

Pentru materialul de curs, corespondenta se realizeaza cu cadrul de predare, la adresa de corespondenta de mai sus

#### Cursul 4

#### Notiuni de metabolism energetic

Totalitatea transformărilor de substanță, energie și informație din materia vie constituie metabolismul

*Metabolismul (metabolein = a se schimba) este functia fundamentala a vietii iar incetarea lui determina moartea organismului .*

*El reprezinta schimbul permanent de substante si energie intre organism si mediu.CARACTERUL DE SISTEM DESCHIS !!!*

#### **Metabolismul intermediar**

Reprezinta totalitatea reactiilor enzimatiche din celule, avand ca functii:

- Transformarea substantelor endo si exogene in unitati de baza (monozaharide, AA,nucleotide,etc)
- Utilizarea energiei chimice a substantelor organice
- Formare de struct macromoleculare - prot, polizah, ac nucleici = ANABOLISM
- Degradarea struct macromolec in scopul producerii de energie = CATABOLISM

Tipuri de rc. Metabolice

-cai centrale,comune

-cai particulare unei anumite functii biol.

#### **Etape ale catabolismului G,L,P:**

ET.I - macromolec. sunt degradate in unitati struct. fundam.:monozah,AG si glicerol, AA liberi-20-22 tipuri

2. ET.II – unitatile fundamentale sunt transformate pe cai specifice in molecule simple, predominant acetil

3.ET. III – Molec. simple de tipul acetil – CoA sunt transformate in  $\text{CO}_2$  si  $\text{H}_2$  (preluat pe coenzime:  $\text{NADH}+\text{H}^+$ ,  $\text{FADH}_2$ ) pe o cale comuna –ciclul citric

4.ET.IV- Oxidarea  $\text{O}_2$  preluat anterior pina la  $\text{H}_2\text{O}$  in lantul respirator si al fosforilarii oxidative cu eliberarea de energie de catre celule

Et. I si II au mecanisme specifice.

Et. III si IV sunt comune pt.G,L si P si se bazeaza pe existenta elem. C si H in compusii organici, conducand la  $\text{CO}_2$  si  $\text{H}_2\text{O}$

Catabolismul principalelor tipuri de biomolecule (proteine, polizaharide si lipide) parcurge in celulele aerobe 4 faze

Organizarea căilor metabolice pe principalele procese fiziologice, permite o nominalizare a următoarelor tipuri de metabolisme :

#### **metabolism energetic**

**metabolisme specifice dedicate principalelor categorii de substanțe transferate intre organism și mediu: glucidic, lipidic, proteic mineral, al xenobioticelor, metabolismul oxigenului**

#### **metabolism integrativ**

Cerințele proprii ale organismului, corelate cu factorii de mediu, controlează modul de exprimare a informației conținute în gene, genom (totalitatea genelor) → transcriptom (totalitatea ARN) → Proteom (totalitatea proteinelor),

Produsul acestei expresii, proteinele, generează metaboliți și realizează efectiv calea metabolică (transport substrat în celulă, cataliză enzimatică a reacțiilor, transport în afara celulei, contracție, transport semnale chimice și electrice, recepție semnale etc

### **Calea metabolică**

Numărul căilor metabolice este extrem de mare, o reprezentare schematică chiar și numai a principalelor căi metabolice dând o imagine extrem de complexă.

Unitatea morfofuncțională a materiei este celula, ea reprezentând nivelul de bază al organismului. Celula se găsește într-o comunicare permanentă cu mediul înconjurător, reprezentând un sistem deschis ce realizează schimburi de materie și energie cu acesta. Aceste schimburi permit existența celulei într-o stare dinamică staționară, stare în care constituenții celulei se mențin constanți.

*Asfel, deși în decursul vieții omul consumă tone de alimente și zeci de m<sup>3</sup> de lichide, el nu-și modifică substanțial masa și compoziția materiei vii din care este alcătuit.*

### **Met. De STUDIU ale metab. intermediar:**

Studii in vitro în afara organismelor vii

-pt rc ale subst. pure extrase din celule (proteine, AN, enzime...) introduse într un mediu artificial  
pt reacții metabolice din formațiuni subcelulare (organite rezultate din omogenizare și centrifugare fractionată)

-pt procese metabolice din celule, culturi, felii de țesut, organe perfuzate

- Studiile in vivo urmăresc reacțiile biochimice în organisme vii și pot cuprinde :

analiza concentrațiilor diverșilor metaboliți în sânge.

studiul fragmentelor tisulare obținute prin **biopsii**.\*

studii de bilanț metabolic.

Pentru studiile în vivo se pot folosi substanțe de marcaj ca izotopi radioactivi sau stabili, substanțe fluorescente

*\***Biopsia** este prelevare medicală de țesut de la un subiect viu pentru a determina prezența sau gradul unei boli. Țesutul este examinat în general sub un microscop și poate fi de asemenea, analizat chimic*

#### **BIOPSII PERCUTANE**

*Biopsia aspirativă cu ac fin (FNA— fine needle aspiration)*

*Biopsia cu ac gros (tru-cut)*

*Biopsia asistată de vacuum*

*Biopsia cu ac foarte gros (tub)*

#### **BIOPSII CHIRURGICALE**

*Biopsia incizională*

*Biopsia excizională*

Existența materiei vii în univers se supune **principiilor fundamentale ale termodinamicii**:

I, conservarea E : E nu se creează și nu se pierde, ci se conservă în orice proces

II, evoluția : Procesele din univers se desfășoară în sensul creșterii entropiei

Într-un univers în expansiune, caracterizat printr-un înalt nivel al entropiei, materia vie apare ca un sistem complex, cu un înalt nivel de organizare: organism → organe → țesuturi → celule → organite subcelulare → complexe macromoleculare → molecule organice (aminoacizi, hexoze, acizi grași), cu entropie mică.

Menținerea organizării materiei vii se realizează numai prin consum de energie. Astfel, organismul trebuie să obțină energie din mediul înconjurător (catabolism), pe care să o utilizeze la construcția structurilor proprii și în asigurarea funcțiilor biologice (anabolism), activități ce necesită energie utilă, fapt ce va duce la scăderea nivelului entropiei.

Din acest motiv metabolismul mai poate fi considerat ca fiind procesul prin care materia vie își menține entropia la valori mici, opunându-se tendinței generale a universului de creștere a entropiei. Acest lucru se realizează printr-un consum permanent de energie, conform ecuației:

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

S - entropia – energia ce nu este disponibilă pentru un lucru util.

H - entalpia – cantitatea totală de energie construită în sistem.

G - energia liberă de reacție – porțiunea din energia totală a unui sistem, disponibilă pentru realizarea unui lucru util.

### Interconditionarea heterotrofe-autotrofe (sintrofia)

Radiatia solara e sursa principala de E pt toate organismele vii

**AUTOTROFE** (lumea vegetala, microorganismele);preiau C din CO<sub>2</sub> din care prin fotosinteza si construiesc molecule org proprii prin intermediul Glucozei. Fotosinteza are loc în cloroplaste și în zona citoplasmei care le înconjoară. La nivelul cloroplastelor alături de *clorofila a*, pigment activ în reacțiile fotochimice, se mai găsesc și alți pigmenți, cu rol de pigmenți accesori:

Clorofilă b, clorofilă c

Carotenoizi

Flavonoide

Pigmenți ficobilinici = ficobiliproteine

**HETEROTROFE** (lumea animala) isi procura prin

hrana compusi complecsi, G, L, P produși de autotrofe si alte heterotrofe, ii retransforma în structuri proprii (sinteze) sau ii degradeaza cu mari degajari de E pana la compusi finali, CO<sub>2</sub> si H<sub>2</sub>O

Energia este utilizata în sinteze sau în procese consumatoare de E (contractie musc, transmitere nerv)

### Desfășurarea metabolismului

Variația energiei libere ,  $\Delta G$  este definita ca diferenta între :

Energia totala produsa în sistem, ( $\Delta H$ , entalpia) si

Energia ce nu este disponibila unui lucru util, ( $\Delta S$ , entropia)

$\Delta G_0$  = variația energiei libere de reacție (standard- 25 grd C si 1M) în mediul biologic → este constanta fizico-chimică ce caracterizează sistemul biochimic reacțional

$\Delta G_0$  = variația energiei libere de reacție se poate determina pt ca e legata de marimi usor masurabile, constanta de echilibru K sau potentialul redox

*metabolismul mai poate fi considerat ca fiind procesul prin care materia vie își menține entropia la valori mici, opunându-se tendinței generale a universului de creștere a entropiei*

Cele două procese, anabolismul si catabolismul, sunt interdependente și în echilibru

Intermediarii extremi ai celor două procese sunt comuni și în concentrație constantă (glicemia, uremia etc).

În metabolism, procesele catabolice și anabolice au loc prin intermediul unor succesiuni de reactii chimice, numite căi metabolice, liniare, ramificate sau ciclice. Acestea sunt reglate:

- prin mecanisme proprii (pH, concentrație de substrat sau de produs final, reglare enzimatică) sau
- prin mecanisme de control (nervos sau hormonal).

Pe baza  $\Delta G_0$  → reacțiilor biochimice li se poate determina caracterul:

Endergonic (reacțiile de condensare, formarea glicil-glicinei, un dipeptid, +2,2kcal/mol)

Exergonic (reacțiile de oxidare pt glucoza, -686kcal/mol și hidroliză pt G-6P, -6,6kcal/mol)

Izergonice (reacțiile de izomerizare),

### Cuplarea energetică a proceselor endergonice cu cele exergonice – principiul intermediarului comun

Transferul de E în organismele vii se face chiar la locul desfășurării proceselor consumatoare si numai în limitele necesarului!!!!

Cuplarea energetică proceselor anabolice (endergonice,  $\Delta G_0' > 0$ ) cu cele catabolice (exergonice,  $\Delta G_0' < 0$ )

→ se realizează cu transfer de energie

→ se realizează cu participarea unui intermediar comun

TEORETIC:  $A + C \rightarrow I \rightarrow B + D$

( $I \rightleftharpoons I^*$ ), există o formă energizată  $I^*$  (cuplată cu o reacție exergonică) și o formă neenergizată  $I$  (cuplată cu o reacție endergonică)

Unde  $I^*$  forma energizată și  $I$  = forma neenergizată a intermediarului (prin hidroliza acestuia; mai poate avea și alte leg macroergice)

### Principiul intermediarului comun

Reacția  $I \rightarrow I^*$  are  $\Delta G_0 < 0$  și funcționează concomitent cu desfășurarea în paralel a unei reacții exergonice

Reacția  $I^* \rightarrow I$  are  $\Delta G_0 > 0$  se poate cupla cu o reacție endergonică de valoare egală sau mai mică

$I^*$  nu este în relație structurală cu reacția  $A \rightarrow B$  și  $C \rightarrow D \Rightarrow I^* \rightarrow$  acumulator energetic general

$\Rightarrow$  de exemplu: sistemul ATP ( $I^*$ )/ADP(I), care reprezintă intermediarul comun al majorității cuplajelor

În realitatea celulară:  $ATP + H_2O \rightleftharpoons ADP + P_a$ ,

ATP = compus mai puternic energizat

ADP = compus mai slab energizat.

### Notiuni de patologie

Bolile metabolice pot fi

- cu o distribuție extrem de largă în rândul populației ca diabetul zaharat, obezitatea și dislipidemiile, cât și
- boli rar întâlnite; atât boli congenitale care limitează durata de viață, ducând la deces în primii ani de viață, cât și boli dobândite care apar la adulți. (Obezitatea și denutritia sunt boli nutrițional-metabolice).

1. Obezitatea și supraponderalitatea sunt foarte răspândite în întreaga lume și frecvența lor este în creștere; sunt produse prin aport alimentar crescut la persoanele cu predispoziție genetică și sunt favorizate de sedentarism.

2. Denutritia poate fi primară (prin lipsa de aport a principiilor nutritive) sau secundară (având la bază diferite cauze).

3. Hiperlipoproteinemii reprezintă tulburări ale metabolismului lipidelor și importanța lor majoră derivă din răspândirea lor foarte mare în populația generală și din faptul că reprezintă un *risc foarte mare pentru bolile cardiovasculare*.

4. Guta reprezintă o tulburare a metabolismului purinelor și se caracterizează prin: creșterea acidului uric în sânge, artrita gutoasă acută, depuneri de cristale de urat de sodiu la nivelul diferitelor țesuturi (denumite tofi), artrita gutoasă cronică și litiaza renală cu calculi din acid uric.

5. Tulburările metabolismului metalelor și metalproteinelor includ afecțiuni ca: boala Wilson, hemocromatoza, porfiriile.

Tulburările metabolismului aminoacizilor cuprind numeroase afecțiuni ca de exemplu: omocisteinemia, cistinuria, fenilcetonuria, alcaptonuria și altele.

6. Bolile congenitale ale țesutului conjunctiv pot afecta osul, ligamentele, vasele sanguine și pielea și sunt printre cele mai frecvente afecțiuni genetice umane. Cele trei categorii principale din aceste boli sunt: osteogeneza imperfectă, sindromul Ehlers-Danlos și sindromul Marfan.

### Compuși macroergici

Compușii macroergici = compuși care conțin legături chimice cu potențial energetic ridicat, denumite legături macroergice.

Legăturile macroergice = legături covalente fosfatice / nefosfatice care se hidrolizează printr-o reacție puternic exergonică ( $\Delta G_0 > 7 \text{ kcal/mol}$ ).

*Exemple de compuși macroergici:*

Acid adenzozin trifosfat (ATP),  $\Delta G_0' = -7,3 \text{ kcal / mol}$   
 Guanozin trifosfat (GTP)-cofactor enzim  
 Uridin trifosfat (UTP)  
 Citidin trifosfat (CTP)  
 Fosfoenolpiruvat,  $\Delta G_0' = -14,8 \text{ kcal / mol}$   
 Carbamilfosfat,  $\Delta G_0' = -12,3 \text{ kcal / mol}$   
 Acid 1,3 – bifosfoglicerice  
 Creatinfosfat(este un guanidin fosfat)  $\Delta G_0' = -10,3 \text{ kcal / mol}$   
 Acetil-CoA,  $\Delta G_0' = -7,7 \text{ kcal / mol}$

*Utilizarea unor compuși macroergici:*

UTP → procese biochimice de teaurizare(formare glicogen), respectiv interconversiune de monozaharide(glucoza/galactoza)form de bilirubin diglucuronati;  
 CTP → sinteza de fosfolipide  
 GTP → sinteza legăturilor peptidice

### **Acidul adenzozin trifosforic (ATP)**

Importanța lui a fost sesizată în deceniul al IV-lea al secolului 20

Reprezintă „moneda universală pentru întreaga energetică celulară”

Este un *nucleozid purinic trifosforilat*

În soluție sau în mediul biol se afla ionizat !!!!!!!

Prezintă diferite valori energetice pentru diferite legături fosforice:

-7,3 kcal pentru trecerea ATP → ADP și ADP → AMP (pur teoretică în vivo, neexistând enzima coresp)

-3,4 kcal pentru trecerea AMP → adenzozină (legătură cu energie joasă, studiată în vitro, în absența enzimei în vivo)

Dar în vivo se produce rapid scindarea acidului pirofosforic, sub acțiunea pirofosfatazei , -8 kcal/mol (ACTIVAREA AG)

### **Descompunerea energetică a ATP:**

Prin reacția de hidroliză a ATP-ului la ADP:

ATP + HOH → ADP + Pa,  $\Delta G_0 = -7,3 \text{ kcal}$ , de ex, în activarea glucozei

Mai rar, Prin reacția de detașare a acidului pirofosforic (PPa)care se descompune instantaneu la 2Pa, cu-8kcal/mol ⇒ hidroliza ATP fuzionează energia ambelor legături fosfat-macroergice !!! (însușind -15,3kcal/mol), de ex, în activarea resturilor acil ale AG

ATP + HOH → AMP + PPa,  $\Delta G_0 = -7,3 \text{ kcal}$

PPa + HOH → 2 H<sub>3</sub> PO<sub>4</sub>,  $\Delta G_0 = -8 \text{ kcal}$

*Consumul de ATP în organism este permanent:*

*Pt contractii musc, procesul este inegal în timp*

*Pt activitatea nervoasă este constant în timp*

*deci, ATP trebuie resintetizat permanent !!!!!*

*În mușchi există o situație particulară, datorită enzimei ADENILATKINAZA/MIOKINAZA, AMP + ATP ⇌ 2 ADP, cu efect energetic nul, apoi ADP refacă ATP, prin cuplare cu Pa, endergonic*

Explicații ale descompunerii leg din ATP și PPa:

Respingere electrostatică mai mare între sarcinile (-) ale ATP decât la ADP

Leg macroergice sunt de tip ANHIDRIDA, deci mai instabile decât ale acidului de proveniență, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

Afinitate mai mare de 6 ori a ADP pt ionii de Mg<sup>2+</sup> din celula, cu care formează complexe

### **Utilizarea ATP în procese metabolice**

ATP este folosit în realizarea proceselor metabolice sau pentru realizarea diverselor activități celulare (contractie, mișcare, influx nervos, travaliu osmotic, secreție glandulară):

Glucoză + ATP → glucozo-6-P + ADP, în vederea desfășurării unor procese de sinteză

Glicerol + ATP → glicerol-fosfat + ADP, reacție catalizată de glicerolkinaza

AA + ARNt + ATP → AA-ARNt + AMP + PPa

$R-COOH + ATP + CoA-SH \rightarrow R-CO\sim S-CoA + AMP + PPa$ , care se va descompune rapid, pt ca leg C-S necesita mai mult de 7,3 kcal

Acid glutamic +  $NH_3$  + ATP  $\rightarrow$  Gln + ADP + Pa, reacție realizată, de asemenea pe seama energiei eliberate la hidroliza ATP-ului

Alti compusi macroergici fosforilati elibereaza prin hidroliza mai mult de 7,3 kcal/mol si pot transfera (teoretic) restul fosfat pe ADP, formand ATP, care la randul sau il transfera unui alt compus, ce necesita mai putin de 7,3, formand astfel o scara de transfer a restului fosfat (potential de fosforilare), cu conditia existentei unor enzime specifice!!!!

ATP = moneda universala de schimb

Fosfo-enol-piruvat, -14,8

Carbamil-fosfat, -12,3

Acid bis-fosfo glicerici, -11,8

Creatin-fosfat, -10,3!!! Furnizeaza rapid energie de formare a ATP in contractie, sub actiunea CK creatinkinaza (creatin fosfo kinaza). Rc reversibila in repaus, cand se formeaza CP

### Mecanisme energetice în sinteza de ATP

*DPDV energetic, fiecare celula actioneaza pe cont propriu (FARA posibilitate de a imprumuta energie libera sau compusi Macroergici)*

*Pt producerea ATP, celula utilizeaza E din rc exergonice din degradarea G, L, P*

*Exceptie ERITROCiTELE anaerobe!!!!) sau muschiul scheletic in eforturi f intense (facultativ anaerob), restul celulelor degradeaza AEROB, producand suficienta energie( pt un mol de glucoza, 38ATP, fata de 2ATP anaerob)*

*Constituirea legăturii macroergice a ATP*

Principala rc de formare a ATP (endergonică)

$ADP + H_3PO_4 \rightarrow ATP + HOH$ ,  $\Delta G_0 = +9,3$  kcal/mol

Se mai formeaza si prin rc:

$AMP + ATP \rightleftharpoons 2 ADP$ , reacție catalizată de adenilatkinază (miokinază)  $\rightarrow$  efect energetic nul

Teoretic:  $AMP + H_3PO_4 \rightarrow ADP + HOH$ ,  $\Delta G_0' = +7,3$  kcal (endergonic)  $\rightarrow$  NU în natură

### Mecanisme energetice în sinteza de ATP

*Mecanismul oxidării în organismul animal*

Reacțiile de oxidare = reacții puternic exergonice

Particularitățile oxidării biologice (fundamental diferită de arderea substanțelor în atmosferă, desi valoarea energetica este aceeași):

Oxidarea substratului se realizează prin mobilizarea hidrogenului / electronilor

Reacția cu valoare energetică principală este cea a oxidării hidrogenului activat, mobilizat de pe substrat de către  $O_2$

$H_2 + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow H_2O$ ,  $\Delta G_0' = -52,7$  kcal/mol,

Carbonul C substratului se elimină fără probleme ca și  $CO_2$  prin decarboxilare

Eliberarea de energie se realizează în cadrul unui șir de reacții parțiale, cu mobilizarea energiei chimice în trepte, cu formare de compuși macroergici

**Oxidarea anaerobă**  $\rightarrow$  etapa incipientă,

Mecanism: dehidrogenarea moleculei de substrat (scăderea conținutului în  $H_2$  al substratului)

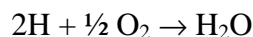
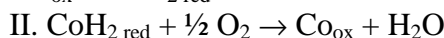
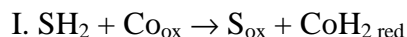
Dehidrogenarea în trepte a substratului, cu trepte de hidratare intercalate (acestea cresc conținutul în oxigen al moleculei)

Enzimele: dehidrogenaze

Hidrogenul se transferă pe un acceptor specific, de ex.:

COENZIMA PIRIDINICĂ ( $\text{NAD}^+$  sau  $\text{NADPH}^+$ )

COENZIMA FLAVINICĂ (FMN, FAD)



!!!! Etapele oxidării biologice  $\rightarrow$  sunt intercondiționate, astfel încât etapa anaerobă DEBLOCHEAZĂ etapa aerobă

### ***Enzime și coenzime cu rol în realizarea oxidării biologice***

Dehidrogenaze DH anaerobe  $\rightarrow$  catalizează mobilizarea hidrogenului din substrat

îl transferă în lanțul respirator LR

nu sunt capabile să îl transfere pe oxigen

DH cu coenzime piridinice ( $\text{NAD-}$ ,  $\text{NADP-}$ dependente):

în glicoliza, în ciclul citric

la inițierea lanțului respirator

în ciclul pentofosfatilor,

DH cu grup prostetic riboflavinic (au structură FMN sau FAD):  $\rightarrow$  în lanțul respirator

DH porfirinice-Citocromii

Au structură hemoproteică (hem modificat !!!!)

Sunt : b, c1, c, a (din constituția lanțului respirator) și P-450, b5 (din microzomi)

Sunt transportori de electroni !!!! ce acționează succesiv

Asigură transportul electronilor la citocrom-oxidază

Oxidaze  $\rightarrow$  catalizează mobilizarea hidrogenului de pe substrat, cu acceptor obligator  $\text{O}_2$ ,  
cu formare de  $\text{H}_2\text{O}$  (sau  $\text{H}_2\text{O}_2$ , pentru MAO)

Citocrom-oxidaza = cit a3 sau „fermentul respirator al lui Warburg”

Este componentă terminală a lanțului respirator

Conține două molecule hem și 2 atomi de Cupru

Este inhibată de CO, cianuri,  $\text{H}_2\text{S}$

Flavoproteine (conțin FAD sau FMN ca grupare prostetică)  $\pm$  Mo, Fe (metalo-flavoproteine)

L-AA oxidaza  $\rightarrow$  realizează dezaminarea oxidativă a AA naturali

Glucozo-oxidaza  $\rightarrow$  determinarea glucozei în lichide biologice

Hidropoxidazele  $\rightarrow$  folosesc ca substrat apă oxigenată sau peroxizi organici:

Peroxidazele

Scad nivelul peroxidizilor

Sunt hemoproteine prezente în lapte, leucocite sau plachete

Catalaza

Are ca funcție descompunerea apei oxigenate

Este o hemoproteină cu 4 grupări hem

Este prezentă în sânge, măduva osoasă, rinichi și ficat

Oxigenazele  $\rightarrow$  catalizează încorporarea oxigenului într-un substrat, nu participă la procese celulare energogene; rol: sinteza enzimelor de biosinteză / catabolism

Dioxigenaze (oxigenaze adevărate)

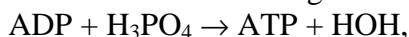
Monooxigenaze: participă la hidroxilare în cursul transformării compușilor steroanici în SR, în celulele hepatice,



la metabolizarea unor medicamente de către F (aminopirina=antipiretic,morfina=anestezic, amfetamina=S-mimetic,hiperenergizant),cu participarea citocromului P-450

### Utilizarea energiei din oxidarea biologică

Se face în reacția endergonică de fosforilare oxidativă;



$$\Delta G_0 = +9,3 \text{ kcal/mol}$$

ATP se formează în cantități mari în etapa aerobă, față de cea anaerobă

F.O are loc în 2 circumstanțe diferite

- A. în oxidarea unor substraturi
- B. în L R

### A. F.O cuplate cu oxidarea substraturilor prin dehidrogenare

Formarea ATP în aceste condiții implică trei etape:

- 1.formarea unui I\* energizat cu legătură nefosforică ~X
- 2.formarea unui compus fosforilat macroergic ~P
- 3.formarea ATP

Se eliberează mai multă E decât 7,3 kcal/mol, diferența se disipă în mediu

Există *trei reacții de fosforilare de substrat* în celulele animale, catalizate de enzime f specifice, KINAZE

două - în cadrul oxidării anaerobe a glucozei → mecanisme unice de sinteză a ATP, în absența oxigenului

- a). formarea ac piruvic
- b). formarea ac 3 P glicerol

una - în cadrul „ciclului acizilor tricarboxilici” (ciclul citric): formarea ac succinic (se formează de fapt, GTP și acesta se transformă în ATP)

### B. Fosforilarea oxidativă în lanțul respirator

Lanțul respirator ( LR)

- este faza finală aerobă a oxidării, asigură combinarea atomilor de hidrogen (de pe substrat) cu oxigenul molecular, O<sub>2</sub>
- se caracterizează printr-un șir de reacții succesive în care are loc transfer de echivalenți reducători (H<sup>+</sup> sau e<sup>-</sup>) rezultând un șir de substanțe care trec succesiv din stare redusă în stare oxidată (sisteme redox)
- atât hidrogenul, cât și oxigenul se activează
- este localizat în mitocondrii, în membrana lor internă

Nr mitocondrii e specific fiecărei celule(20% în hepatocit, 50% în miocard)

Membrana internă mitocondrială este impermeabilă pt. NADH+H<sup>+</sup> (se utilizează sisteme de navetă, care transportă echivalenții reducători din citoplasmă )

**Există cai metab ce se desfășoară direct în mitoc, ca β-oxidarea AG sau CICLUL CITRIC**

**Funcțiile lanțului respirator:**

- Asigurarea dehidrogenărilor din cadrul căilor degradative specifice
- Eliberarea de energie, inclusiv pentru refacerea ATP

**Sisteme redox:**

- reprezintă cuplajele stărilor redusă și oxidată ale aceleiași substanțe în prezența unui donator, respectiv acceptor de echivalenți reducători. Ele se caracterizează printr-un potențial redox măsurabil.Ex:
  - acetat-acetaldehidă;
  - H<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>,
  - NAD<sup>+</sup> - NADH + H<sup>+</sup>,
  - piruvat – lactat,
  - oxalacetat - malat,



citocrom oxidat – citocrom redus

Reacția globală a lanțului respirator este  $2H + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow H_2O$ ,

### **Componentele lanțului respirator**

LR are loc în membrana internă mitocondrială unde toate componentele realizează un aranjament spațial special.

Studiul membranelor mitocondriale interne a evidențiat 5 tipuri de fragmente, complexele I – IV, care conțin sistemul transportor de echivalenți reducători și complexul V care realizează cuplarea oxidării cu fosforilarea:

În esență, componentele principale ale lanțului respirator sunt:

Complexul I : NADH-dehidrogenaza,

Complexul II :Succinat-Co Q reductaza

coenzima Q (ubichinona),.....*solubila*

Complexul III: sistemele citocromilor b, c1, c (...*solubil*) și a

Complexul IV : citocromoxidaza(cit a3)

Complexul V : factor de cuplare F0 F1-ATP sintetaza)

Componente auxiliare sunt: fier-sulf proteinele asociate cu flavoproteinele.

#### Complexul I, NADH-dehidrogenaza

- este o proteină catalitică, cu grup prostetic FMN
- rol: catalizează reacția de preluare a echivalenților reducători de la  $NADH + H^+$  și de cedare a acestora unui acceptor specific, Co Q, după care e- sunt transferați complexului III(cit....) iar  $H^+$  trec în matricea mitocondrială
- reoxidarea NADH-dehidrogenazei se realizează cu ajutorul a 4 sulf-proteine

#### Coenzima Q (ubichinona)

- este un derivat al 1,4-benzochinonei;
- este un compus cu masă moleculară mică,
- structură hidrocarbonată, izoprenică (10 molec izopren),
- nu este o coenzimă propriu-zisă, ci este dizolvată în membrana internă mitocondrială.
- Poate funcționa ca acceptor reversibil de hidrogen.

#### Complexul III: Sistemul citocromilor

- sunt proteine complexe de tipul cromoproteinelor (unele citocromul b și c conțin hem);
- sunt asemănătoare cu Hb și mioglobina; → rolul citocromilor = transportul de electroni, cu trecerea reversibilă  $Fe^{2+}$  la  $Fe^{3+}$ ,
- afinitatea crescătoare (creșterea electropozitivității potențialului REDOX) pentru electroni determină și ordinea de intervenție în LR:

b,

c1,

c, (singurul separat !!!)

a

#### Complexul IV Citocromoxidaza

- este o hemoproteină mai complexă, legată indestructibil în membrana mitocondrială
- se formează din cit a redus care reacționează cu cit a3
- rolul ei: preluarea electronilor de la sistemul citocromilor și transferarea acestora asupra oxigenului molecular
- are o asemănare funcțională mare cu Hb (modul de reacție cu oxigenul, ireversibil, determinând sensul deplasării echivalenților reducători în lanț)

### Cuplarea LR cu fosforilarea ADP (formarea ATP)

Consta în utilizarea E din oxidarea H în lant pt formarea ATP din ADP

Formarea ATP se face datorita unui potential electro-chimic (concentratii diferite de H<sup>+</sup>) între matrice și spatiul intermembranar al mitocondriei (adica, TRANSPORT ACTIV DE H<sup>+</sup> !!!) prin canale specifice F<sub>0</sub> și cu ajutorul unui factor de cuplare, F<sub>1</sub>.

F<sub>0</sub> și F<sub>1</sub> intra în structura Complexului V, adica ATP-sintetaza (descrisa de Paul Boyer, pr Nobel)

Nici ADP și ATP nu pot traversa liber mbr mitocondrială internă !!!,

Ei sunt TRANSLOCATI (unul intra, altul iese) cu ajutorul unei alte proteine-transportor, *ADP-ATP Translocaza*, ce reprez 14% din totalul prot. Mbr. Mitoc

Mai exista și alți transportori, unii di-carboxilati, pt malat, succinat, fumarat sau tri-carboxilati, pt citrat)

Primul element constitutiv al LR este NADH-dehidrogenaza. Pt o moleculă de NADH+H<sup>+</sup> ce se oxidează traversează mbr mitoc înt 10 H<sup>+</sup>

Dehidrogenazele flavinice (FAD), ca *glicerol- 3 -P- DH* sau *acil-Co A -DH* stabilesc relație cu al II-lea complex al LR și nu cu NADH-dehidrogenaza, deci la oxidarea unei molecule de FADH<sub>2</sub> traversează doar 6 H<sup>+</sup>

Pt sinteza 1 ATP trebuie să fie transportați prin mbr mitoc 4 H<sup>+</sup>  
DECI

Se produc:

Pt un NADH+H<sup>+</sup> oxidat, 10:4=2,5 ATP

Pt un FADH<sub>2</sub> oxidat, 6:4=1,5 ATP

*Particularități LR*

Căderea de energie liberă nu este egală, pentru diversele cupluri redox ce intervin

Căderea totală de E,  $\Delta G^0 = -52,7$  kcal/mol

Fluxul de e<sup>-</sup> din LR generează un flux de protoni H<sup>+</sup> la mbr mitoc înt

Apare un potential electro-chimic ce va asigura energia pt rc endergonică de formare a ATP din ADP

Consumul de O<sub>2</sub> din mitoc pt oxidarea H și eliberare de E se numește RESPIRAȚIE CELULARĂ

**Intensitatea respirației celulare (consumul de O<sub>2</sub>) este:**

-Corelat cu necesitățile energetice ale celulei

-Corelat cu starea funcțională a celulei

$S_{H_2} + 1/2 O_2 \rightarrow 2,5 ADP + 2,5 Pa$

$S + 2,5 ATP + 2,5 H_2O \rightarrow H_2O$

### **Particularități – transfer de energie – funcție generală a LR**

Eficiența formării energiei se studiază pe preparate biologice prin determinarea raportului P / O.

Valoarea normală a raportului = 2,5 (pentru 1/2 moli O<sub>2</sub> consumați → 2,5 moli ATP)

Dacă LR este mai scurt (intervin enzimele flavinice FADH<sub>2</sub>) se sintetizează doar 1,5 moli de ATP

### **Reglarea fosforilării respiratorii**

- constă în exercitarea unui autocontrol al intensității acesteia; într-o reglare rapidă a intensității respirației celulare
- fenomenul este cunoscut sub numele de „control respirator”
- este cuplat cu formarea de ATP
- se realizează prin reglarea fluxului de electroni prin lanțul respirator

$sH_2 + 1/2 O_2 + 2,5(ADP + Pa) \rightarrow s_{ox} + 2,5 ATP + (2,5+1)H_2O$

SH<sub>2</sub> → redă prezența substratului organic, care, în mod normal este asigurată

$O_2 \rightarrow$  nu este factor limitator într-un organism normal, doar în hipoxie sau anoxie  
 $Pa \rightarrow$  în mod normal, este disponibil în cantități satisfăcătoare pentru desfășurarea procesului  
 $ADP \rightarrow$  concentrația lui este variabilă în funcție de intensitatea consumului de ATP  $\Rightarrow$  în relație cu nevoile energetice

### ***Decuplarea respirației de procesul de fosforilare***

Reprezintă situația în care lanțul respirator transportă echivalenți reducători, dar fenomenul respirator nu se însoțește de generare de ATP (cu aj unei prot TERMOGENINA)

Are la baza faptul că eliberarea de energie în lanțul respirator se asociază cu lizarea acesteia

În urma decuplării, substraturile se oxidează, iar energia se transformă în căldură (se pierde)

Inhibitorii acționează la nivelul complexelor I, III și IV:

- $\rightarrow$  amobarbital (derivat barbituric), antibioticul piericidina A și insecticidul rotenona
- $\rightarrow$  dimercaprol (agent chelator pt metale grele) și antimicina A (antibiotic)
- $\rightarrow$  oxid de carbon, cianuri, azide (compusi bogati energetic, ca agenti mutageni))
- $\rightarrow$  oligomicina (antibiotic macrolid)

ADP ca reglator al respirației celulare

ATP nu se stochează, ci se formează permanent prin MOBILIZAREA ENERGIEI CHIMICE din G, L, Pr

ATP+AMP+ATP din corp = 50g (1-10mMoli/l)

În repaus se produce/se consumă aprox 40kg ATP/24h

În efort, cca 720 kg/24h

Random de producere a ATP = aprox 40%

LR e suficient de xergonic pt a fi ireversibil

ATP nu e depozit sau sursă de E, ci doar vehicul de transfer

### **Procese oxidative cu rol neenergetic**

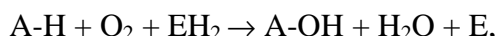
Hidroxilarea unor substraturi endogene sau exogene

Se produc ca:

Modificare de etapă în biosinteza unor molecule  $\rightarrow$  hormoni steroizi, colesterol, acizi biliari

Degradarea unor compuși  $\rightarrow$  hormoni steroizi, hem, medicamente, pesticide

Reacția este:



și este catalizată de MONOOXIGENAZE (hidroxilaze sau oxigenaze cu funcții mixte).

*Enzima poate fi NADP sau NAD.*

Reacția se desfășoară în:

- Glanda suprarenală (reticul endoplasmic, mitocondrii)  $\rightarrow$  intervine în transformarea hormonilor steroizi produși aici
- Ficat (reticulul endoplasmic)  $\rightarrow$  intervine asupra unor substanțe exogene (medicamente, toxice) sau endogene (hormoni steroizi, vitamina D)
- Componenta principală a sistemului  $\rightarrow$  citocromul P450 (hemoproteină)
- Transportul  $\rightarrow$  cu ajutorul flavoproteinelor; citocromul P450 preia, succesiv  $2e^-$ , activând oxigenul sub forma radicalului superoxid  $HO^2$ . Energia mobilizată de către transferul echivalenților reducători este utilizată pentru reacția endergonică.
- Semnificația mecanismului: Realizarea unor biotransformări

Crește hidrofilia unei serii de substanțe  $\Rightarrow$  acțiune de detoxifiere

### **Metabolismul radicalului superoxid**

$O_2$  – are reactivitate chimică scăzută

Pentru îndeplinirea funcțiilor sale biologice, oxigenul  $\rightarrow$  trebuie să se activeze



### **Specii reactive (unele cu rol toxic):**

Oxigenul singlet → poate rezulta din iluminarea retinei și a cristalinului din ochii mamiferelor

Radicalul superoxid → se formează în toate țesuturile aerobe, în mitocondrii și microzomi

Funcții:

- Sinteza protrombinei, a collagenului, a unor substanțe cu rol în neurotransmisie, în catabolismul cerebral al unor substanțe - TRIPTOFAN
- În exces → realizarea unor fenomene patologice → inflamații cronice, procese autoimune, alterări toxice

Eliminarea: Prin formare de apă oxigenată (care va fi eliminată cu ajutorul catalazei), reacție catalizată de enzima superoxid dismutaza

Radicalul hidroperoxid → se formează prin protonarea radicalului superoxid,  $\text{HO}^{\cdot}$  → conduce la formarea  $\text{H}_2\text{O}_2$

Radicalul hidroxil ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) → are mare reactivitate; este responsabil de majoritatea deteriorărilor oxidative în sistemele biologice

Apa oxigenată → se formează prin reacția dintre doi radicali hidroperoxid.

**Enzime și compuși care îndepărtează ionul foarte rapid:**

- Superoxid dismutaza
- Catalaza
- Glutation peroxidaza
- Glutation reductaza
- Vitamina A, C, E, etc.