихального ланцюга, що забезпечують синтез АТФ, локалізовані в:
- А. Ядрі
 - В. Лізосомах
 - С. Рибосомах
 - Д. Мітохондріях
 - Е. Периксосомах
64. Під час електронної мікроскопії в клітині зафіксована деструкція мітохондрій. Про порушення яких процесів це свідчить?
- А. Порушення синтезу АТФ
 - В. Порушення синтезу нуклеїнових кислот
 - С. Порушення синтезу жирів
 - Д. Порушення синтезу білка
 - Е. Порушення гліколізу
65. У хворого внаслідок отруєння ціанідами має місце блокада тканинних дихальних ферментів (цитохромів). Який вид гіпоксії спостерігається?
- А. Гіпоксична
 - В. Тканинна
 - С. Дихальна
 - Д. Циркуляторна
 - Е. Гемічна
66. При транспорті деяких речовин відбувається використання метаболічної енергії (АТФ). Цим процесом є:
- А. Осмос
 - В. Фільтрація
 - С. Проста дифузія

D. Активний транспорт

E. Полегшена дифузія

67. Пацієнт помилково прийняв велику дозу снодійного препарату ряду барбітуратів (амітал), який є інгібітором НАД-залежної дегідрогенази дихального ланцюга. Який процес порушено в організмі?

A. Синтез меланіну

B. Синтез аміаку

C. Синтез ліпідів

D. Синтез АТФ

E. Синтез амінокислот

68. Відомо, що анаеробні мікроорганізми гинуть в присутності кисню із-за згубної дії перекису водню. Це пов'язано з відсутністю продукції анаеробами ферменту:

A. Полімераза

B. Протеаза

C. Каталаза

D. Редуктаза

E. Лактаза

69. Після введення хворому великих доз тироксину у нього підвищилася температура тіла. Гіпертермія в даному випадку обумовлена роз'єднанням процесів біологічного окислення і:

A. Бета-окислення жирних кислот

B. Окислювального фосфорилування

C. Окисного дезамінування амінокислот

D. Окисного декарбоксилювання пірувата

E. Перекисного окислення ліпідів

70. Для покращення тканинного дихання при асфіксії новонароджених і для відновлення окисних процесів в організмі використовують цитохром с. До якого класу речовин належить ця сполука?

A. Гемопротейни

В. Фосфопротеїни

С. Нуклеопроїїни

Д. Глікопротеїни

Е. Ліпопротеїни

ВІДПОВІДІ

1.	A	25.	C	49.	D
2.	A	26.	D	50.	D
3.	B	27.	B	51.	D
4.	C	28.	D	52.	E
5.	C	29.	B	53.	C
6.	B	30.	C	54.	C
7.	E	31.	E	55.	B
8.	A	32.	E	56.	A
9.	C	33.	C	57.	A
10.	B	34.	E	58.	D
11.	D	35.	D	59.	C
12.	C	36.	B	60.	A
13.	B	37.	A	61.	D
14.	C	38.	C	62.	D
15.	B	39.	D	63.	D
16.	C	40.	E	64.	A
17.	A	41.	D	65.	B
18.	E	42.	A	66.	D
19.	A	43.	C	67.	D
20.	E	44.	C	68.	C
21.	B	45.	A	69.	B
22.	C	46.	D	70.	A
23.	B	47.	C		
24.	D	48.	B		

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. нац. підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський [та ін.] ; за ред.: Ю. І. Губського, І. В. Ніженковської. - 3-є вид. - Київ : Медицина, 2021. - 544 с.
2. Біологічна хімія: нац. підруч. для студ. вищ. мед. освіти / Ю. І. Губський [та ін.] ; за ред.: І. В. Ніженковської. - Вінниця : Нова книга, 2021. - 648 с.
3. Скоробогатова З. М. Біохімія. Короткий курс : навч. посіб. Ч. 2 / З. М. Скоробогатова, М. А. Сташкевич, А. Г. Матвієнко. - Київ : Біокомполіт, 2021. - 148 с.

Додаткова

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : базовий підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. Кн. 1. Біоорганічна хімія / Б. С. Зіменковський [та ін.] ; за ред.: Б.С Зіменковського, І. В. Ніженковської ; - 2-ге вид., випр. - Київ : Медицина, 2017. - 272 с.
4. Скоробогатова, З. М. Атлас метаболічних шляхів : навч. посіб. / З. М. Скоробогатова ; рец.: А. Ф. Попов, К. С. Непорада ; НАН України, Ін-т фіз.-орган. хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка. - Київ : Біокомполіт, 2017. - 76 с.

Інформаційні ресурси:

1. Електронний каталог бібліотеки ЗДМФУ. URL : <http://www.library.mphu.edu.ua>
2. Електронні ресурси кафедри біологічної хімії ЗДМФУ. URL : https://zsmu.sharepoint.com/sites/bchm_f12/SitePages/NMZ.aspx
2. Сайт кафедри біологічної хімії ЗДМФУ. URL : <https://biochem.zsmu.zp.ua>