

Биохимия

ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

А. А. Чиркин, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой;
Е. О. Данченко, доктор медицинских наук, профессор
Витебский госуниверситет им. П. М. Машерова, кафедра химии

Окислительные процессы лежат в основе не только биоэнергетики. Они также важны для ксенобиологии, радиобиологии и ряда других дисциплин медико-биологического характера. Существуют различные схемы и приемы изучения этой темы. Предлагаем читателям один из вариантов изучения окислительных процессов, предназначенный для формирования абстрактно-предметного типа мышления при изучении химии и биологии (в средней школе) или биохимии (в средних специальных и высших учебных заведениях биологического и медицинского профилей) [1—3].

Аккумуляторы энергии в организме, макроэргические соединения.

В ходе экзергонических реакций (например, окислительных) выделяется энергия. Примерно 40—50 % ее запасается в специальных аккумуляторах. Выделяют три основных аккумулятора энергии.

1. Внутренняя мембрана митохондрий — это промежуточный аккумулятор энергии при получении АТФ. За счет энергии окисления веществ происходит «выталкивание» протонов из матрикса в межмембранное пространство. В результате создается электрохимический потенциал на внутренней мембране митохондрий. При разрядке мембраны энергия электрохимического потенциала трансформируется в энергию АТФ:



Для реализации этого механизма внутренняя мембрана митохондрий содержит ферментативную цепь переноса электронов на кислород и АТФ-синтазу (протонзависимую синтазу АТФ).

2. АТФ и другие макроэргические соединения. Материальным носителем

свободной энергии в органических веществах являются химические связи между атомами. Обычным энергетическим уровнем возникновения или распада химической связи является ~ 12,5 кДж/моль. Однако имеется ряд молекул, при гидролизе которых выделяется более 21 кДж/моль энергии (табл. 1). К ним относятся соединения с макроэргической фосфоангидридной связью (АТФ), а также ацилфосфаты (ацетил-фосфат, 1,3-БФГК), енол-фосфаты (фосфоенолпируват) и фосфогуанидины (фосфокреатин, фосфоаргинин).

Центральное место в приведенной шкале занимает цикл



Это позволяет АТФ быть как универсальным аккумулятором, так и универсальным источником энергии для живых организмов. В клетках теплокровных АТФ как универсальный аккумулятор энергии возникает двумя путями:

- аккумулирует энергию более энергоемких соединений, стоящих выше АТФ в термодинамической шкале, без участия O_2 — субстратное фосфорилирование:

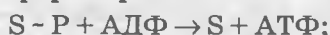


Таблица 1. Стандартная свободная энергия гидролиза некоторых фосфорилированных соединений

Соединение	$\Delta G^{0'}$ (кДж/моль)
Фосфоенолпируват	-61,9
1,3-Бисфосфоглицерат	-49,4
Ацетил-фосфат	-43,1
Фосфокреатин	-43,1
Пирофосфат (PP _n)	-33,5
АТФ (\rightarrow АМФ + PP _n)	-32,2
АТФ (\rightarrow АДФ + P _n)	-30,5
Глюкозо-1-фосфат	-20,9
Фруктозо-6-фосфат	-13,8
Глюкозо-6-фосфат	-13,8
Глицерол-3-фосфат	-9,2

Примечание: 1 ккал = 4,184 кДж.

• аккумулирует энергию электрохимического потенциала при разрядке внутренней мембраны митохондрии — окислительное фосфорилирование.

АТФ является универсальным источником энергии для совершения основных видов работы клетки (движения, трансмембранного переноса веществ, биосинтезов):

- 1) $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АДФ} + \text{P}_n$;
- 2) $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АМФ} + \text{PP}_n$.

Во время интенсивных упражнений скорость использования АТФ может достигать 0,5 кг/мин. Если ферментативная реакция термодинамически невыгодна, то она может осуществиться при сопряжении с реакцией гидролиза АТФ. Гидролиз молекулы АТФ изменяет равновесное отношение субстратов и продуктов в сопряженной реакции в 10^8 раз. К макроэргическим соединениям относят также нуклеозидтрифосфаты, которые обеспечивают энергией ряд биосинтезов: УТФ — углеводов; ЦТФ — липидов; ГТФ — белков. В биоэнергетике мышц важное место занимает креатинфосфат.

3. НАДФН + H^+ (НАДФН₂) — никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный. Это специальный аккумулятор с высокой энергией, который используется в клетке (цитозоль) для биосинтезов:



(здесь показано создание ОН-группы в молекуле).

Строение митохондрий.

1. Внешняя мембрана МХ отграничивает внутреннее пространство; проницаема для O_2 и ряда низкомолекулярных веществ. Содержит ферменты метаболизма липидов и моноаминов.

2. Межмембранное пространство содержит аденилаткиназу:



и ферменты фосфорилирования АДФ, не связанные с дыхательными цепями.

3. Внутренняя мембрана: 20—25 % от всех белков составляют ферменты цепей переноса протонов и электронов и окислительного фосфорилирования. Проницаема лишь для малых молекул (O_2 , мочевины) и содержит специфические трансмембранные переносчики.

4. Матрикс содержит ферменты цикла трикарбоновых кислот, β -окисления жирных кислот (основные поставщики субстратов окисления). Здесь находятся ферменты автономного митохондриального синтеза ДНК, РНК, белков и др.

Пути потребления кислорода (биологическое окисление).

В основе биологического окисления лежат окислительно-восстановительные процессы, определяемые переносом электронов. Вещество окисляется, если те-

ряет электроны или одновременно электроны и протоны (водородные атомы, дегидрирование) или присоединяет кислород (оксигенирование). Противоположные превращения — восстановление.

В фотосинтезе CO_2 восстанавливается (принимает электроны), а H_2O окисляется (теряет электроны) с целью образования углеводов и O_2 в эндергоническом процессе, идущем благодаря энергии света. В клетках эукариот и большинства прокариот в присутствии кислорода происходит окисление углеводов до CO_2 и H_2O с аккумулярованием энергии в виде АТФ. В анаэробном метаболизме АТФ образуется за счет межмолекулярных окислительно-восстановительных реакций различных органических молекул (например, гликолиза) или у некоторых анаэробных бактерий с использованием в качестве акцепторов электронов сульфатов или нитратов [2; 7].

Способность молекул отдавать электроны другой молекуле определяется окислительно-восстановительным потенциалом (редокс-потенциалом, E^0 , или ОВП). Редокс-потенциал определяют путем измерения электродвижущей силы в вольтах. В качестве стандарта принят редокс-потенциал реакции



равный $-0,42$ В. Чем меньше потенциал окислительно-восстановительной системы, тем легче она отдает электроны и в большей степени является

восстановителем. Чем выше потенциал системы, тем сильнее выражены ее окислительные свойства, т.е. способность принимать электроны. Это правило лежит в основе последовательности расположения промежуточных переносчиков электронов от водородов субстратов до кислорода.

При изучении окислительных процессов в клетках мы рекомендуем придерживаться следующей схемы использования кислорода (табл. 2). Здесь рассматриваются три основных пути.

1. Окисление субстрата путем дегидрирования с переносом двух атомов водорода на атом кислорода с образованием H_2O (энергия окисления аккумулируется в форме АТФ, на этот процесс расходуется более 90 % кислорода) или молекулу кислорода с образованием H_2O_2 .

2. Присоединение атома кислорода с образованием гидроксильной группы (повышение растворимости субстрата) или молекулы кислорода (метаболизм и обезвреживание устойчивых ароматических молекул).

3. Образование кислородных свободных радикалов, служащих как для защиты внутренней среды организма от чужеродных макромолекул, так и для повреждения мембран в механизмах окислительного стресса.

Таблица 2. Основные пути использования кислорода в клетках

Окисление субстрата (R)				Свободно-радикальное окисление
Дегидрирование		Оксигенирование		
-2H на $1/2\text{O}_2$	-2H на O_2	$+1/2\text{O}_2$	$+\text{O}_2$	$\text{O}_2^+\cdot$ $\text{HO}_2\cdot$ $\text{HO}\cdot$ $\text{O}_2\cdot$
H_2O	H_2O_2	$\text{R}-\text{OH}$	RO_2	
Тканевое дыхание	Простые окислительные системы	Моноксигенный путь	Диоксигенный путь	
АТФ	Обезвреживание	Обезвреживание	Разрыв ароматических колец	
	Тепло	Тепло		

Типы окисляемых субстратов. Субстраты окисления — это молекулы, которые при окислении дегидрируются (теряют 2H). В основе классификации лежит представление о том, что стандартная свободная энергия окисления НАДН составляет $\Delta G^{\circ} = -218$ кДж/моль. В связи с этой величиной различают три вида субстратов.

1. Субстраты I рода (углеводородные) — сукцинат, ацил-КоА. Средняя энергия отщепления пары электронов около 150 кДж/моль; НАД не может участвовать в дегидрировании субстратов I рода.

2. Субстраты II рода (спиртовые) — изоцитрат, малат. При их дегидрировании возникают кетоны. Средняя энергия отщепления пары электронов около 200 кДж/моль, поэтому НАД может участвовать в дегидрировании субстратов II рода.

3. Субстраты III рода (альдегиды и кетоны) — глицеральдегид-3-фосфат, а также пируват и 2-оксоглутарат. Энергия отщепления пары электронов около 250 кДж/моль. Дегидрогеназы субстратов III рода часто содержат несколько коферментов. При этом часть энергии запасается до цепи переноса электронов.

В зависимости от типа субстрата окисления (т.е. от энергии отщепления пары электронов) выделяют полную и укороченную дыхательные цепи (цепи переноса электронов, ЦПЭ). ЦПЭ — это универсальный конвейер по переносу электронов от субстратов окисления к кислороду, построенный в соответствии с градиентом ОВП. В полную ЦПЭ вступают субстраты II и III рода, в укороченную — субстраты I рода. ЦПЭ встроена во внутреннюю мембрану митохондрий.

Полная дыхательная цепь (ЦПЭ).

1. Субстраты II и III родов передают протоны и электроны (т.е. дегидрируются) на кофермент НАД пиридинзависимых дегидрогеназ. Эти ферменты локализованы в матриксе

митохондрий. Их специфичность определяет апофермент. Кофермент НАД не связан прочно с дегидрогеназой и после реакции дегидрирования субстрата свободно диффундирует к внутренней мембране митохондрий.

2. НАДН-дегидрогеназа локализована во внутренней мембране митохондрий (пересекает ее поперек). Имеет две простетические группы — ФМН и FeS-белки. В переносе двух атомов водорода участвует 6,7-диметилизоаллоксазин (1 и 10 атомы N) ФМН. Далее FeS-белки «забирают» $2e^-$, а оставшиеся $2H^+$ «выталкиваются» в межмембранное пространство и «ждут» момента, когда $2e^-$ зарядят атом кислорода отрицательно, иными словами, на стадии НАДН-дегидрогеназы разделяются потоки протонов и электронов.

3. Два электрона передаются убихинону (CoQ). В тканях человека присутствует CoQ_{10} , так как имеет боковую цепь из 10 изопреновых единиц. CoQ может перемещаться в липидной фазе мембраны и передавать $1e^-$ или $2e^-$ на цепи цитохромов. До CoQ был двух-электронный перенос; после CoQ — одноэлектронный.

4. Каждая молекула восстановленного CoQ передает электрон на цепь цитохромов. (Следовательно, далее должны участвовать по 2 цепи цитохромов). Цитохромы располагаются в соответствии с их редокс-потенциалом.

Цитохромы — это переносчики электронов, содержащие в качестве простетической группы гем и гемоподобные структуры. Гем — производные протопорфирина IX. Гем гемоглобина и гем цитохрома *b* совпадают по строению. При переносе электрона валентность атома железа меняется: $Fe^{3+} \rightleftharpoons Fe^{2+}$. К 6-й координационной связи железа цитохрома *a* может присоединиться HCN, H_2S , CO. При этом валентность железа (Fe^{3+}) становится постоянной и поток электронов прекращается. Это механизм действия дыхательных ядов. Комплекс цитохромов *a+a₃* называют цитохромоксидазой (6 субъединиц, из них 2 — ци-

тохром a и 4 — цитохром a_3). В цитохроме a_3 имеются атомы Cu . Электроны принимаются субъединицами цитохрома a и передаются цитохрому a_3 , который передает их на кислород. Этот перенос сопровождается сменой валентности меди $\text{Cu}^{2+} \rightleftharpoons \text{Cu}^{1+}$. Атом кислорода заряжается отрицательно и приобретает способность взаимодействовать с протонами и образовывать H_2O .

Неполная (укороченная) дыхательная цепь (ЦПЭ).

Начинается от субстратов I рода, и их дегидрирование происходит с помощью связанного с внутренней мембраной митохондрий ФАД-содержащего фермента. Простетические группы ФАД и FeS . ФАД присоединяет два атома H от субстрата. Затем FeS -белки «забирают» $2e$, а 2 протона «выталкиваются» в матрикс, далее электроны передаются на кислород, как и в полной ЦПЭ.

Итак, отличие полной ЦПЭ от укороченной ЦПЭ: 1) субстраты полной ЦПЭ — II и III рода, укороченной — I рода; 2) в укороченной ЦПЭ нет пиридинзависимых дегидрогеназ.

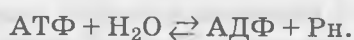
Определение окислительного фосфорилирования.

Синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата, сопряженный с переносом протонов и электронов по дыхательной цепи от субстратов к кислороду, называется окислительным фосфорилированием. Для количественного выражения окислительного фосфорилирования введен коэффициент окислительного фосфорилирования, который представляет собой отношение числа молекул неорганического фосфата, перешедших в состав АТФ в процессе дыхания, на каждый поглощенный атом кислорода. Отношение P/O для полной дыхательной цепи равно 3, для укороченной — 2. Энергия окисления, достаточная для образования молекулы АТФ, выделяется в ЦПЭ в следующих стадиях: 1) НАД — ФМН (НАДН-дегидрогена-

за); 2) цитохром b — цитохром c (QH_2 — цитохром c -редуктаза); 3) цитохром a — $1/2 \text{O}_2$ (цитохром c -оксидаза). На этих стадиях изменения ОВП превышают 0,22 В, что достаточно для образования макроэргической связи АТФ ($> 30,2$ кДж/моль). Уменьшение свободной энергии, сопровождающее перенос протонов и электронов на кислород в результате одного дегидрирования, составляет примерно 220 кДж/моль. При этом на синтез АТФ в полной дыхательной цепи может быть израсходовано $30,2 \cdot 3 = 90,6$ кДж/моль. Отсюда КПД ЦПЭ около 40 %. Остальная энергия рассеивается в виде тепла (поддержание температуры тела).

Механизм окислительного фосфорилирования.

По современным представлениям дыхание и фосфорилирование связаны между собой электрохимическим потенциалом (ЭХП) на внутренней мембране митохондрий. Для объяснения необходимы следующие понятия: а) внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для H^+ и OH^- ; б) во внутреннюю мембрану митохондрий вмонтирована АТФ-синтаза, катализирующая обратимую реакцию:



АТФ-синтаза состоит из следующих субъединиц: F_0 — гидрофобный сегмент из 13 полипептидных цепей, связанный с внутренней мембраной митохондрий; F_0 — это протонный канал, по которому в норме только могут перемещаться протоны через мембрану; F_1 — сопрягающий фактор, катализирующий синтез АТФ при перемещении протонов. В укороченной цепи переноса электронов отсутствует только первый этап, остальной перенос электронов такой же, как и в полной цепи; в) синтез АТФ осуществляется при перемещении протонов через АТФ-синтазу в направлении от ММП (межмембранное пространство) к матриксу.

Суть окислительного фосфорилирования: за счет энергии переноса электронов в ЦПЭ ($E_{\text{окисл}}$) происходит движение протонов через мембрану в ММП и создается электрохимический потенциал ($E_{\text{ЭХП}}$). При возвращении протонов назад через АТФ-синтазу энергия ЭХП трансформируется в энергию АТФ — $E_{\text{АТФ}}$. Итак: $E_{\text{окисл}} \rightarrow E_{\text{ЭХП}} \rightarrow E_{\text{АТФ}}$. В полной ЦПЭ на стадии НАДН-дегидрогеназы протоны от ФМН₂ переносятся в ММП. На этапах $b \rightarrow c_1$ и $a \rightarrow a_3$ (цитохромоксидаза) в ММП также переносятся еще протоны. Протоны берутся из H₂O матрикса или за счет конформационных изменений в ферментах. Со стороны матрикса будет преобладать отрицательный заряд (избыток OH⁻), а

со стороны ММП — положительный (за счет H⁺). Возникает ЭХП, который состоит из двух компонентов: осмотического (разности концентраций ионов H⁺) и электрического (разности электрических потенциалов): $\mu\text{H}^+ = \Delta\phi + \Delta p\text{H}$. Эта величина измерена, она равна -0,25 В (хемиосмотическая гипотеза П. Митчела). При обратном токе протонов через канал АТФ-синтазы (рядка мембраны) возникает 3 молекулы АТФ в полной ЦПЭ и 2 молекулы АТФ в укороченной ЦПЭ (при измерении 2,5 и 1,5, соответственно). Теперь можно суммировать все строение ЦПЭ в виде 5 ферментативных комплексов, привязав их положение к шкале ОВП (таблица 3).

Таблица 3. Компоненты митохондриальной цепи переноса протонов и электронов

ОВП, В	Компоненты ЦПЭ
-0,4	Субстраты II и III рода
-0,3	Комплекс I (полная ЦПЭ). НАДН-дегидрогеназа (КФ 1.6.5.3.). 700—800 кДж, 25—30 субъединиц, 1ФМН, 2Fe ₂ S ₂ , 4—5 Fe ₄ S ₄
-0	Субстраты I рода. Комплекс II (укороченная ЦПЭ). Сукцинатдегидрогеназа (КФ 1.3.5.1.). 125 кДж, 4—6 субъединиц, 1ФАД, 1Fe ₂ S ₂ , 1Fe ₄ S ₄ , 1Fe ₃ S ₄ , 2 убихинона, 1 гем цитохрома b. Комплекс III (обе ЦПЭ). Убихинол-цитохром c-редуктаза (КФ 1.10.2.2.). Около 400 кДж, 11 субъединиц, 2Fe ₂ S ₂ , 2 гема цитохрома b, 1 гем цитохрома c ₁
+0,3	Комплекс IV (обе ЦПЭ). Цитохром c-оксидаза (КФ 1.9.3.1.). Около 200 кДж, 8—13 субъединиц, 2Cu, 1Zn, 1 гем цитохрома a и 1 гем цитохрома a ₃ . Комплекс V (обе ЦПЭ при сопряжении дыхания и фосфорилирования). H ⁺ -транспортирующая АРФ-синтаза (КФ 3.6.1.34.). Больше 400 кДж, 8—14 субъединиц
+0,8	Кислород

Полная ЦПЭ — I, III, IV и V комплексы, укороченная ЦПЭ — II, III, IV и V комплексы.

Дыхательный контроль.

Дыхательный контроль — это регуляция скорости переноса электронов по дыхательной цепи отношением АТФ/АДФ. Чем меньше это отношение (преобладает АДФ), тем интенсивнее идет дыхание (это обеспечивает реакцию

АДФ + P_n → АТФ). Это видно по увеличению потребления кислорода митохондриями после добавки АДФ (эксперименты Чанса) или по усиленному дыханию бегущего человека.

Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования.

Возникает при повышении проницаемости мембраны митохондрий для протонов в любом месте, а не только

в канале АТФ-синтазы. При этом не создается электрохимический потенциал и энергия окисления рассеивается в виде тепла. Так действуют ионофоры (2,4-динитрофенол, валиномицин и др.). Они переносят обратно протоны через мембрану, выравнивая градиенты рН и мембранного потенциала. Лекарственные препараты (аминобарбитал), продукты жизнедеятельности микроорганизмов, избыток тиреоидных гормонов (вызывают накопление ненасыщенных жирных кислот, являющихся ионофорами) и т.д. приводят к разобщению дыхания и фосфорилирования, обеспечивая гипертермию. На разобщении дыхания и фосфорилирования базируется терморегуляторная функция тканевого дыхания. Тканевое дыхание, протекающее в митохондриях и не сопровождающееся образованием макроэргов, называют свободным, или нефосфорилирующим, окислением. Образованная в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях АТФ обменивается на немитохондриальную АДФ с помощью специальных белков транслоказ (транслоказы составляют до 6 % от всех белков внутренней мембраны митохондрий).

Гипоэнергетические состояния.

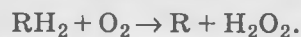
Возникают: 1) при нарушении поступления субстратов для дегидрирования (на всех этапах от пищи до матрикса митохондрий); 2) при нарушении поступления O_2 в митохондрии (на всех этапах дыхания, связь кислорода с гемоглобином, транспорт и пр.); 3) при нарушении мембран митохондрий, композиции липидного бислоя и ферментативных ансамблей внутренней мембраны митохондрий.

В сутки человек потребляет в среднем 27 моль кислорода. Основное его количество (примерно 25 моль) используется в митохондриях в ЦПЭ. Следовательно, ежедневно синтезируется 125 моль АТФ, или 62 кг (при расчете использован коэффициент $P/O=2,5$, т.е. среднее значение коэффициента фосфорилирования). Масса всей АТФ, содержащейся в орга-

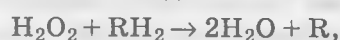
низме, составляет примерно 20—30 г. Следовательно, каждая молекула АТФ за сутки 2500 раз проходит процесс гидролиза и синтеза [4].

Окислительные системы, не связанные с запасанием энергии.

Пероксидазный путь. Другой тип дегидрирования субстратов, заключающийся в переносе двух атомов водорода на молекулу кислорода, называется пероксидазным:



Энергия окисления выделяется в виде тепла. Это *простые окислительные системы, представленные ФМН- и ФАД-содержащими ферментами, а также металлопротеинами.* Они более широко распространены в растительных клетках, чем в клетках животных и человека. Около 80 % этих ферментов сосредоточено в пероксисомах, кроме того, они встречаются в мембранах, граничащих с цитозолем. Так происходит окисление альдегидов, аминов, L- и D-аминокислот, пуринов и др. Некоторые из названных веществ являются токсичными. В лейкоцитах, гистиоцитах и других клетках, способных к фагоцитозу, пероксидазный путь окисления субстратов очень активен. Образующаяся H_2O_2 используется для обезвреживания болезнетворных бактерий и распада инфекционного материала, поглощенного клетками. Однако *избыточное накопление перекиси водорода токсично*, особенно для нефагоцитирующих клеток. Накопление пероксидов и генерация свободных радикалов может приводить к повреждению мембран (рак, атеросклероз). Для предотвращения повреждающего действия пероксидов служат две ферментативные системы. Первая — фермент пероксидаза, простетической группой которой является протогем. Ферменты этого типа широко представлены у растений, а также встречаются в молоке, лейкоцитах, тромбоцитах и тканях, продуцирующих эйкозаноиды:



где RN_2 — аскорбиновая кислота, хиноны, цитохром c , глутатион. В эритроцитах и некоторых других тканях присутствует глутатионпероксидаза, содержащая Se в качестве протестической группы. Этот фермент защищает мембраны и гемоглобин от окисления пероксидами. Второй фермент — каталаза, являющаяся гемопroteinом (4 гема):



Эта реакция напоминает пероксидазную, только вместо RN_2 используется H_2O_2 . Каталазу находят в крови, костном мозге, слизистых оболочках, печени, почках, т.е. в клетках, где происходит интенсивное окисление с образованием H_2O_2 .

Оксигеназный путь. Оксигеназы — это ферменты, катализирующие включение атома или молекулы кислорода в субстрат окисления. Служат для синтеза и деградации различных метаболитов. Оксигеназы представлены двумя типами ферментов.

Монооксигеназы (оксигеназы со смешанной функцией, гидроксилазы, микросомальное окисление) катализируют присоединение одного атома кислорода к молекуле субстрата:



При этом повышается растворимость вещества и проявляются новые фармакологические свойства. Для работы монооксигеназной системы необходимы следующие основные компоненты: неполярный субстрат $\text{R}-\text{CH}_3$; кислород $\text{O}=\text{O}$; дополнительный субстрат $\text{НАДФН} + \text{H}^+$ — донор атомов водорода; цитохром P_{450} . *Связанный с СО цитохром P_{450} имеет максимум поглощения при 450 нм (отсюда название — цитохром P_{450}).* Выполняет две функции: 1) связывание субстрата гидроксилирования; 2) на цитохроме P_{450} происходит активация молекулярного кислорода. Монооксигеназный путь окисления локализован в мембранах эндоплазматического ретикулума (после разрушения клеток эти мембраны замыкаются в микросфе-

ры — микросомы). Микросомальное окисление представляет короткую цепь, включающую НАДФ , ФАД , Fe_2S_2 -белки (аденодоксин), цитохромы P_{450} , b_5 . В общем виде микросомальное окисление неполярных ксенобиотиков (лекарств) осуществляется с помощью гидроксилазного цикла. Первый (основной) субстрат окисления RCH_3 в мембране связывается с цитохромом P_{450} . Второй (вспомогательный) субстрат $\text{НАДФН} + \text{H}^+$ передает протоны и электроны на ФАД и затем с помощью Fe_2S_2 -белков происходит разделение потоков протонов и электронов. Один электрон восстанавливает Fe^{3+} в Fe^{2+} в комплексе цитохром $P_{450}-\text{R}-\text{CH}_3$. Этот комплекс приобретает способность связывать молекулу O_2 . Второй электрон активирует молекулу O_2 в комплексе так, что представляется возможность введения одного атома кислорода в субстрат с образованием гидроксильной группы, а второго атома кислорода — в молекулу H_2O (соединение с двумя протонами). В результате *повышается растворимость субстрата, т.е. возможность его выведения из организма.* Так окисляются многие ксенобиотики, лекарственные вещества. К сожалению, есть исключения. Так, монооксигеназная цепь, окисляя малотоксичный бензпирен (табачный дым, копчености), приводит к образованию токсичного оксибензпирена, являющегося сильным канцерогеном.

Свободнорадикальное окисление. Под свободными радикалами понимают молекулу или ее часть, имеющую *неспаренный электрон на молекулярной или на внешней атомной орбите.* Появление неспаренного электрона — явление у молекулы свободной валентности. Свободные радикалы реакционноактивны и вступают в химические реакции для приобретения недостающего электрона. Полное восстановление O_2 до H_2O требует присоединения 4 электронов: $\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$. При неполном восстановлении (т.е. присоединении 1, 2 или 3e^-) образуются свободнорадикальные формы кислорода:

$O_2^- \cdot$ — супероксидный радикал; $HO \cdot$ — гидроксидный радикал; $HO_2 \cdot$ — пероксидный радикал. Супероксидный радикал может возникать в процессе биохимических реакций (окисление с помощью флавопротеинов, в цепях монооксигеназных реакций и др.).

Свободные радикалы иницируют цепные реакции. Если в реакцию вступают ненасыщенные жирные кислоты, то говорят о пероксидном окислении липидов (этот процесс важен для заболеваний, связанных с повреждением мембран).

1. Инициация при действии $R \cdot$, металлов, излучений: $X \cdot + RH \rightarrow R \cdot + XH$.

2. Удлинение, разветвление: $R \cdot + O_2 \rightarrow ROO \cdot$ (пероксидный радикал). $ROO \cdot + RH \rightarrow R \cdot + ROOH$ (гидроперекись) и т.д.

3. Терминация (обрыв цепи): $ROO \cdot + R_1 \cdot \rightarrow ROOR_1$; $R \cdot + R_1 \cdot \rightarrow RR_1$.

Применительно к фрагменту ненасыщенной жирной кислоты можно показать ранние, средние и поздние продукты перекисного окисления. Во всех полиненасыщенных жирных кислотах присутствует дивинилметановая структура, которая легко вступает в реакцию отрыва протона, сопровождающуюся образованием свободного радикала. Ранние продукты ПОЛ — диеновые конъюгаты; средние продукты ПОЛ — гидроперекиси; конечные продукты ПОЛ — малоновый диальдегид. Эти процессы лежат в основе повреждения мембран клеток. Перспективно определение в выдыхаемом воздухе этана, который выделяется при окислении ω_3 -жирных

кислот, например α -линоленовой 18:3, $\Delta^{9,12,15}$, а также пентана — при окислении ω_6 -жирных кислот, например линолевой 18:2, $\Delta^{9,12}$ или арахидоновой 20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$.

Антиоксидантная защита. Сдерживание процессов свободнорадикального окисления осуществляется с помощью неферментативных и ферментативных механизмов.

1. Неферментативная защита включает: комплексоны, связывающие металлы (этилендиаминотетрауксусная кислота); в водной фазе — витамин С, ураты, ароматические амины, SH-соединения; в липидной фазе — жирорастворимые витамины А (β -каротин), Е, гормоны стероидной природы, тироксин.

2. Ферментативная защита включает супероксиддисмутазу (в цитозоле простетическая группа — Cu^{2+} , Zn^{2+} , в митохондриях и у бактерий — Mn^{2+}) $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Перекись водорода обезвреживается в каталазной или пероксидазной (чаще глутатионпероксидазной) реакциях. Активатор реакции — Se. В продукты питания добавляют антиоксидантные добавки: β -каротин, α -токоферол, ВНА — бутиловый гидроксианизол, ВНТ — бутиловый гидрокситолуен. Для профилактики радиационных поражений используют комплексы витаминов А, Е, С и β -каротин, Е, С [2; 5—7].

В заключение следует заметить, что многие отечественные биохимики предпочитают пользоваться латинскими сокращенными аббревиатурами соединений, участвующих в энергетическом обмене (NAD, FMN, FAD, ATP и др.) [4].

1. Чиркин, А. А., Гидранович, В. И., Смагина, Е. С. Проблемы преподавания основ биохимии в средней школе // *Хімія: проблеми викладання*. — 2003. — № 2. — С. 34—38.
2. Чиркин, А. А. Курс лекций по биологической химии. — Витебск: ВГМУ, 2002. — 312 с.
3. Чиркин, А. А. Практикум по биохимии. — Мн.: Новое знание, 2002. — 512 с.
4. Северин, Е. С., Алейникова, Т. Л., Осипов, Е. В. Биохимия. — М.: Медицина, 2000. — 168 с.
5. Lehninger, A. Principles of Biochemistry. — New York: Worth Publishers Inc., 1987. — 1011 p.
6. Nelson, D. L., Cox, M. M. Lehninger, A. Principles of Biochemistry. — New York: Worth Publishers Inc., 2000. — 1152 p.
7. Voet, D., Voet, Ju. G. Biochemistry. — New York: John Wiley and Sons, Inc., 1995. — 1360 p.