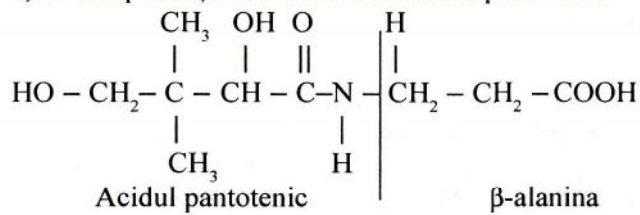
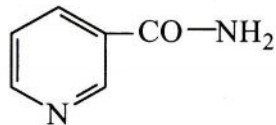


NAD⁺ la reacție mai participă cofactorii tiaminpirofosfat (TTP), lipoamida și FAD⁺.

a) În componența HS-CoA intră acidul pantotenic:

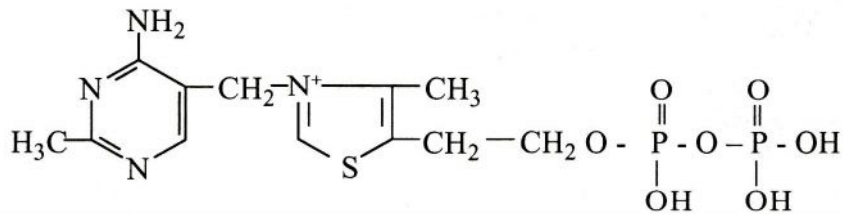


b) Vitamina PP este constituentul NAD⁺-ului

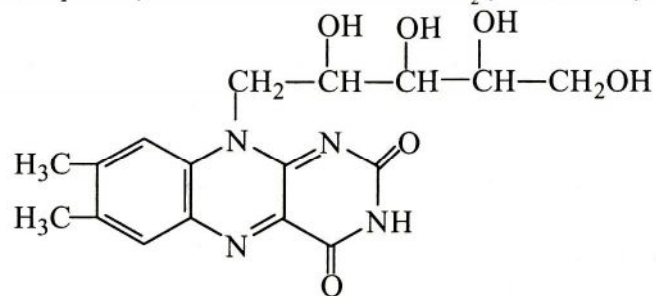


Nicotinamida

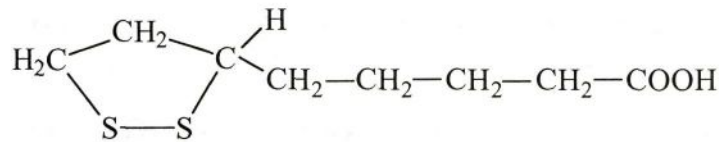
c) Tiaminpirofosfatul este forma coenzimatică a vitaminei B₁ (tiaminei).



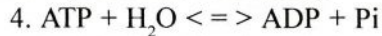
d) În componența FAD-ului intră vitamina B₂ (riboflavina).



e) Acidul lipoic se leagă covalent cu restul de lizină din dihidroli-poiltransacetilază.



3. Ciclul acizilor tricarboxilici funcționează numai în condiții aerobe, deoarece desfășurarea lui normală necesită NAD^+ și FAD^+ . Acești transportatori de electroni regenerează la transferul electronilor NADH și FADH_2 la O_2 pe calea lanțului respirator, care este cuplat cu formarea concomitentă de ATP (fosforilare oxidativă).



$\Delta G^\circ = -7,3 \text{ kcal/mol}$, unde ΔG° este energia liberă standard de hidroliză a ATP-ului.

Fiecare moleculă de ATP este hidrolizată și din nou regenerată de 2,5 mii de ori în 24 de ore, deci durata vieții moleculei de ATP este mai puțin de un minut.

5. În 24 ore omul consumă cca 600 l (~27 moli) de oxigen. Majoritatea covârșitoare a oxigenului (~90%) se reduce pînă la apă cu participarea lanțului respirator. Dacă se consideră că în mitocondrii se reduc 25 moli de oxigen (50 moli de oxigen atomic), iar cîțul P/O = 2,5, atunci în mitocondriile organismului se sintetizează zilnic $50 \times 2,5 = 125$ moli de ATP, adică cca 62 kg de ATP. Firește aceeași cantitate de ATP este hidrolizată zilnic: această cantitate nu caracterizează masa totală de ATP din organism, ci viteza ciclului ATP-ADP.

6. Ciclul Krebs este o cale amfibolică care funcționează nu numai în catabolism (oxidarea acetil-CoA ce provine din degradarea aminoacizilor, acizilor grași și glucidelor), ci și în generarea de precursori ori pentru căile anabolice. Intermediarii ciclului Krebs servesc ca precursori ai aminoacizilor: oxalilacetatul este convertit în aspartat, iar α -cetoglutarat - în glutamat. Citratul poate fi îndepărtat din ciclu pentru a servi ca precursor al acetil-CoA extramitocondriale pentru sinteza de acizi grași în reacția catalizată de ATP-citratliază. Succinil-CoA poate fi îndepărtată din ciclu pentru biosinteza hemului. Viteza de funcționare a ciclului Krebs este bine racordată la necesitatea celulelor în ATP.

1. Un punct important de reglare a ciclului Krebs este formarea ireversibilă a acetil-CoA din piruvat. Activitatea complexului piruvatdehidrogenază este controlată:

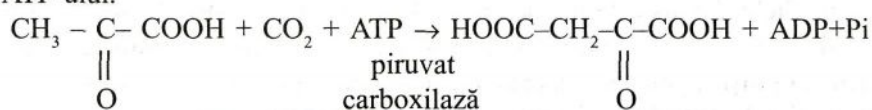
- a) prin inhibiție de către produșii de reacție – CH₃-CO-SCoA, NADH;
- b) după principiul de retroinhibiție - ATP inhibă complexul piruvatdehidrogenazic;
- c) prin modificarea covalentă a complexului dehidrogenazic fosforilarea determină diminuarea activității lui, iar defosforilarea - creșterea activității (kinaza (K) și fosfataza (F)).

2. O reacție importantă de reglare a ciclului este sinteza citratului din oxalilacetat și acetil-CoA. ATP-ul este inhibitorul alosteric al citratsintezei.

3. Altă reacție aflată sub reglaj este reacția catalizată de izocitratdehidrogenază care necesită ADP ca modulator alosteric stimulator, dar care este inhibată de ATP sau NADH.

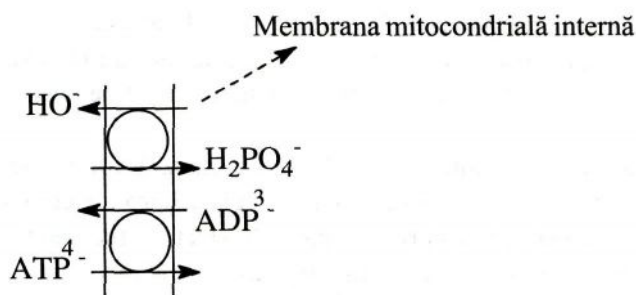
4. A treia reacție reglatoare a ciclului Krebs este reacția catalizată de complexul α - cetoglutarat dehidrogenază, inhibat de produșii de reacție, deci de NADH și succinil-CoA.

7. Nu este posibilă, deoarece reacția de decarboxilare a piruvatului este ireversibilă. Compușii intermediari ai ciclului acizilor tricarboxilici sunt folosiți ca precursori în procesele de biosinteză. Oxaloacetatul servește ca precursor în sinteza aspartatului și în procesul de gluconeogeneză. Compușii intermediari utilizați sunt refurnizați prin reacții anaplerotice dintre care cea mai importantă este carboxilarea piruvatului la oxalilacetat pe contul ATP-ului.



8. Trecerea ATP și ADP prin membrana internă mitocondrială este un proces cuplat: ADP pătrunde în matricea mitocondrială numai cu condiția ieșirii ATP-ului din matrice și invers. Această difuziune de schimb este mediată de transportorul ATP-ADP-translocază - un dimer constituit din subunități identice - și este inhibată puternic și specific de glucozida vegetală atractilozida și de antibioticul acid bongkrecic.

Transportorul de fosfat favorizează un schimb de ioni H₂PO₄⁻ și OH⁻:



TEMA 12

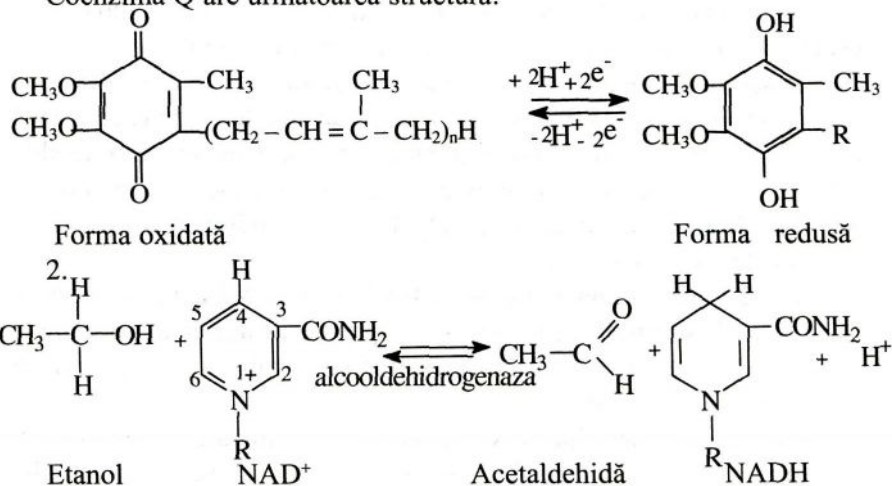
Oxidarea biologică. Lanțul respirator și fosforilarea oxidativă

1. Componentele lanțului respirator care participă în fluxul transportului de electroni de la substrat organic la oxigen sunt:

- Dehidrogenazele NAD^+ - dependente;
- Dehidrogenazele FMN - și FAD - dependente;
- Proteinele cu fier-sulf;
- Ubichinona sau coenzima Q;
- Citocromii și NADP^+ .

NAD^+ conține nicotinamida (vitamina PP), FMN și FAD-riboflavina (vitamina B_2).

Coenzima Q are următoarea structură:



Reacțiile de dehidrogenare implică transferul reversibil a doi echivalenți reducători de la substrat sub forma unui ion de hidru $ră$ (H^-) la poziția 4 a inelului nicotinamic, celălalt hidrogen este eliminat de pe substrat ca ion liber H^+ .

3. Rotenona (substanță extrem de toxică extrasă din plante și utilizată ca insecticid) și amitalul (medicament din clasa barbituricelor) blochează transportul de electroni pe porțiunea dintre NADH și ubichinonă (complexul NADH-CoQ-reductaza) și astfel împiedică generarea gradientului de protoni în primul punct de fosforilare oxidativă. Restabilirea fluxului de electroni și sintezei de ATP se poate efectua prin adăugare de succinat la mitocondrii, deoarece inhibitorii indicați nu influențează asupra oxidării succinatului, întrucât electronii acestui substrat se includ în lanțul respirator prin intermediul FAD-lui la nivelul CoQ, deci după locul de blocare de către rotenonă și amital.

4. 2,4-Dinitrofenolul este un agent de decuplare a fosforilării oxidative. În prezența lui transferul de electroni de la NADH la O_2 decurge normal însă nu are loc formarea ATP-lui de către ATP-sintetaza mitocondrială, întrucât dispare forța protonmotrică care asigură transportul protonilor prin membrana mitocondrială internă.

Antibioticul oligomicina face parte din clasa inhibitorilor fosforilării oxidative. El inhibă ATP-sintetaza, deci, împiedică atât stimularea consumului de oxigen de către ADP, cât și fosforilarea ADP la ATP și nu inhibă direct nici unul dintre transportatorii de electroni ai lanțului respirator.

5. Restabilirea transportului de electroni și sintezei de ATP se poate efectua prin adăugarea la mitocondrii a unui substrat de oxidare, care evită includerea electronilor în lanțul respirator la nivelul CoQ prin intermediul FAD-lui, deci a unui substrat de oxidare care include electronii la nivelul NAD^+ -lui (de exemplu, malat, izocitrat, glutamat, 3-hidroacil-CoA, piruvat sau exces de succinat).

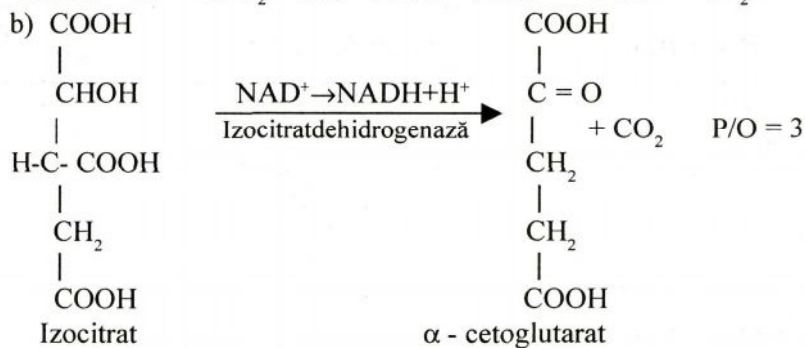
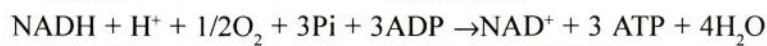
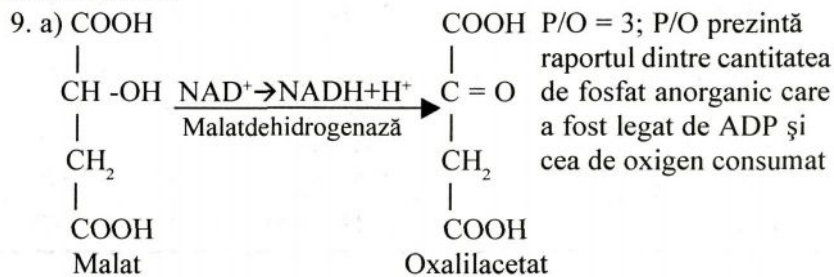
Pentru restabilirea numai a transportului de electroni la mitocondrii se adaugă unul din substratele sus-menționate și un agent decuplat, de exemplu 2,4-dinitrofenol care permite transportul electronilor, dar blochează fosforilarea ADP la ATP.

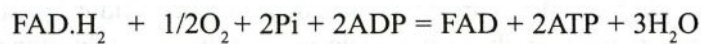
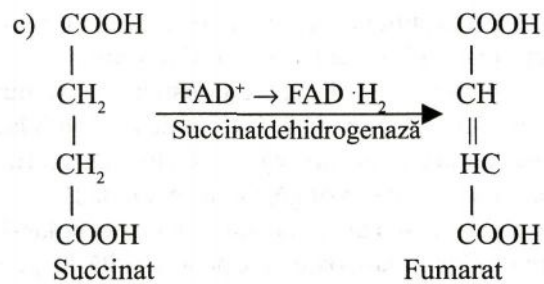
6. Antimicina A (antibiotic toxic sintetizat de o tulpină de *Streptomyces*) blochează transportul electronilor în lanțul respirator la nivelul complexului

III, deci blochează transportul electronilor de la ubichinonă la citocromul c. Astfel, transportorii de electroni pînă la blocaj se vor găsi în forma redusă - NADH, FMN.H₂, FAD.H₂, CoQ.H₂, cyt.b Fe²⁺, iar transportorii de după blocaj - cyt.c₁, cyt.c și cyt.aa₃ - în formă oxidată. Oxidul de carbon inhibă citocromul aa₃ (citocromoxidaza sau complexul IV). Astfel, toți transportorii de electroni inclusiv și citocromii c₁ și c se vor găsi în formă redusă.

7. 2,4-Dinitrofenolul, tiroxina și acizii grași prezintă agenți decuplanți ai fosforilării oxidative. Decuplarea fosforilării oxidative poate fi utilă din punct de vedere biologic. Decuplarea prezintă o cale de generare a căldurii pentru menținerea temperaturii corpului la animalele în hibernare, la unele animale nou-născute și la mamiferele adaptate la frig. Grăsimea brună foarte bogată în mitocondrii este specializată în acest proces de termogeneză. Rolul de decuplanți în grăsimea brună îl joacă acizii grași, eliberarea cărora este reglată de către noradrenalină.

8. Sărurile acidului cianhidric (cianurile) blochează procesul de reducere a oxigenului catalizat de citocromoxidază, deoarece sunt inhibitorii puternici ai citocromoxidazei.





10. Piruvat → acetil-CoA → ciclul Krebs → lanțul respirator

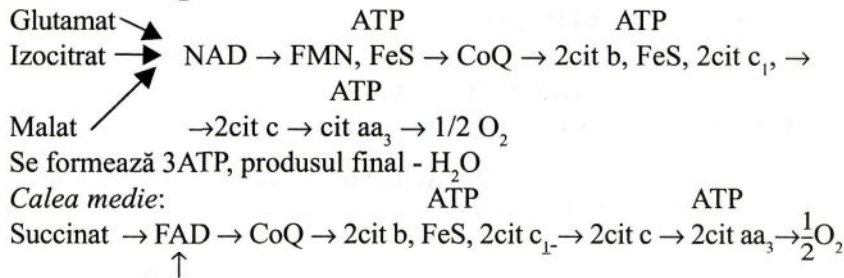
Reacția catalizată de:	Numărul de NADH și FAD.H ₂	Numărul de ATP
Piruvatdehidrogenaza	NADH	3ATP
Izocitratdehidrogenaza	NADH	3ATP
α-cetoglutaratdehidrogenaza	NADH	3ATP
Succinattiokinaza	Fosforilare la nivel de substrat	1ATP
Succinatdehidrogenaza	FAD.H ₂	2ATP
Malatdehidrogenaza	NADH	3ATP
Numărul	4 NADH + FAD.H ₂	15ATP

11.

Substratele de oxidare	Coeficientul P/O	Numărul de ATP
Izocitrat	3	3ATP
α-cetoglutarat	3	3ATP
Succinil~SCoA	Fosforilare la nivel de substrat	1 ATP
Succinat	2	2ATP
Malat	3	3ATP

Numărul total de ATP = 12ATP

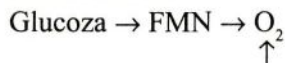
12. *Calea lungă:*



↑
Acid gras-CoA

Se formează 2ATP, produsul final - H₂O

Calea scurtă:



↑
Acid gras-CoA → FAD

ATP-ul nu se formează, produsul final - H₂O₂, care la acțiunea catalazei se scindează în apă și oxigen.

13. Omul adult cu greutatea de 70 kg consumă zilnic cca 2000 kcal. Întrucât eficacitatea transformării energiei conținute în produsele alimentare în energia chimică a ATP-ului constituie 50%, rezultă că 1000 kcal se obțin pe seama hidrolizei ATP-ului. Pentru a obține această cantitate de energie sunt necesare în condiții standarde $1000:7,3 = 137$ moli de ATP sau cca 62 kg de ATP (1 mol de ATP constituie 507 g).

14. Modificarea energiei libere standard se calculează după ecuația:

$$\Delta G^0 = - nF \Delta E'_o,$$

unde: n - numărul de electroni transferați;
 F - constanta Faraday (23062 cal/V);
 $\Delta E'_o$ - diferența dintre potențialele redox ale cuplului donor de electroni și acceptor de electroni.

Cînd o pereche de echivalenți reducători este transferată de la NADH

($E'_o = -0,32 \text{ V}$) la oxigenul molecular ($E'_o = +0,82 \text{ V}$)

$$\Delta G^0 = -2 \cdot 23062 [0,82 - (-0,322)] = - 527000 \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1} =$$

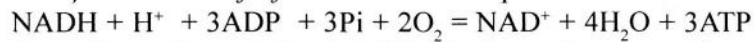
$$= - 52,7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} = - 238,48 \text{ kJ/mol}$$

15. $\text{Pi} + \text{ADP} \leftrightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$; $\Delta G^0 = +7,3 \text{ kcal/mol}$

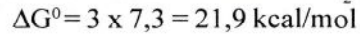
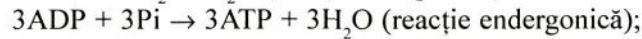
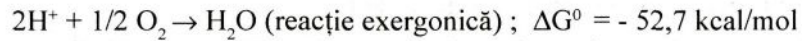
În timpul migrării unei perechi de electroni de la NADH la oxigenul

molecular o parte din energia electronilor este înmagazinată în legăturile macroenergetice ale ATP - ului.

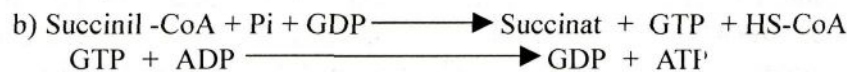
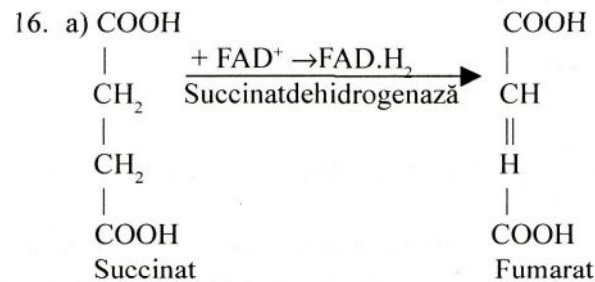
Ecuatia sumară a fosforilării oxidative poate fi scrisă astfel:



Această ecuație poate fi scindată în două ecuații:

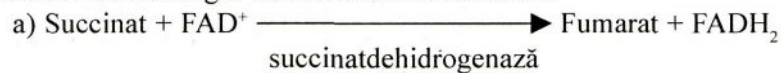


Deci, *randamentul fosforilării oxidative* va fi: $\frac{21,9 \times 100}{52,7} = 40\%$



Formarea de ATP prin fosforilarea ADP-ului cu un fosfat organic poartă numele de fosforilare la nivel de substrat pentru a nu fi confundată cu fosforilarea oxidativă legată de lanțul respirator.

17. Malonatul este inhibitorul competitiv al succinatdehidrogenazei, deoarece este analog structural al succinatului:



Reacția este blocată și se acumulează succinatul.

b) Succinatul se acumulează din cauza inhibiției competitive a succinatdehidrogenazei (structura succinatului - vezi problema 16.).

c) Consumul de oxigen se întrerupe, deoarece se blochează ciclul Krebs care este furnizor de hidrogen sub formă de NADH și FAD·H₂ pentru lanțul respirator;

d) Inhibiția succinatdehidrogenazei poate fi înlăturată prin adăugarea substratului succinatdehidrogenazei (succinat) sau altei substanțe de oxidare a ciclului Krebs (malat, izocitrat, α - cetoglutarat).

18. a) Consumul de oxigen servește ca măsură a activității primelor două etape ale respirației celulare - glicolizei și ciclului acizilor tricarboxilici. Adăugarea oxalilacetatului sau malatului stimulează respirația.

b) Oxalilacetatul (sau malatul) adăugat îndeplinește rolul de catalizator în ciclul Krebs, fiindcă în ultima etapă a ciclului el regenerează.

19. Fosforilarea oxidativă necesită:

1. Integritatea membranei interne mitocondriale. Deteriorarea membranei (rupturi, fisuri) determină disfuncția dintre respirație și sinteza de ATP (transportul de electroni decurge normal dar nu are loc sinteza de ATP).

2. Membrana mitocondrială internă este impermeabilă pentru ionii H^+ , OH^- , K^+ , Cl^- . Dacă membrana devine permeabilă pentru acești ioni, atunci fosforilarea oxidativă nu are loc (agenții decuplanți măresc considerabil permeabilitatea membranei interne pentru ionii H^+ și este anulat gradientul de protoni ai membranei interne).

20.1. Energia eliberată în reacțiile de oxidare din lanțul respirator al mitocondriilor țesutului adipos brun se degajă în mediu sub formă de căldură pentru menținerea temperaturii corpului la nou-născuți.

2. Mecanismele care explică micșorarea cîtului P/O:

- decuplarea fosforilării oxidative;
- consum ridicat de ATP;
- mai puțin de 3 locuri de fosforilare.