

Οξειδωτική Φωσφορυλίωση

Χρήστος Κρούπης, MSc, PhD

Επίκουρος Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

Αττικόν Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Υψηλή Οξειδωτική Φωσφορυλίωση

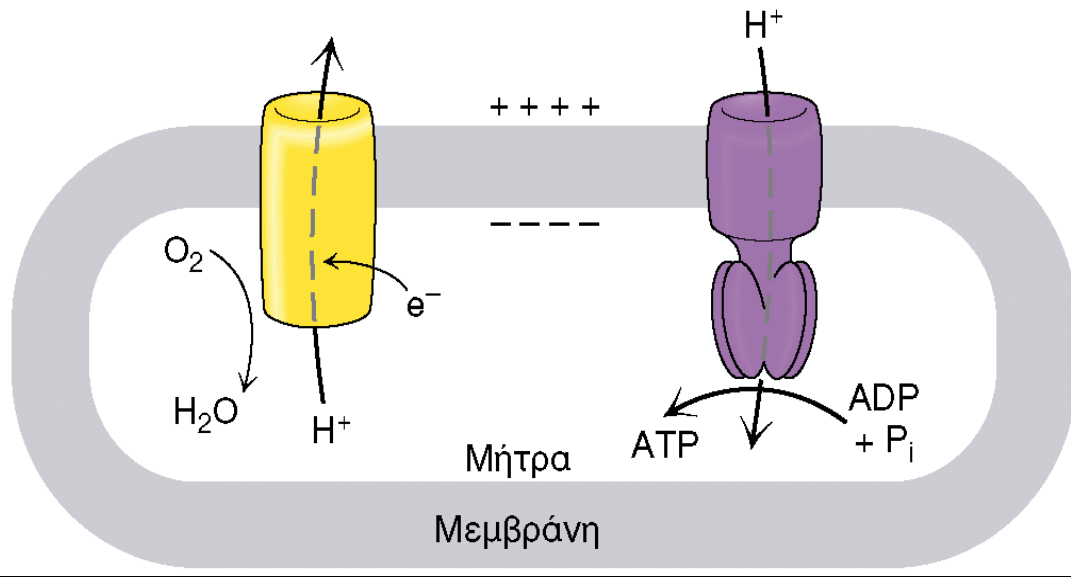
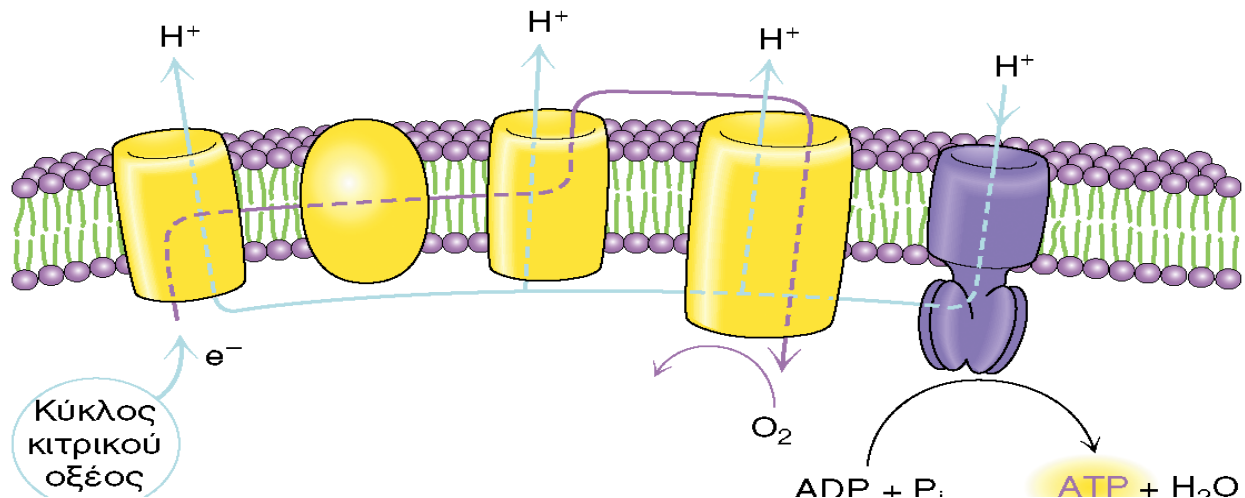
- “Lehninger’s Principles of Biochemistry” by *D.L. Nelson and Michael Cox*, 4th ed (2005) κεφ. 19.1-19.5
- Harper’s Βιολογική Χημεία, κεφ. 13 και 45

Άλλες πηγές Βιβλιογραφίας:

- “Textbook of Biochemistry with clinical correlations” by *T. M. Devlin*, 6th ed (2006), κεφ. 14.5-14.10
- “Basic knowledge of Biochemistry w/t Pathobiochemistry” by *G. Loffler*, 4th ed (2005) κεφ. 8
- “Color atlas of Biochemistry” by *J. Koolman, K.H. Roehm*, 2nd ed (2004) σελ. 122-127, 140-147
- “Biochemistry” by *J.B. Berg, J.L. Tymoczko and L. Stryer*, 5th ed (2002) κεφ. 18
- “Basic Medical Biochemistry: a clinical approach” by *D.B. Marks, A.D. Marks and C.M. Smith* (1996), κεφ. 20-21

Σύνοψη ύλης οξειδωτικής φωσφορυλίωσης

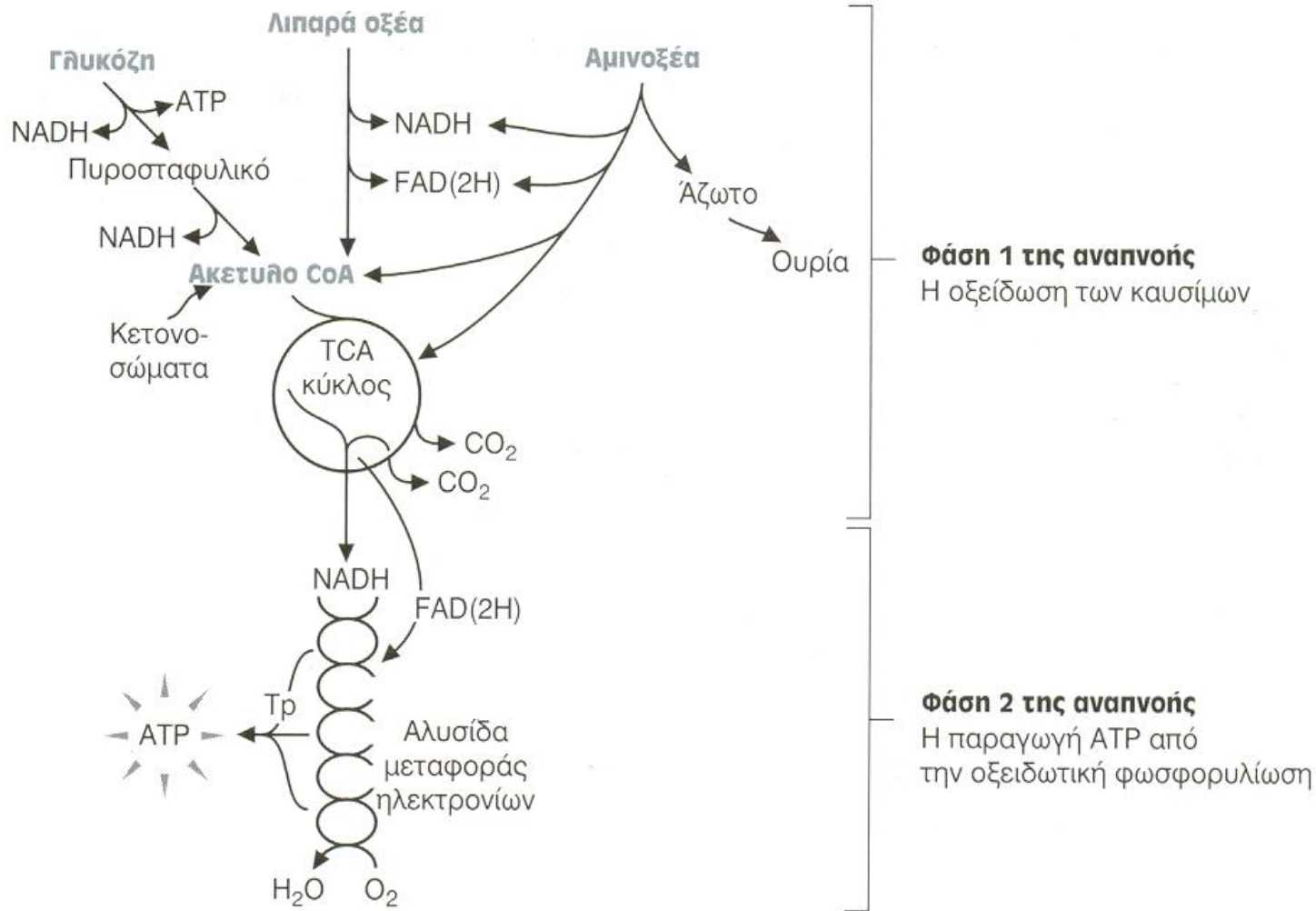
- ❖ Μιτοχόνδρια
- ❖ Αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσω πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων I-IV στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων
- ❖ Σύνθεση ATP στο σύμπλεγμα V
- ❖ Ρύθμιση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης
- ❖ Μεταφορείς ενώσεων – αναστολείς οξειδωτικής φωσφορυλίωσης - αποσύζευξη
- ❖ Μιτοχονδριακά γονίδια: προέλευση και συνέπειες των μεταλλάξεων
- ❖ Ο ρόλος των μιτοχονδρίων στην απόπτωση
- ❖ Δημιουργία ελεύθερων ριζών (οξειδωτικό stress)



*Ηλεκτρονιοκίνητη
→
πρωτονιοκίνητη
δύναμη*

Ταχύτητα μεταφοράς
 $10^4 e^- / \text{sec}$

- ◆ Ροή ηλεκτρονίων σε φορείς μεμβρανών
- ◆ Ροή ηλεκτρονίων συζευγμένη με μεταφορά πρωτονίων (H^+)
- ◆ Διαμεμβρανική ροή πρωτονίων διαμέσου διαύλου → *ελεύθερη ενέργεια* για ATP σύνθεση



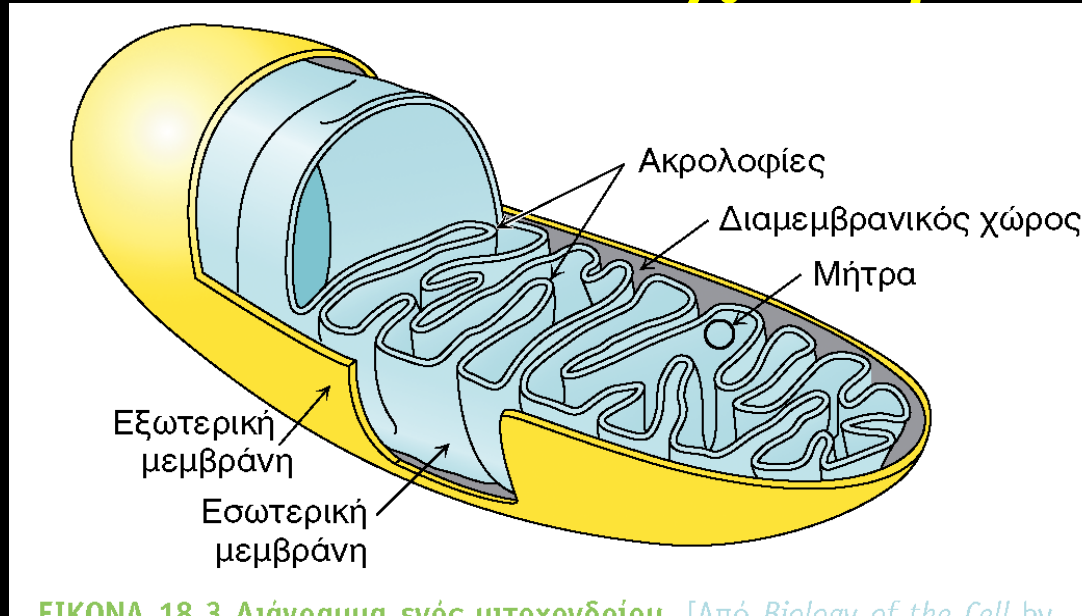
Σχήμα 18.2. Κυτταρική αναπνοή. Δp = Βαθμίδωση πρωτονίων.

25 από τα 30 ATP της γλυκόλυσης παράγονται στα μιτοχόνδρια
 2 ATP στο κυττοσόλιο (1,3-BPG → 3-PG, PEP → Pyruvate)

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΙ ΣΤΑΘΜΟΙ

- ◆ Η οξειδωτική φωσφορυλίωση γίνεται στα **μιτοχόνδρια** (Eugene Kennedy, Albert Lehninger 1948)
- ◆ Οι σιδηροθειούχες πρωτεΐνες (Helmut Beinert, John Rieske)
- ◆ Η ανακάλυψη και η απομόνωση του παράγοντα **F1** της ATP-συνθάσης (Efraim Racker 1963)
- ◆ Καθορισμός της δομής του **F1** με κρυσταλλογραφικές μελέτες (John Walker, βραβείο Nobel 1997)
- ◆ Ανακάλυψη του μηχανισμού **περιστροφικής κατάλυσης** της ATP-συνθάσης (Paul Boyer, βραβείο Nobel 1997)
- ◆ Η **χημειωσμοτική θεωρία** (Peter Mitchell 1961, βραβείο Nobel 1978)

Μιτοχόνδρια



G. Palade

Ακρολοφίες ή ελάσματα ή πτυχές (**crístae**)

Μήτρα ή στρώμα ή θεμέλιος ουσία ή μιτοχονδριακή ουσία (**matrix**)

Εξωτερική μεμβράνη (60-70% σε πρωτεΐνες) διαπερατή από όλα τα μικρά μόρια/ίόντα (<5-10 kDa) μέσω πορίνης ή VDAC (Voltage-dependent anion channel)

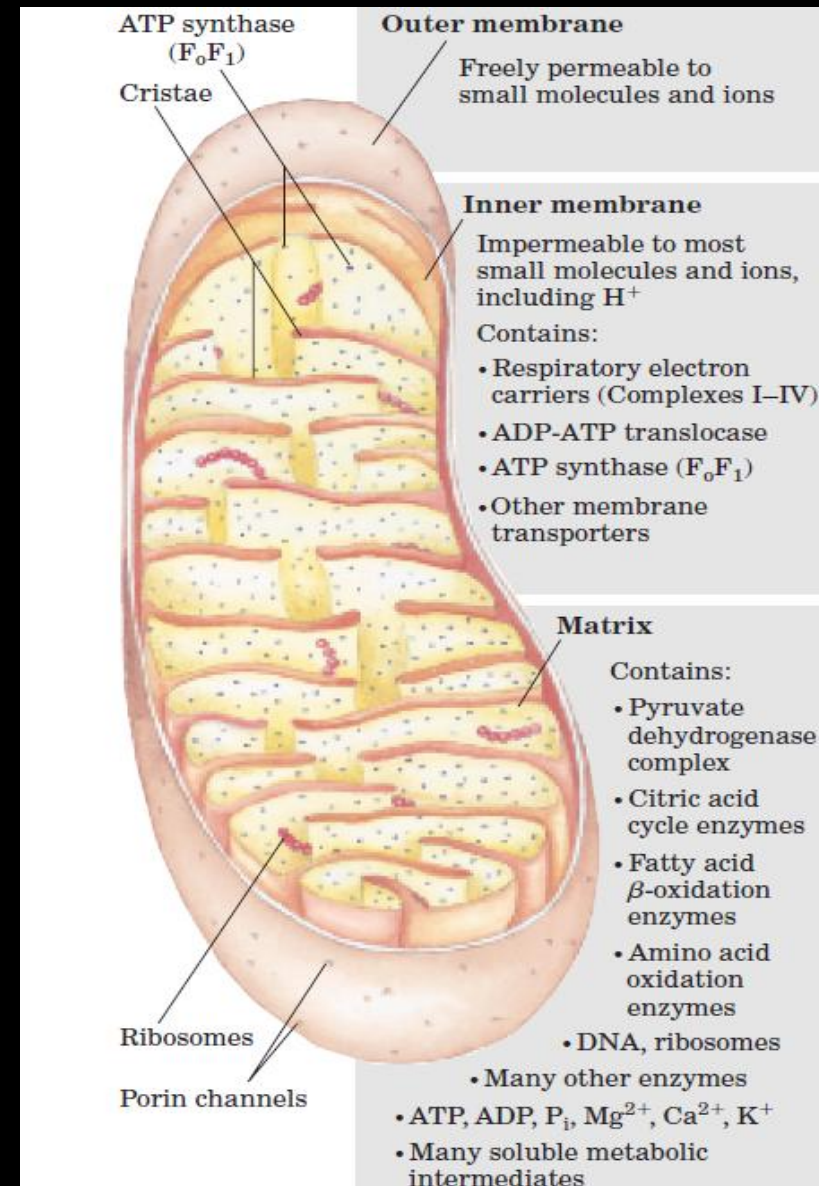
Εσωτερική μεμβράνη (80% σε πρωτεΐνες- υπόλοιπο καρδιολιπίνη κλπ) αδιαπέραστη – κίνηση ορισμένων μορίων μέσω ειδικών μεταφορέων

-Στο ήπαρ: 800-2000 σφαιρικά μιτοχόνδρια

-Στην καρδιά: τριπλάσιος αριθμός από επιμήκη μιτοχόνδρια (~ήμισυ κυτταρικού όγκου) με πιο εκτεταμένα ελάσματα (τριπλάσιος αριθμός συστημάτων οξειδωτικής φωσφορυλίωσης)

-Στα ερυθροκύτταρα: κανένα!

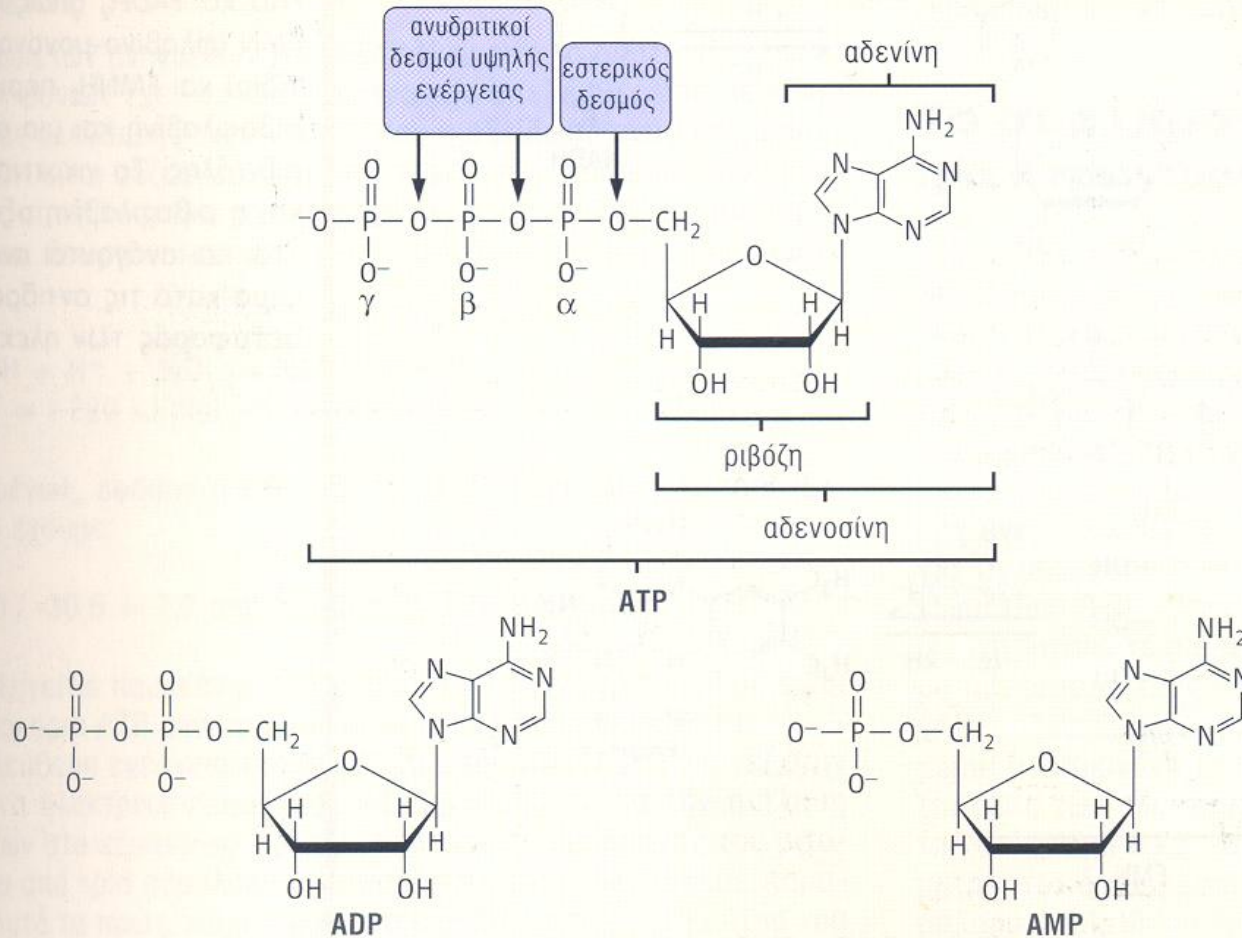
Τα μιτοχόνδρια εξελίχθησαν από ενδοσυμβιωτικά βακτήρια



Διαμεμβρανικός χώρος ή πλευρά κυτοσολίου (πλευρά P positive)
Πλευρά της μήτρας ή στρώμα (πλευρά N negative)

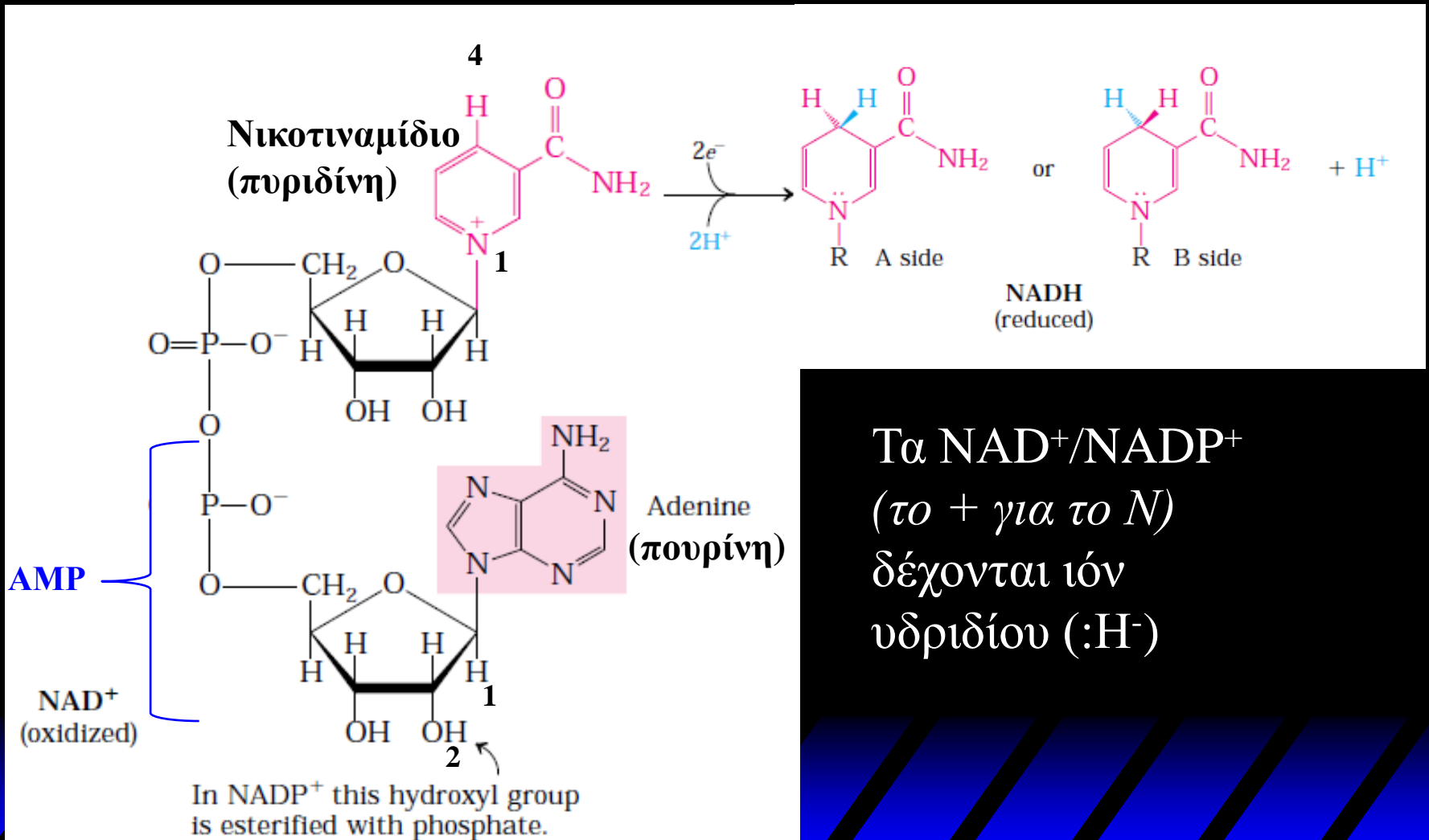
ATP - ADP

Δομή της ATP και των προϊόντων της υδρόλυσής της



$\text{NAD}^+/\text{NADP}^+ \leftrightarrow \text{NADH}/\text{NADPH}$

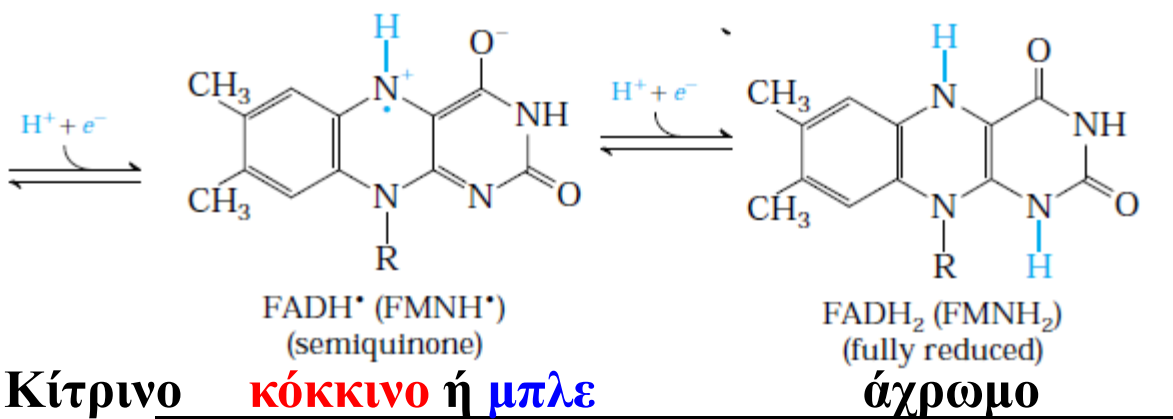
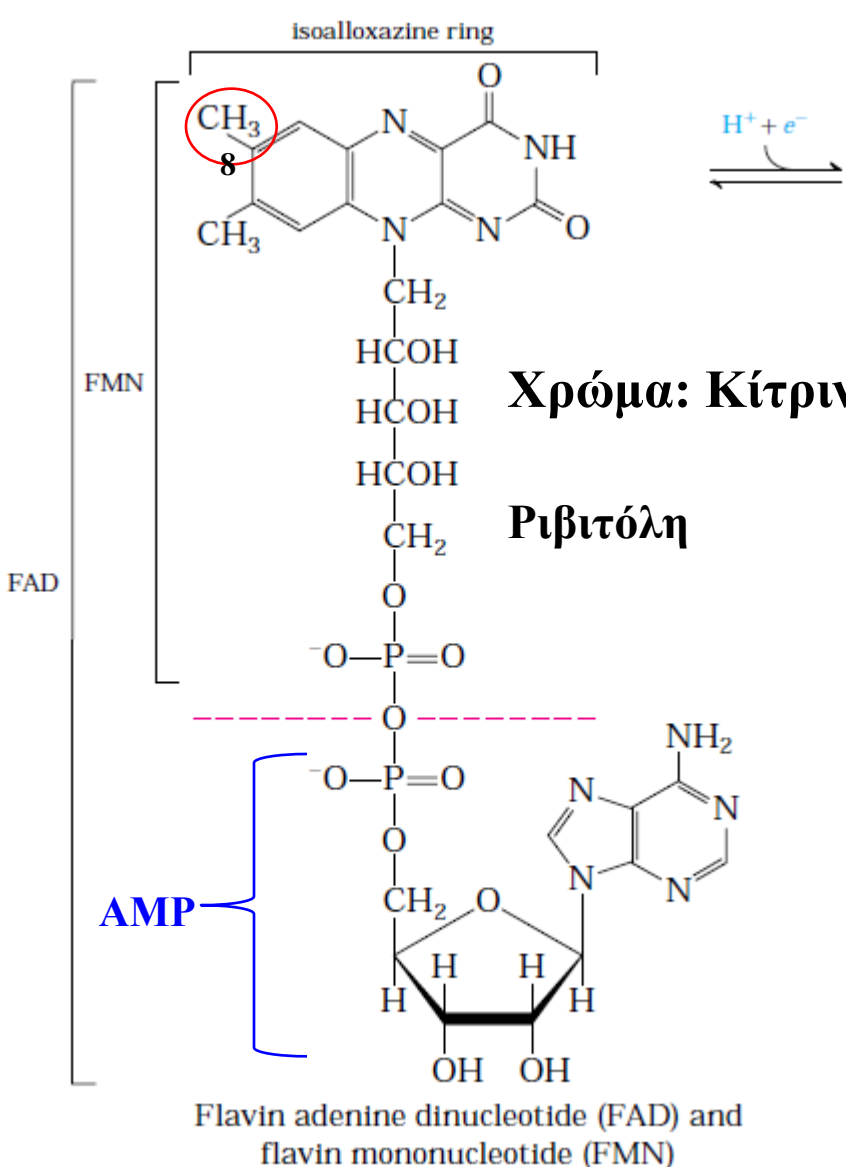
υδατοδιαλυτά διουκλεοτίδια -φορείς ηλεκτρονίων
συνένζυμα αφυδρογονασών



Τα $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$
(το + για το N)
δέχονται ιόν
υδριδίου (:H⁻)

FMN/FAD ↔ FMNH/FADH ↔ FMNH₂/FADH₂

ως προσθετικές ομάδες στις φλαβοπρωτεΐνες



Χρώμα: Κίτρινο

κόκκινο ή μπλε

άχρωμο

Ριβιτόλη

υδροκινόνη

Ριβοφλαβίνη (B2 βιταμίνη)

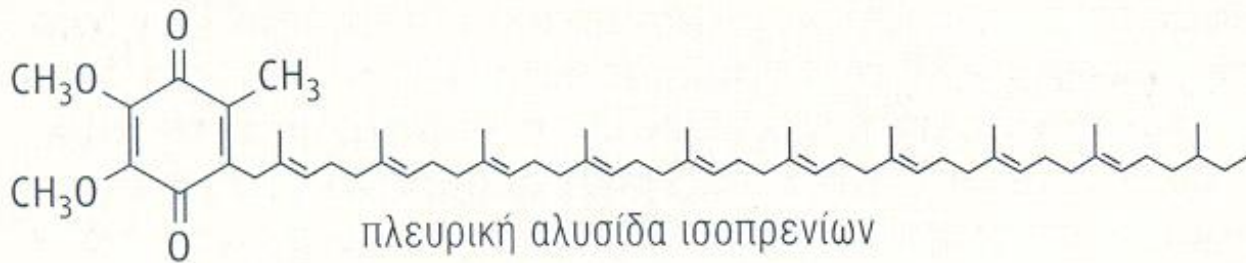
Ριβόζη + **φλαβίνη**

φωτοευαίσθητη

FMN: φωσφορυλιωμένη ριβοφλαβίνη

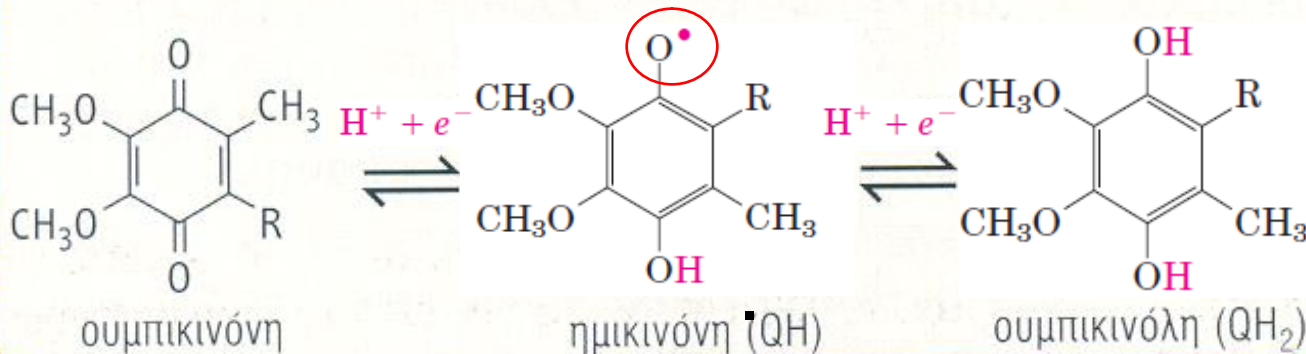
Υδρόφοβος *ubiquitous quinone* μεταφορέας ηλεκτρονίων: Διαχέεται ελεύθερα στην εσωτερική μεμβράνη

Συνένζυμο Q₁₀



10 ισοπρένια

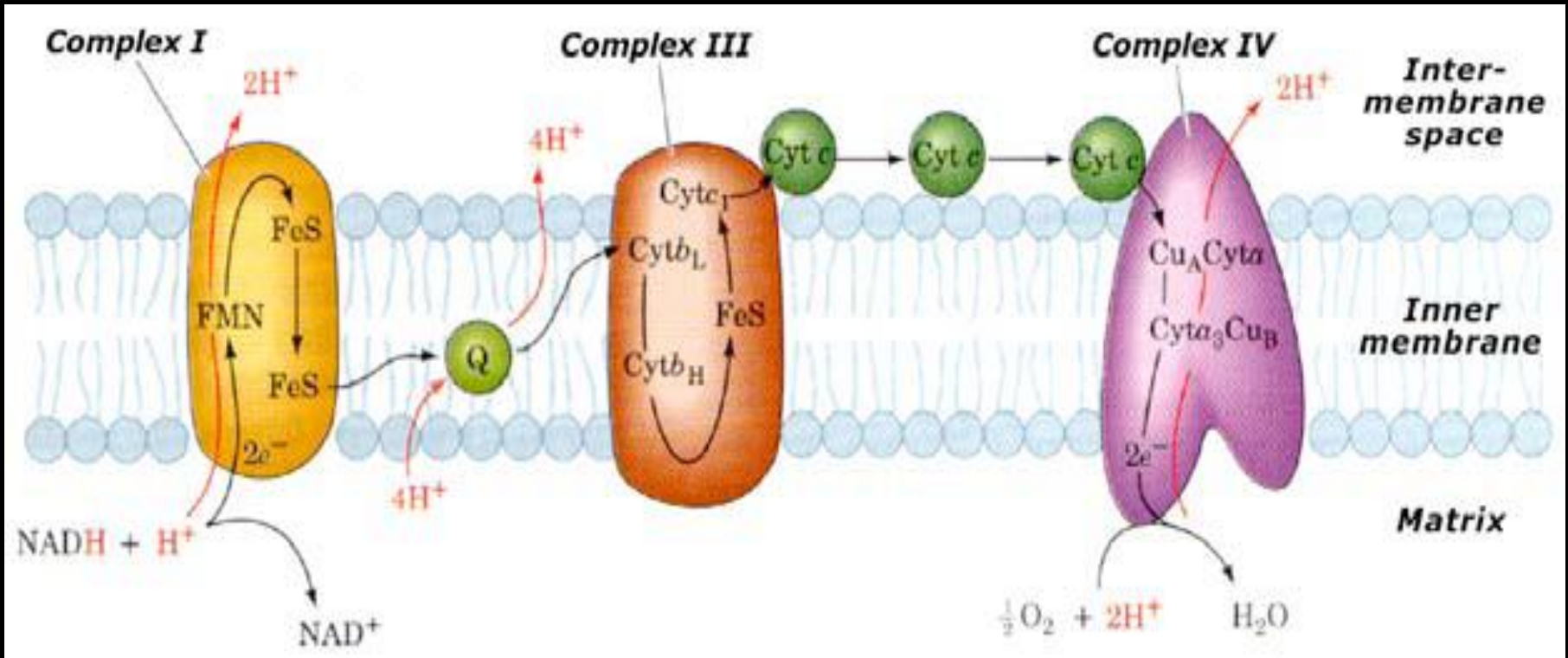
συνένζυμο Q₁₀ (ουμπικινόνη)



Οξειδωμένη μορφή Q

πλήρως ανηγμένη QH₂

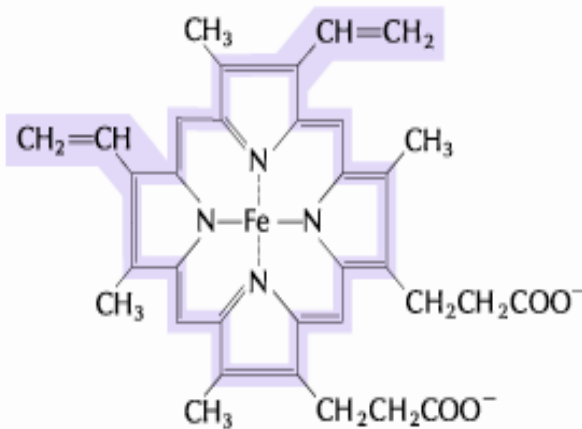
Μεταφορείς Αναπνευστικής αλυσίδας



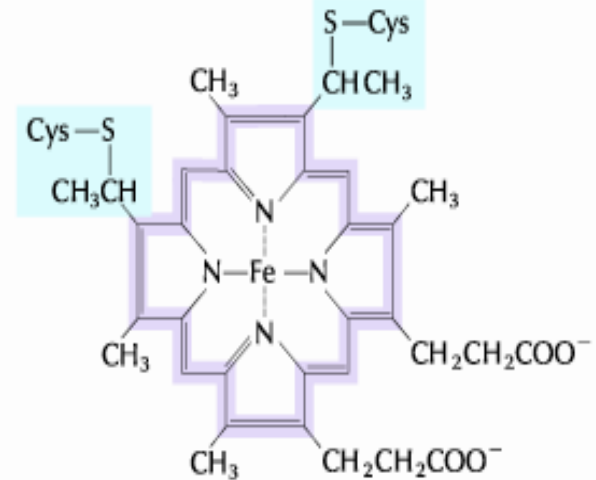
- ◆ συλλογή από ένζυμα- πρωτεϊνικά συμπλέγματα με καθορισμένη θέση στη εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη
- ◆ έχουν ως συμπαράγοντες οξειδο-αναγωγικά ζεύγη που μπορούν να μεταφέρουν:
 - ◆ είτε υδρογόνα (και εμμέσως ηλεκτρόνια όπως NAD, FMN, FAD, ουβικινόνη)
 - ◆ είτε άμεσα ηλεκτρόνια (όπως κυτοχρώματα, Fe-S πρωτεΐνες)

Άμεση μεταφορά ηλεκτρονίων με κυτοχρώματα (Fe/αίμη)

560 nm



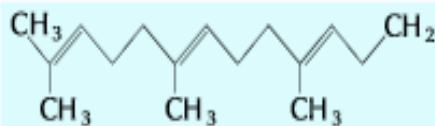
Σιδηρούχος πρωτοπορφυρίνη IX
(σε κυτοχρώματα τύπου b) +Myo, Hgb
(χωρίς ox/red)



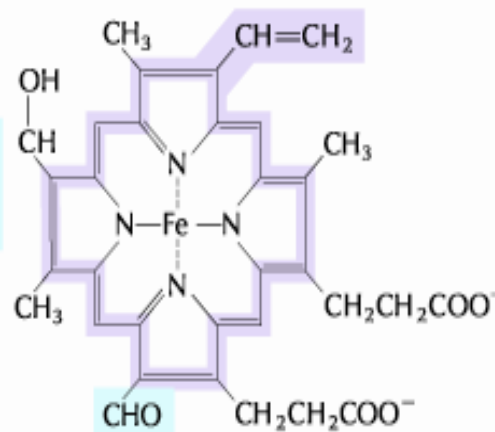
Αίμη C
(σε κυτοχρώματα τύπου c)

550 nm

ισοπρένιο



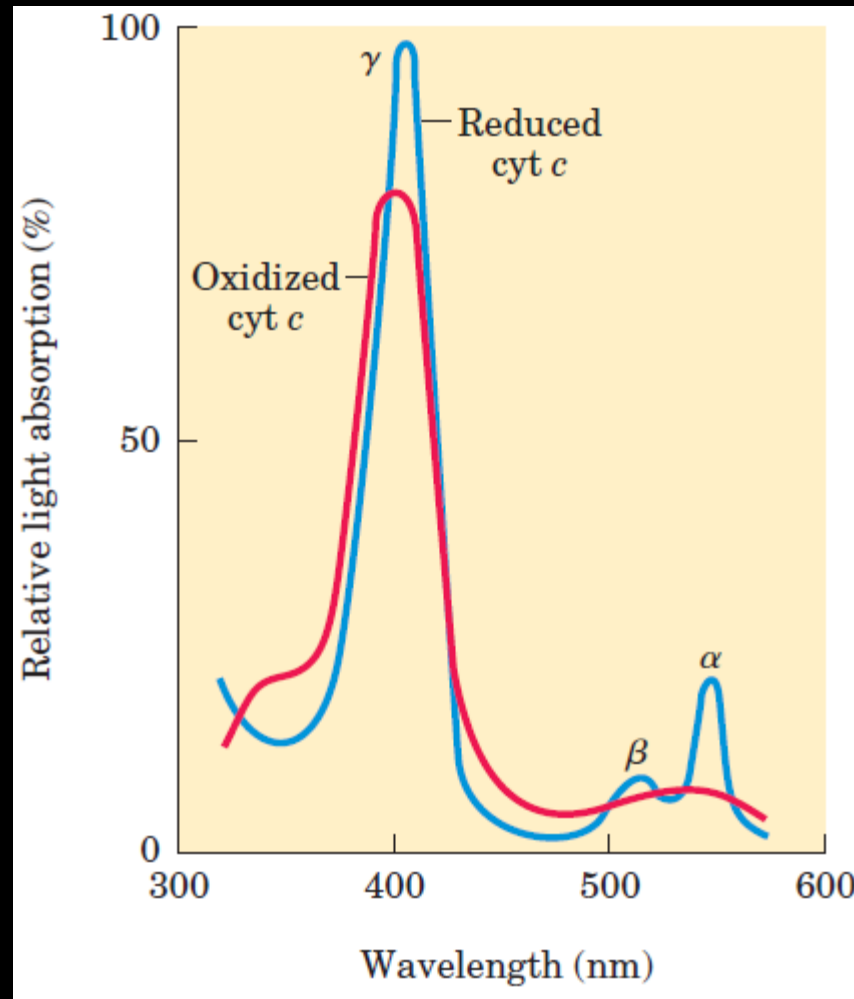
600 nm



Αίμη A
(σε κυτοχρώματα τύπου a)

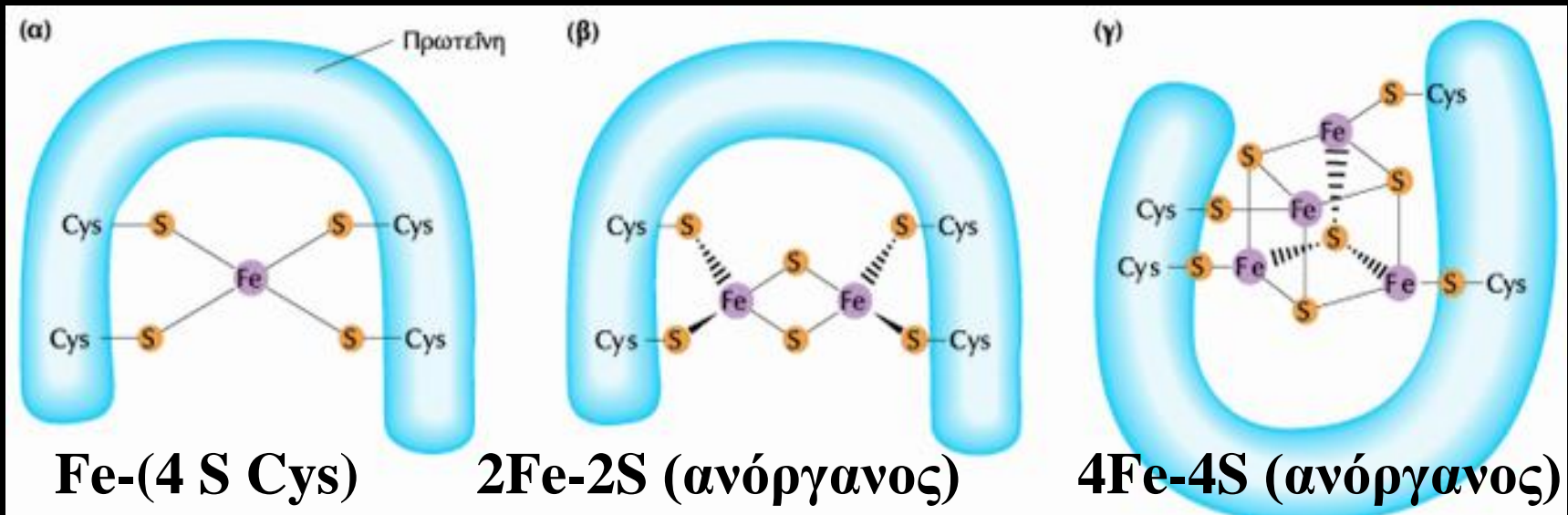
Δακτύλιος
πορφυρίνης

Φάσμα απορρόφησης κυτοχρώματος c



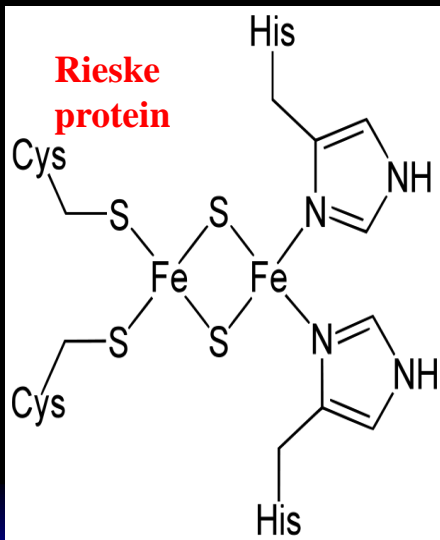
Οξειδωμένη μορφή (Fe^{+3}) μία ζώνη στα 400 nm –
Ανηγμένη (Fe^{+2}) τρεις ζώνες με μέγιστο (α ζώνη) στα 550 nm

ΣΙΔΗΡΟ-ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (ISP)



a) ΣΙΔΗΡΟ-ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ
ΤΟΥ HELMUT BEINERT
με κέντρα **Fe-S** (3 τύποι)

b) ΣΙΔΗΡΟ-ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ
ΤΟΥ **JOHN RIESKE**
με κέντρα **2Fe-2S (ME 2 HIS)**



Συνήθως μόνο το ένα άτομο Fe μετέχει στην οξειδοαναγωγή

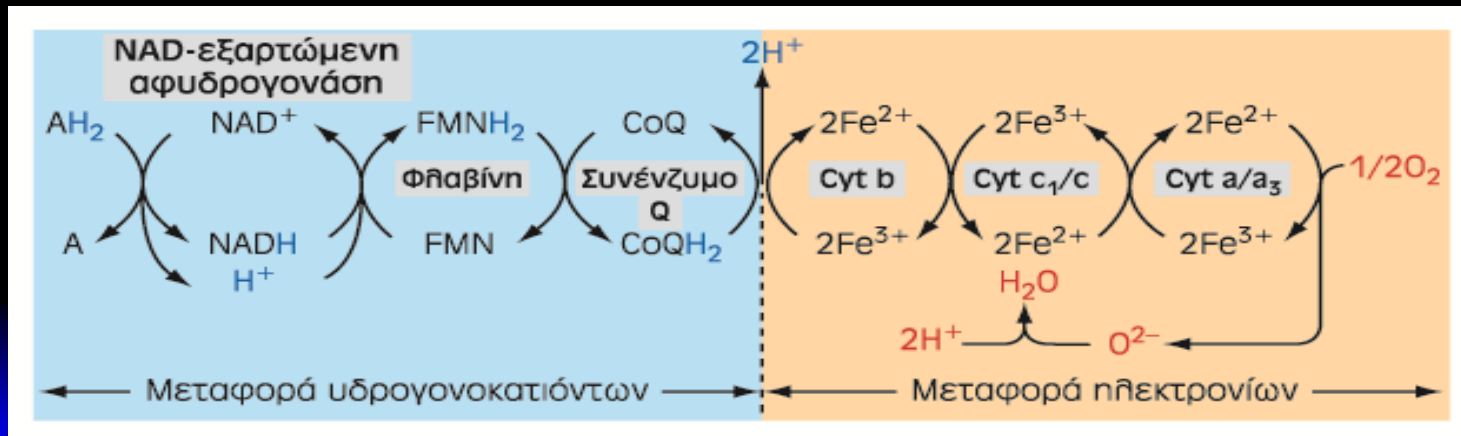
Τουλάχιστον 8-10 ISP συμμετέχουν στην αλυσίδα ηλεκτρονίων

Δυναμικό οξειδοαναγωγής

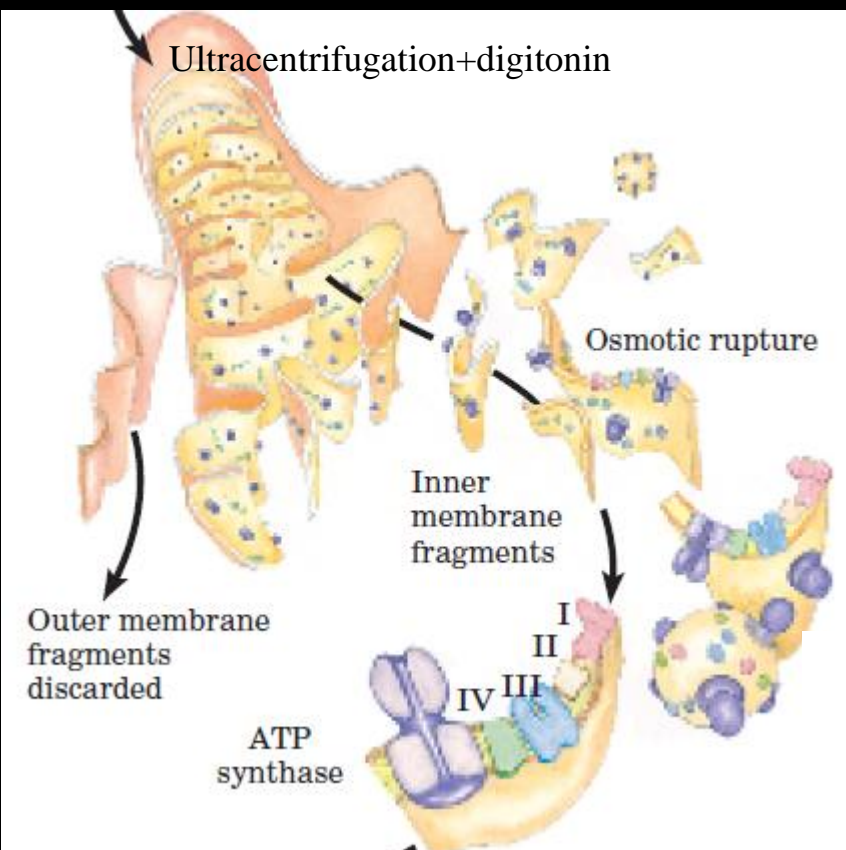
- ◆ Γιατί τα ηλεκτρόνια στην αναπνευστική αλυσίδα κινούνται προς το οξυγόνο?
- ◆ Στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις μετακινούνται ηλεκτρόνια
- ◆ Χαρακτηριστικά των οξειδοαναγωγικών ζευγών:
 - ο δότης ηλεκτρονίων είναι το οξειδωτικό μέρος του ζεύγους
 - ο δέκτης ηλεκτρονίων είναι το αναγωγικό μέρος του ζεύγους
- ◆ μέτρο της ισχύος του ζεύγους το πρότυπο δυναμικό αναγωγής E'^0 (σύγκριση προς το πρότυπο ηλεκτρόδιο υδρογόνου)
- ◆ το δυναμικό οξειδοαναγωγής διαβαθμίζει τα ζεύγη
- ◆ η κατεύθυνση της ροής των ηλεκτρονίων είναι:
 - από το υψηλό αρνητικό δυναμικό αναγωγής προς το θετικότερο

TABLE 19-2 Standard Reduction Potentials of Respiratory Chain and Related Electron Carriers

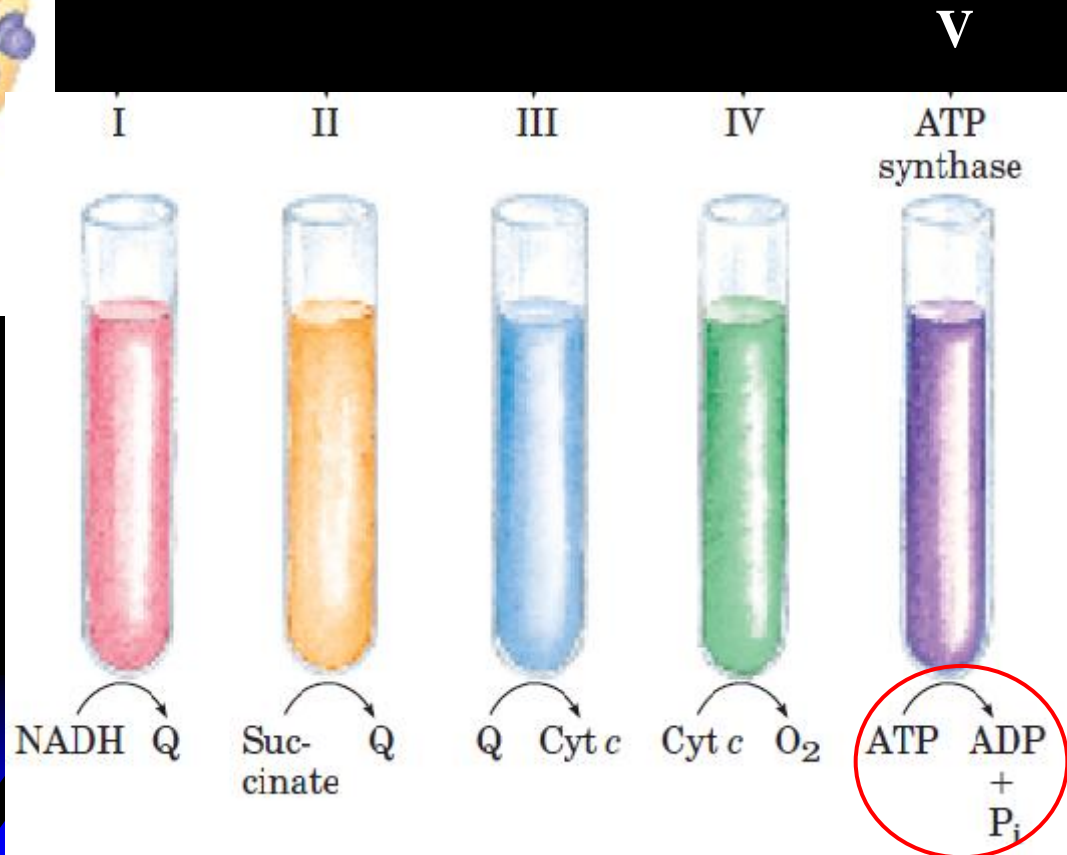
Redox reaction (half-reaction)	E'° (V)
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2)$	-0.30
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{cytochrome } b (\text{Fe}^{2+})$	0.077
$\text{Cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0.22
$\text{Cytochrome } c (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{cytochrome } c (\text{Fe}^{2+})$	0.254
$\text{Cytochrome } a (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{cytochrome } a (\text{Fe}^{2+})$	0.29
$\text{Cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0.35
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.8166



Τα πρότυπα δυναμικά E'° δεν ταυτίζονται με τα πραγματικά δυναμικά E'



Πειραματικά δεδομένα από κατεργασία απομονωμένων μιτοχονδρίων *in vitro*



Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής

Σύμπλοκα I-IV

	Σύμπλοκο	Μάζα	Αριθμός υπομονάδων	Προσθετική ομάδα (ες)
I	Δεϋδρογονάση NADH	850	43	FMN, Fe-S
II	Δεϋδρογονάση ηλεκτρικού	140	4	FAD, Fe-S, αίμη b
III	Οξειδοαναγωγή Q: κυτοχρώματος c	250	11	Αίμες b_L, b_H, c₁, Fe-S
	Κυτόχρωμα c	13	1	Αίμη c
IV	Οξειδάση κυτοχρώματος	160	13	Αίμες α, α₃, CuA, CuB

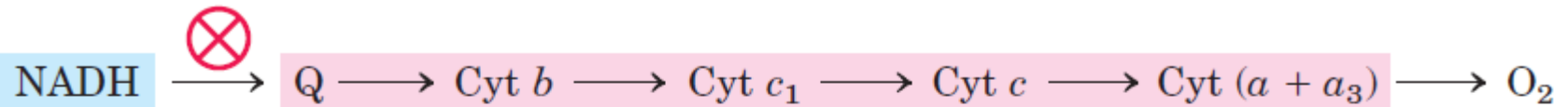
Η ATP συνθάση καλείται και **σύμπλοκο V**

Χρήση αναστολέων αναπνευστικής αλυσίδας

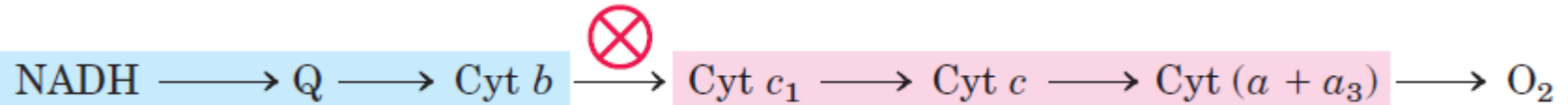
Αναγωγή

Οξείδωση

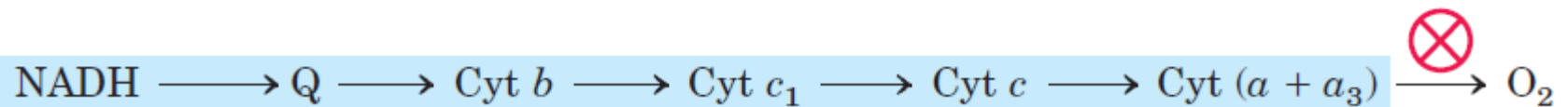
rotenone



antimycin A



CN⁻ or CO

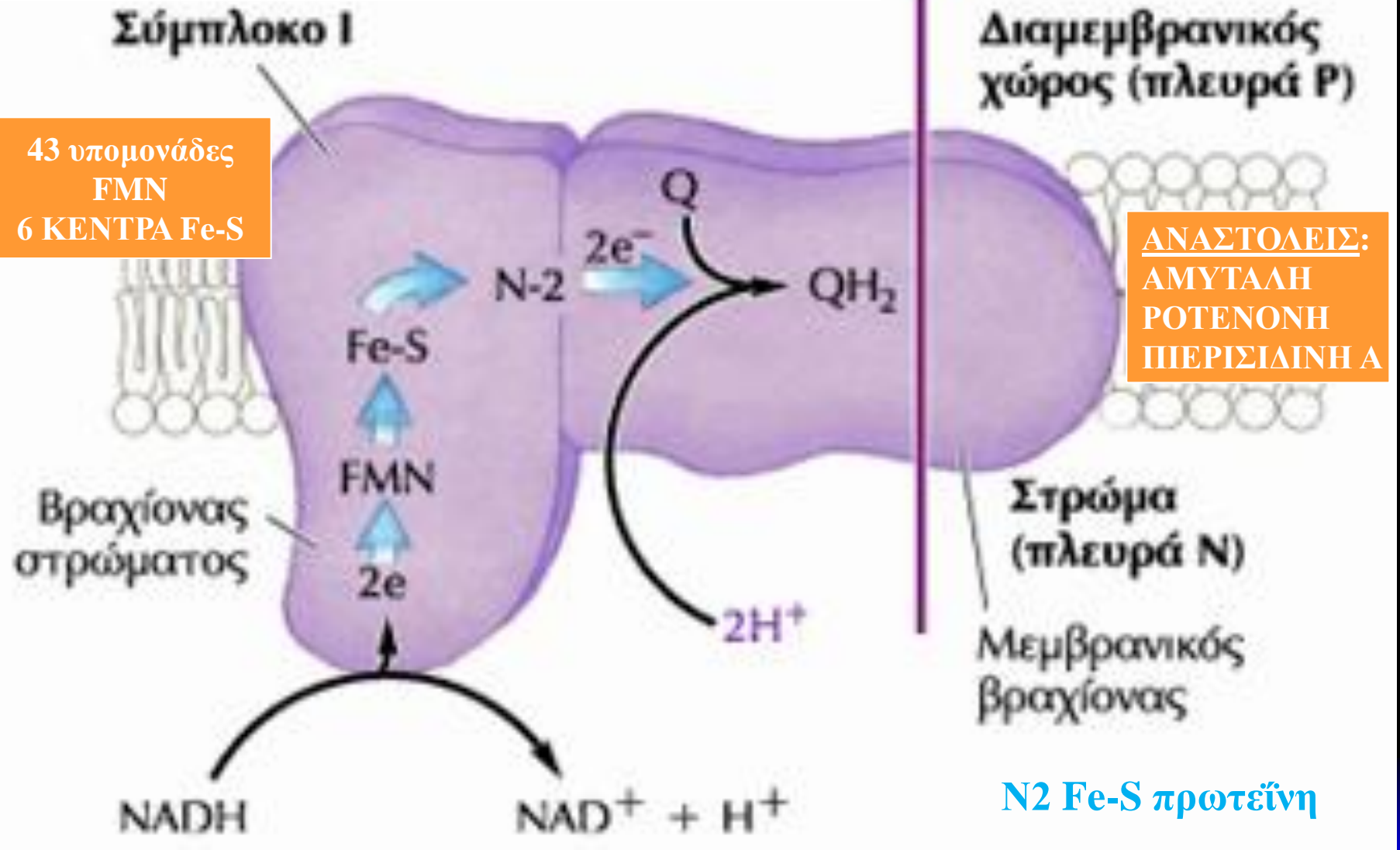


Σύμπλοκο I \rightarrow Q \rightarrow Σύμπλοκο III \rightarrow cyt *c* \rightarrow Σύμπλοκο IV

Διανυσματική (μεταφορική, vectorial) αντίδραση συμπλόκου I

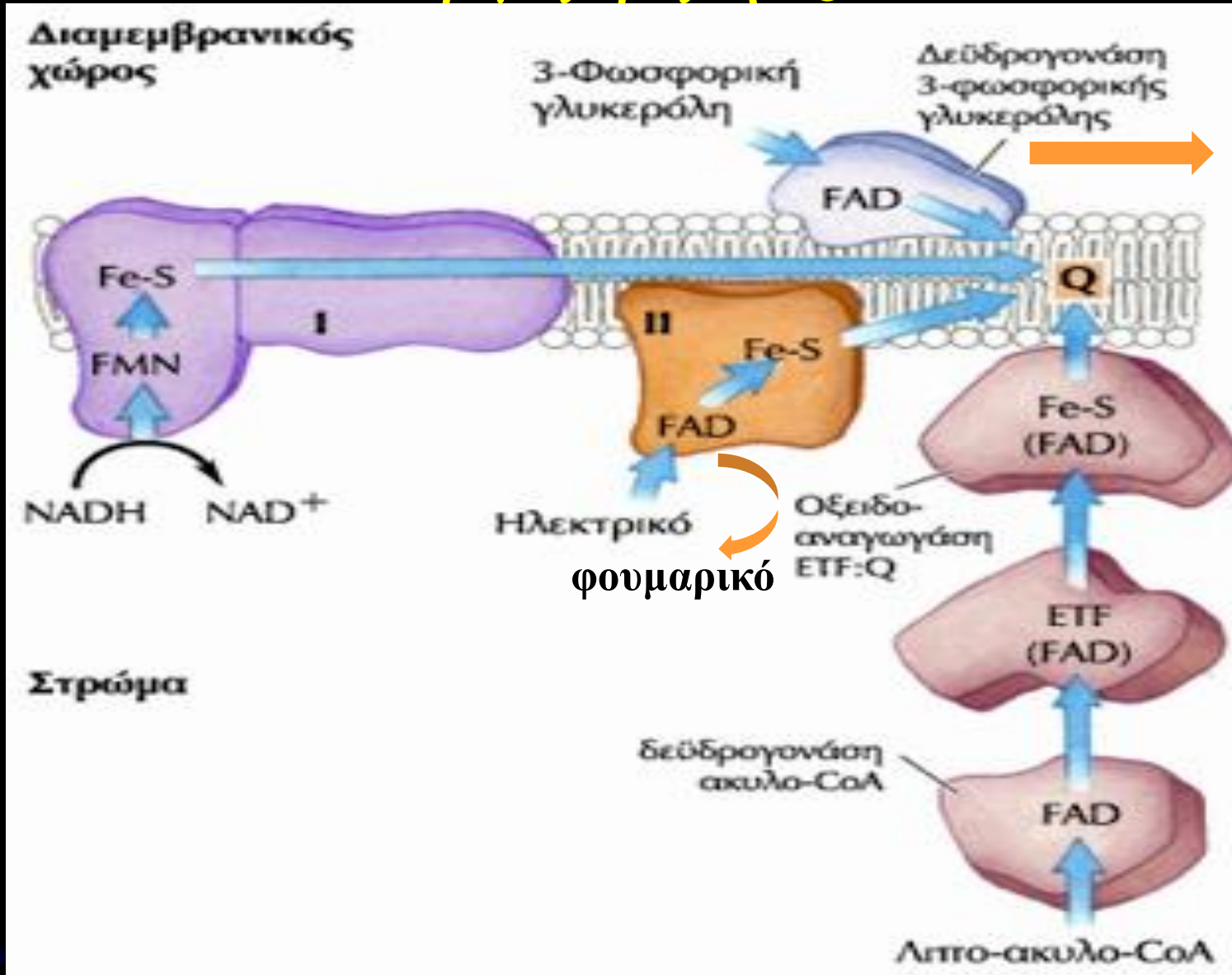


43 υπομονάδες FMN
6 ΚΕΝΤΡΑ Fe-S



Μεταφορά ιόντος υδριδίου (2 e⁻) και ενός H⁺ από στρώμα

Ο δρόμος προς την Q



Υδρολύση
Trig
P-διωδρόξυ
ακετόνη

Electron
Transfer
Flavo-
protein

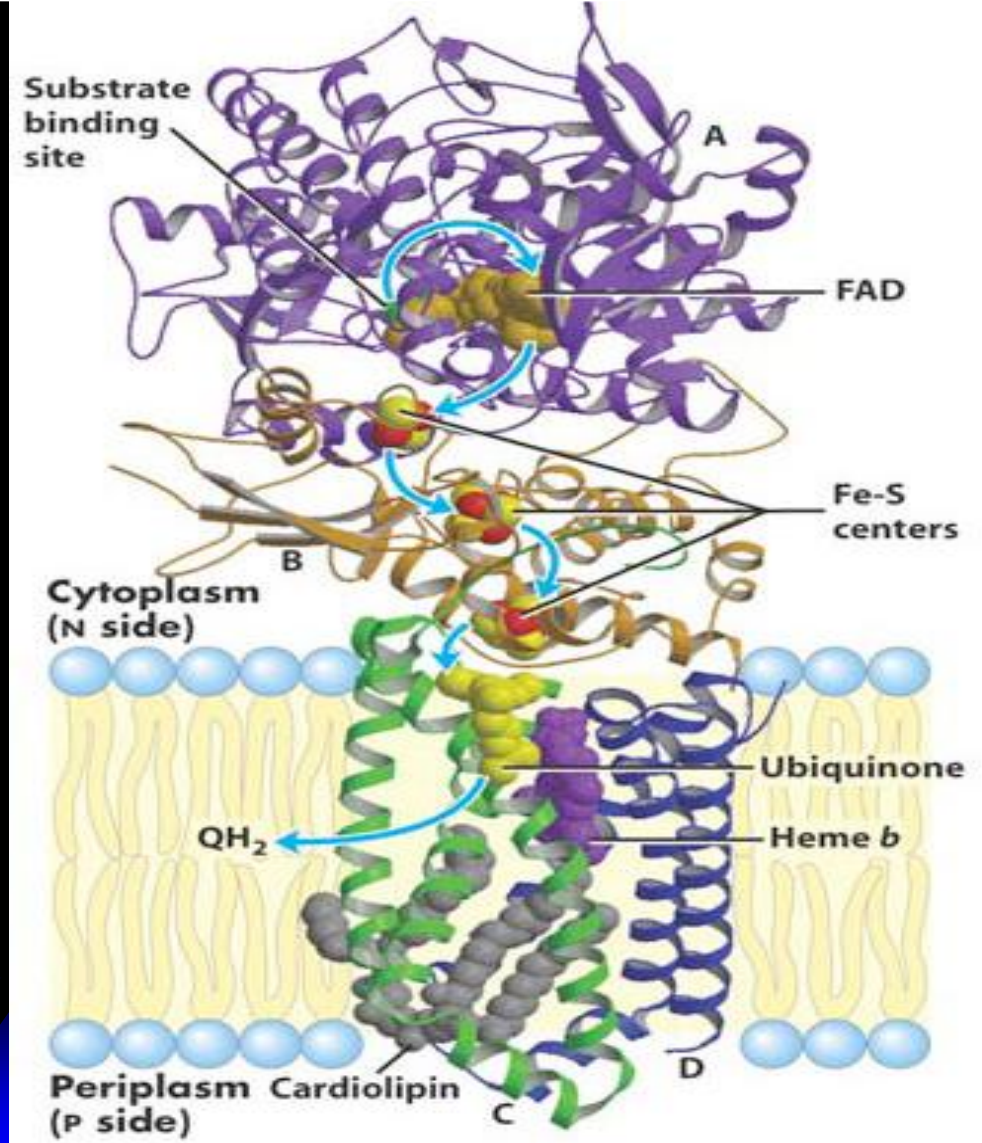
Δεϋδρογονάση ηλεκτρικού: μοναδικό μεμβρανικό TCA ένζυμο
Σύμπλοκο II (+άλλα 2) δεν αντλεί πρωτόνια

Σύμπλοκο II (*E. Coli*)

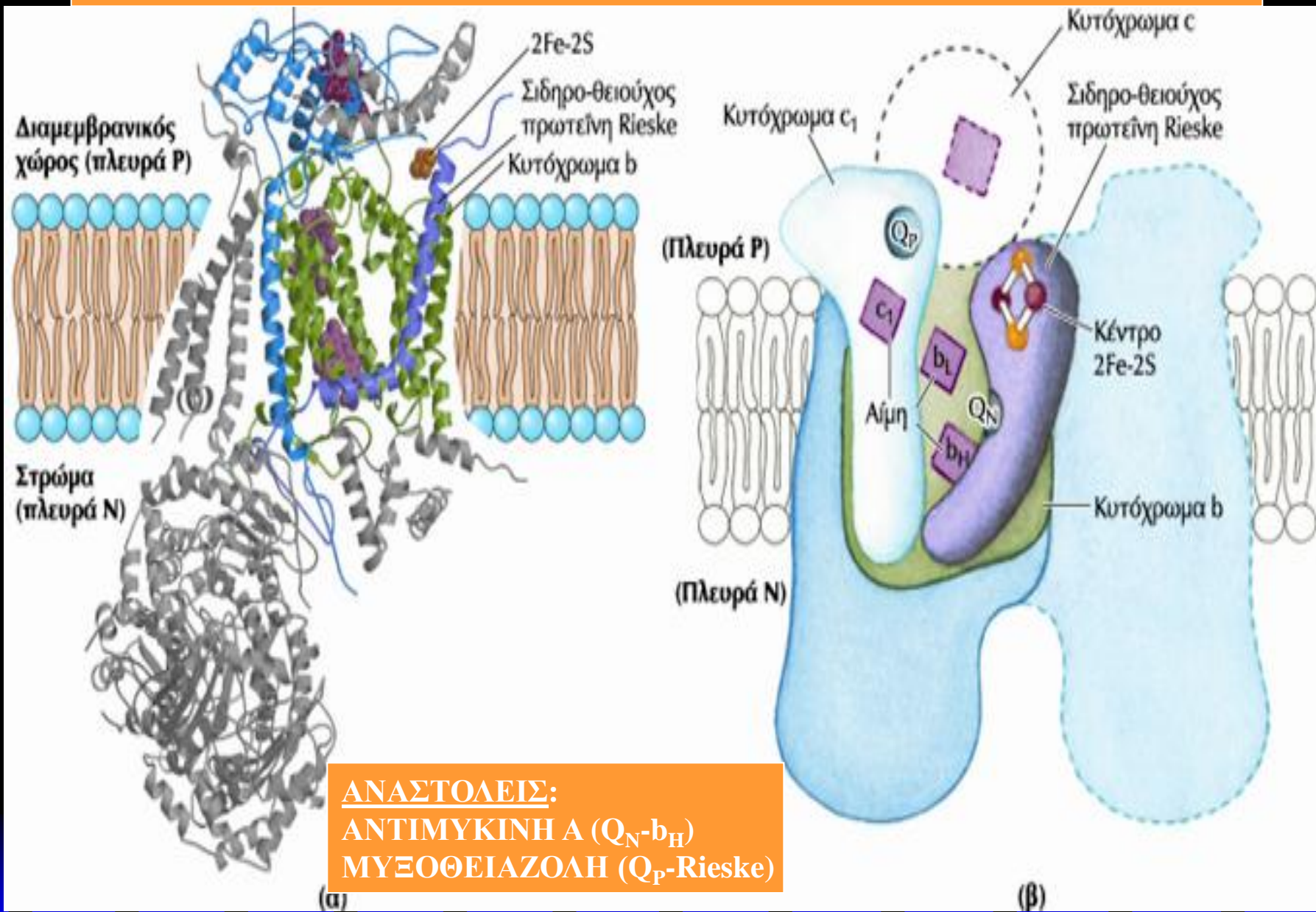
- ◆ Περιέχει 4 υπομονάδες (A-D)
- ◆ Δύο διαμεμβρανικές C και D (green and blue)
- ◆ Δύο «στρωματικές» A και B (purple and orange)
- ◆ υπομονάδα A = succinate DH (ένζυμο)
- ◆ Τα ηλεκτρόνια ρέουν από το ηλεκτρικό στο **FAD** κατόπιν σε 3 Fe-S κέντρα της υπομονάδας B (red and yellow) και τέλος σε θέση πρόσδεσης ουβικινόνης στην υπομονάδα C
- ◆ Αίμη b (purple) δεν βρίσκεται στην κύρια οδό μεταφοράς e⁻ αλλά αποτρέπει τον σχηματισμό ROS από e⁻ που έχουν ξεστρατίσει προς οξυγόνο



Μεταλλάξεις SDH-D (κοντά στην αίμη b):
κληρονομικό παρααγγλίομα
(καλοήθεις όγκοι κεφαλής-τραχήλου- καρωτ. σωματίου)
Αύξηση των ROS και ιστικές βλάβες



ΣΥΜΠΛΟΚΟ III bc1: ΔΙΜΕΡΕΣ από 11 ΥΠΟΜΟΝΑΔΕΣ (250 kDa)



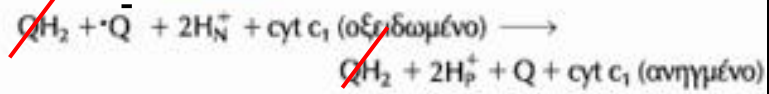
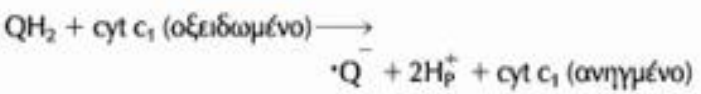
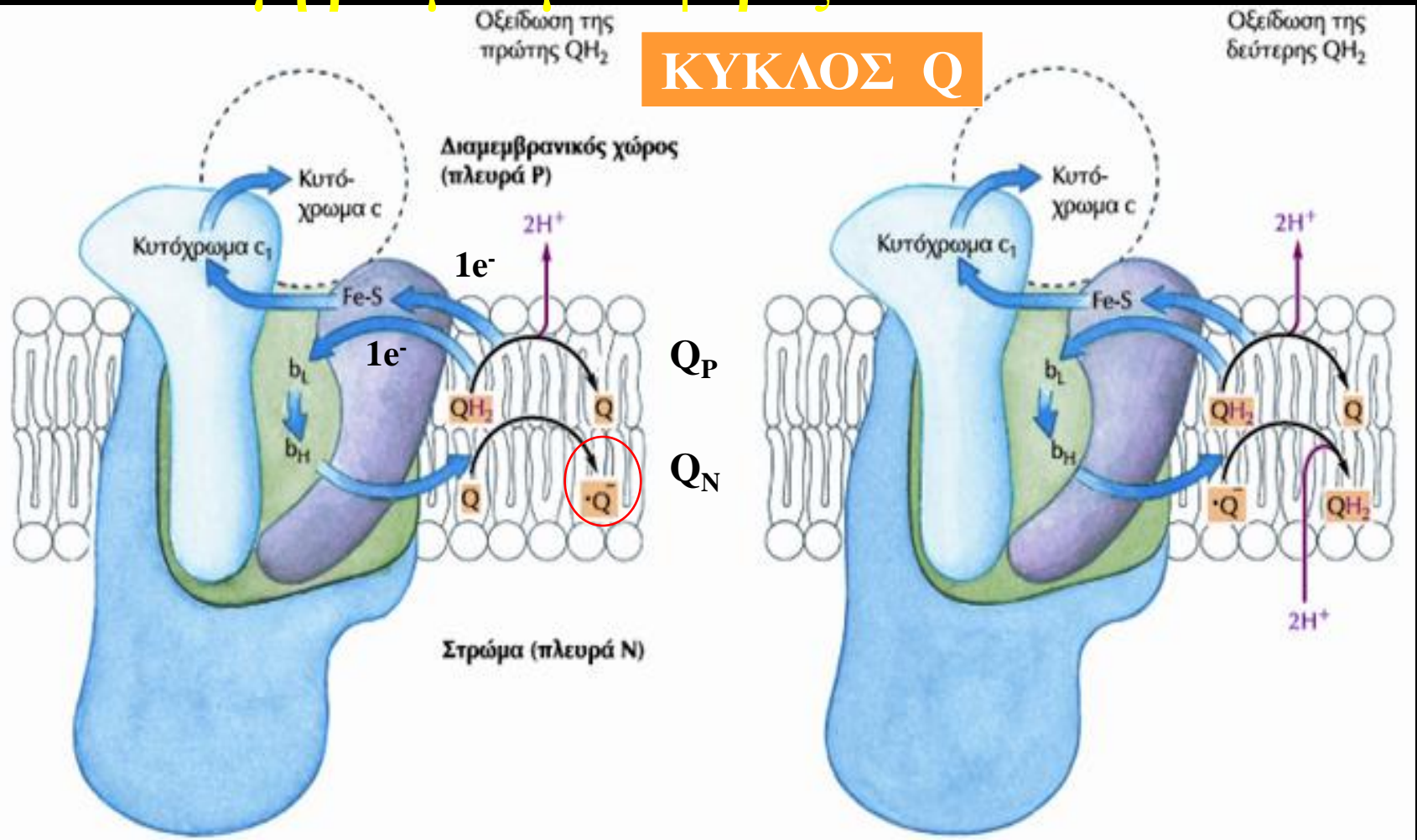
ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ:
ΑΝΤΙΜΥΚΙΝΗ Α (Q_N-b_H)
ΜΥΞΟΘΕΙΑΖΟΛΗ (Q_P-Rieske)

Αίμες b_L (low affinity) b₅₆₂ και b_H (high) b₅₆₆ στο κυτόχρωμα b

Q_o
Q_i

Αλλαγή ρυθμού μεταφοράς e⁻ από 2 σε 1

ΚΥΚΛΟΣ Q



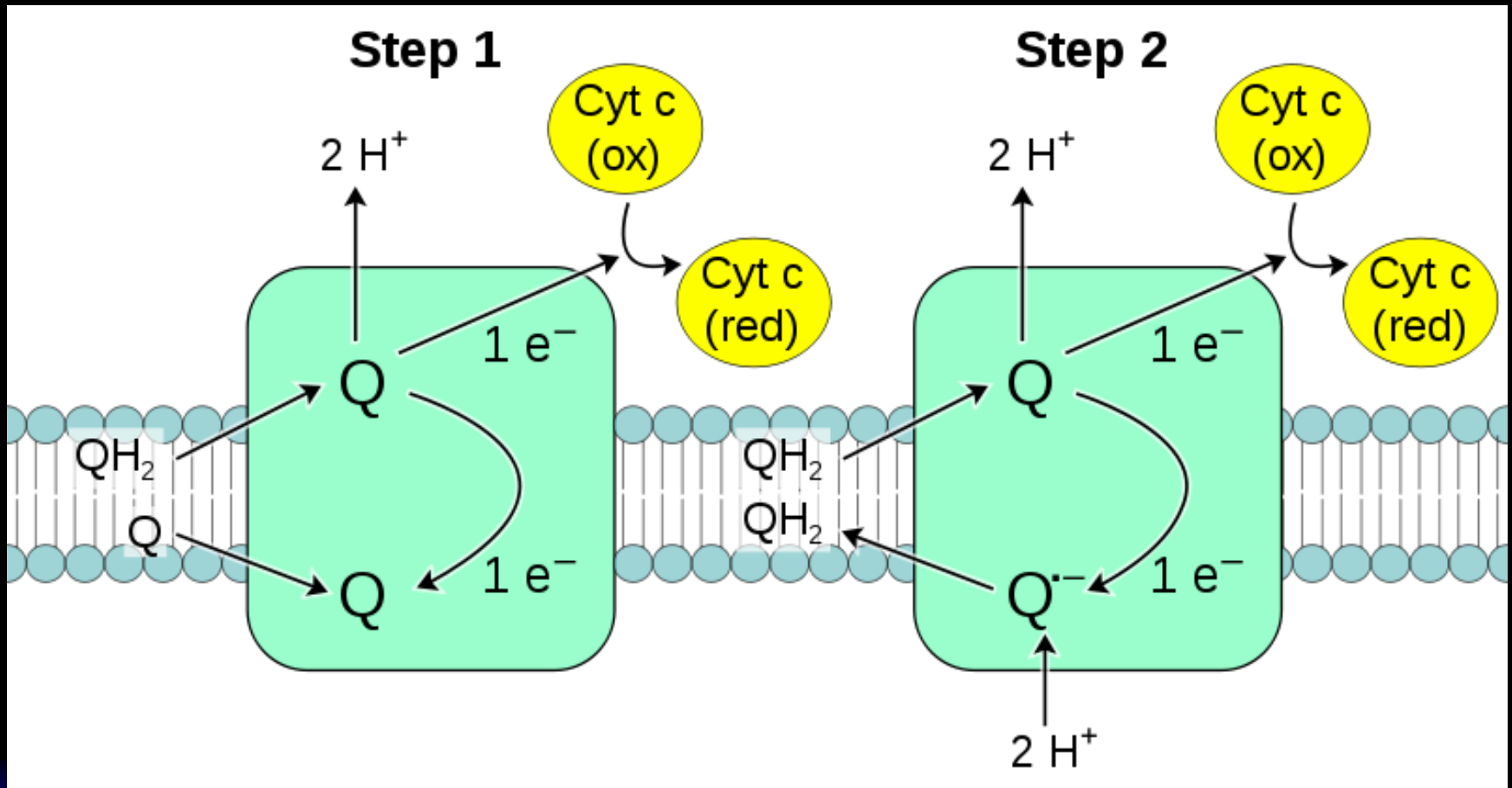
Συνολική εξίσωση:



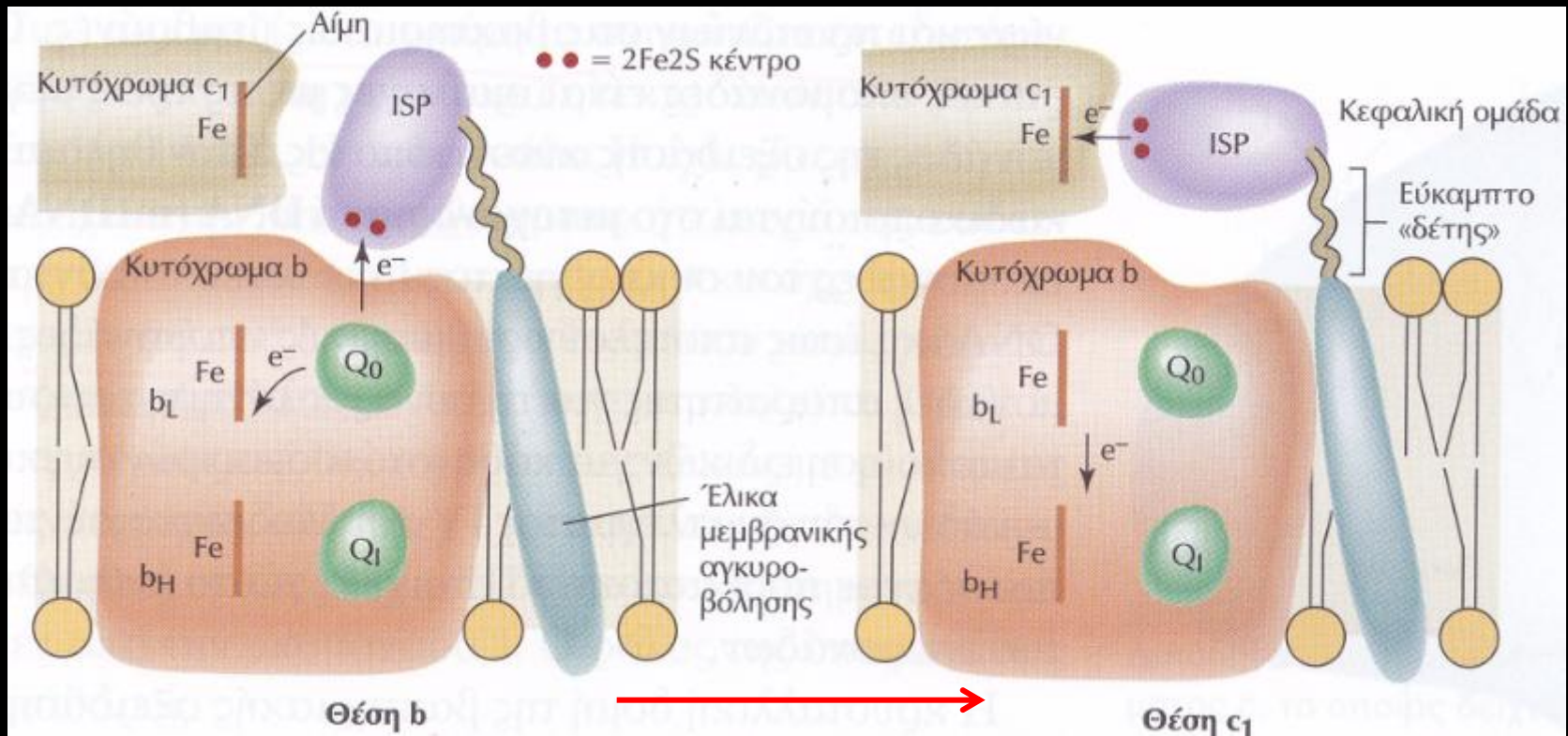
Άντληση δύο H^+ στην P πλευρά (x2)

Q_o
 Q_i

Κύκλος Q



Διαμορφώσεις ISP (σιδηροθειούχου πρωτεΐνης) Rieske στο σύμπλεγμα III



Κυτόχρωμα C

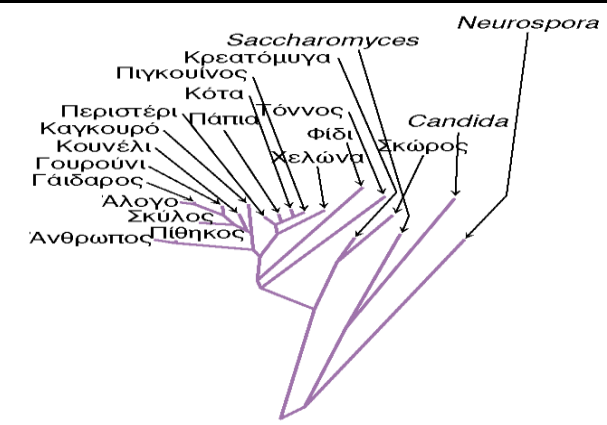
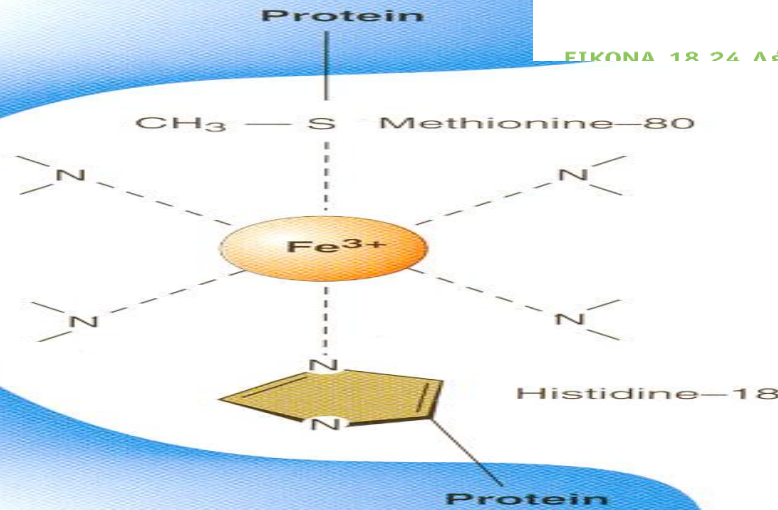
Διαλυτή πρωτεΐνη
διαμεμβρανικού χώρου
13 kDa
ιδιαίτερα
συντηρημένη

Μετακινείται με
ηλεκτροστατικές
αλληλεπιδράσεις από
Σύμπλοκο III (c1) στο IV

Σύνδεση δακτυλίου αίμης c ομοιοπολική με 2 Cys

FIGURE 14.40

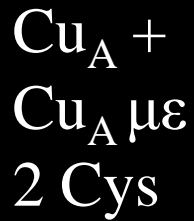
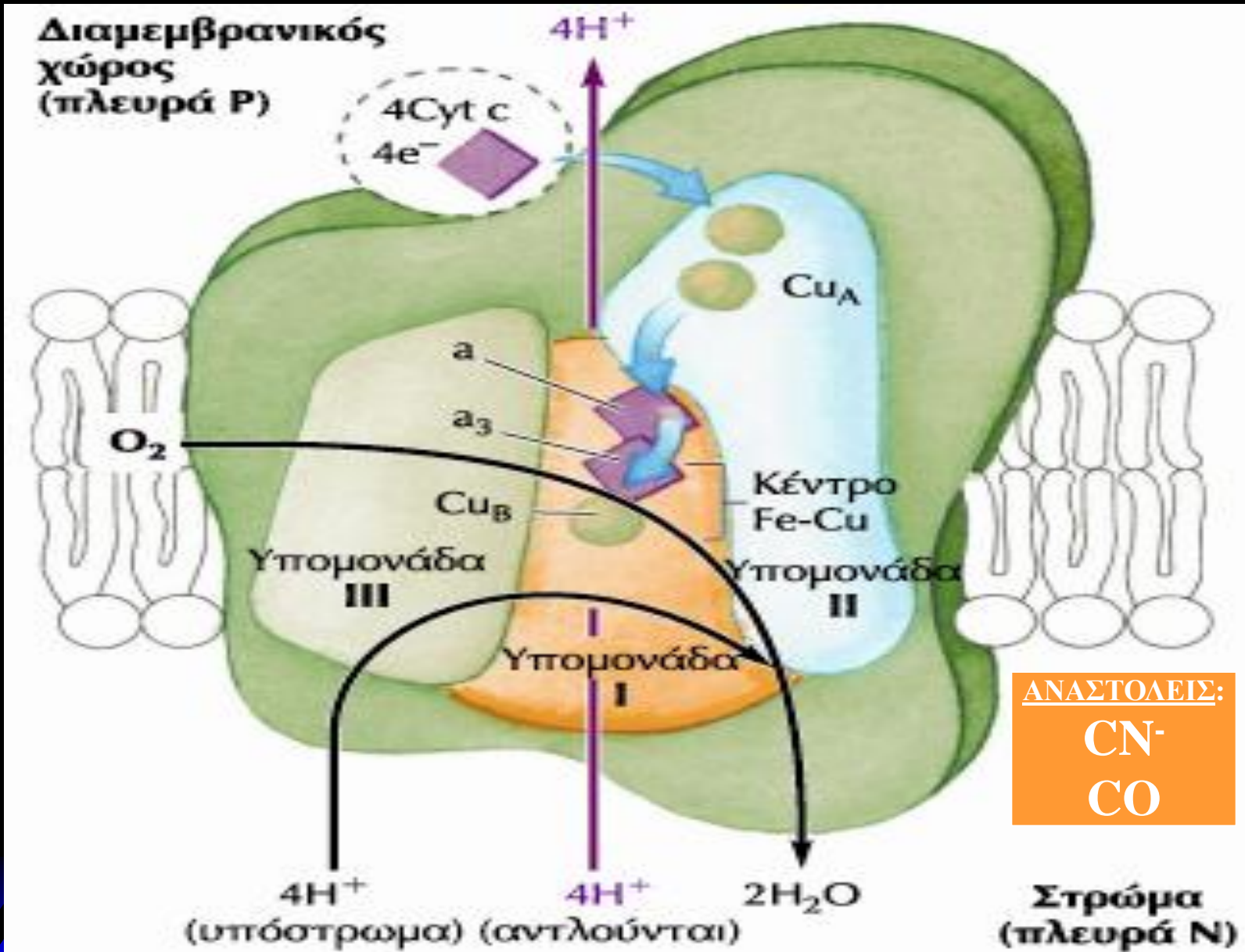
Six coordination positions of cytochrome c.



ΕΙΚΟΝΑ 18.24 Δένδρο εξέλιξης που

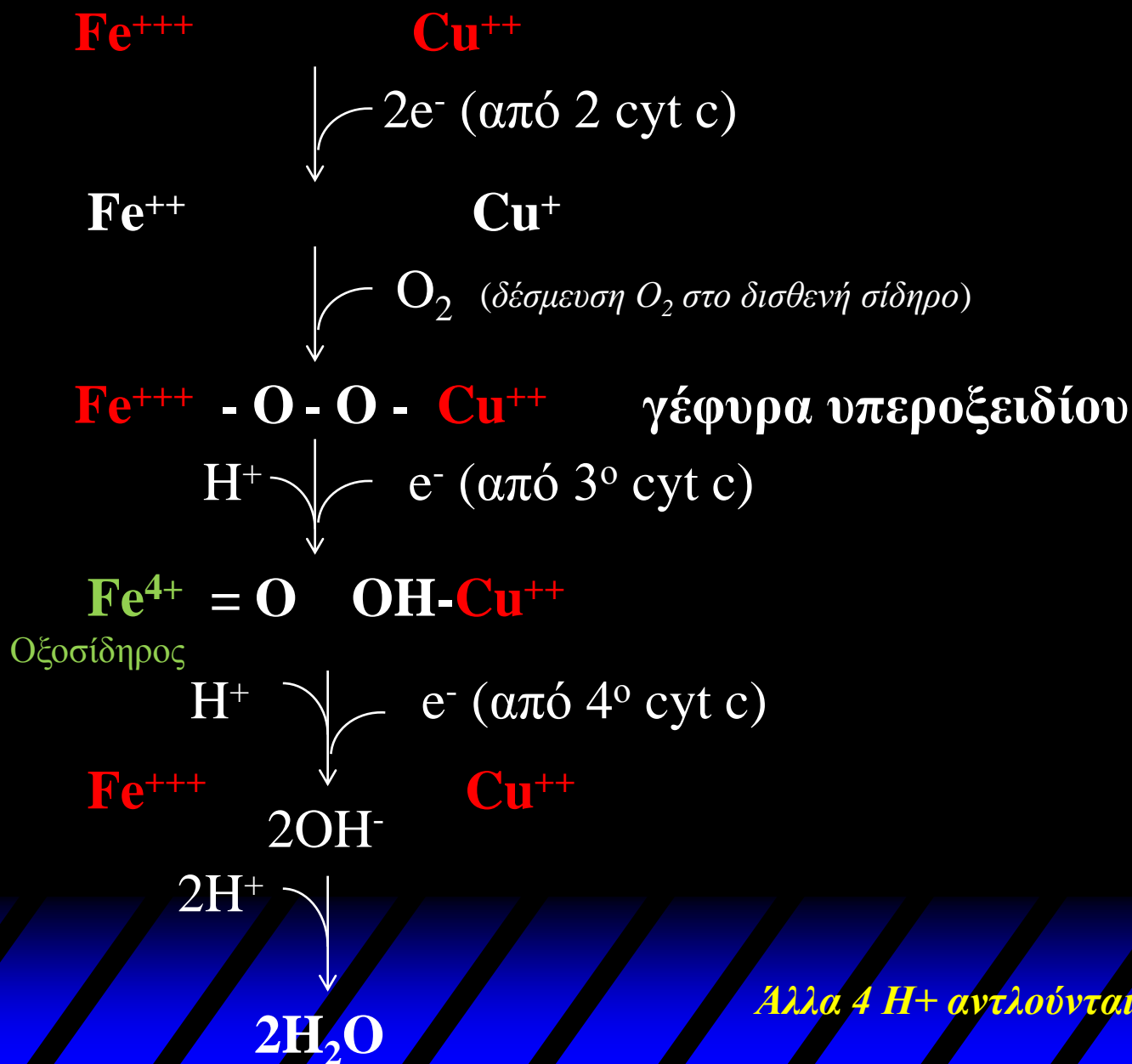
26/104
συντηρημένα
AA

Δεν αλληλεπιδρά με το μοριακό οξυγόνο
(καθώς δεν υπάρχει ελεύθερη θέση συντονισμού)

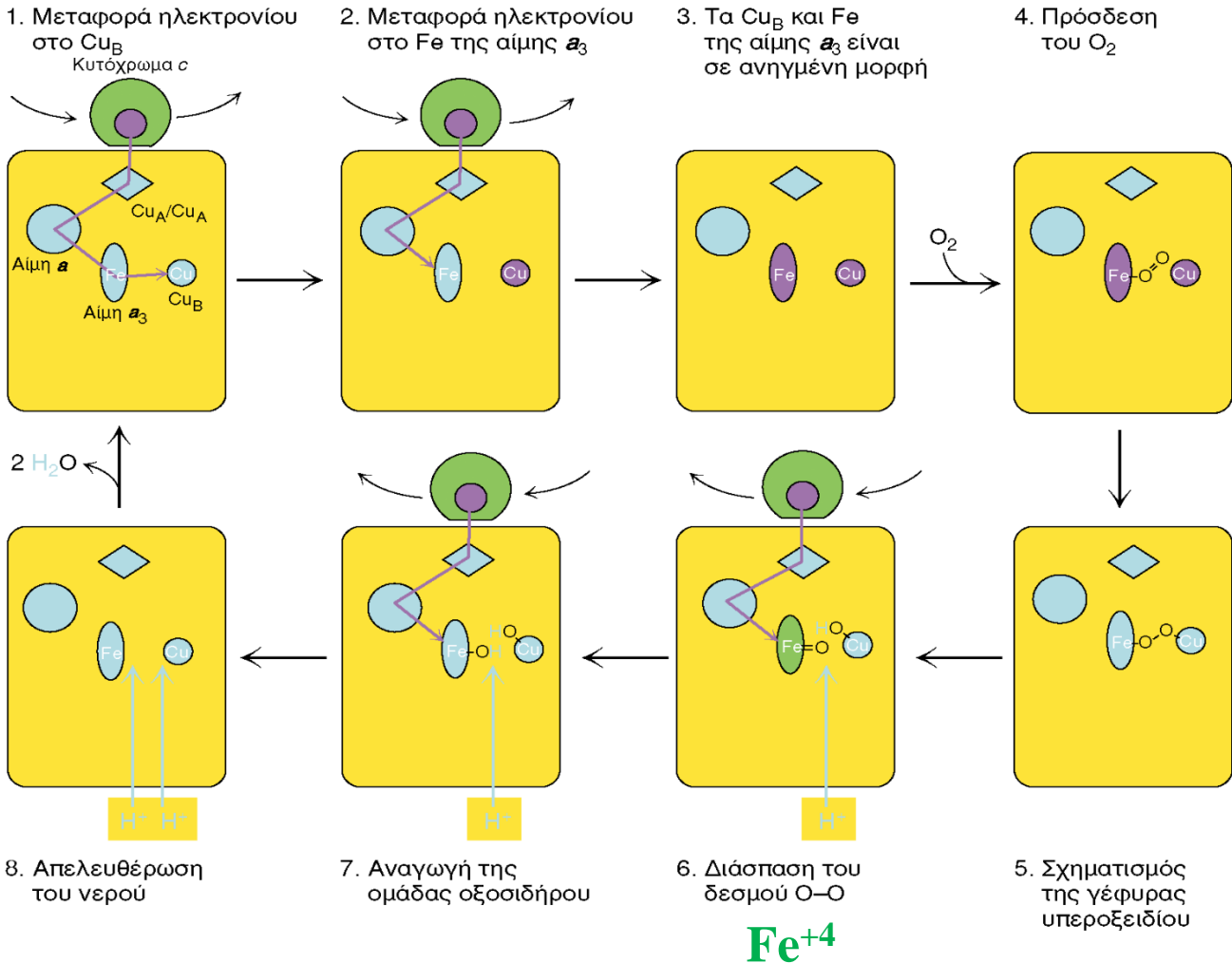


ΣΥΜΠΛΟΚΟ IV (13 ΥΠΟΜΟΝΑΔΕΣ): MB 204 kDa

Τελική αναγωγή μοριακού O_2 στο διπύρρηνο $\alpha_3\text{-Cu}_B$

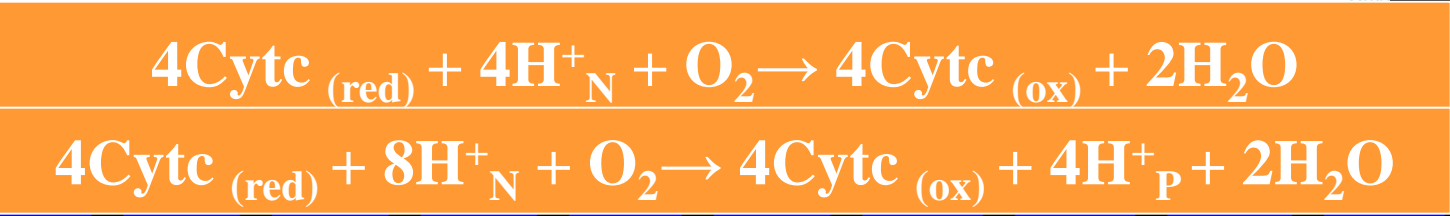


Αναγωγή οξυγόνου προς νερό



ΕΙΚΟ
της
κυτ
αρχ
προ
οξει
μπλ
κυτ
ένα
ανά
μόρ
κυτ
σίδη
το κ
οξει
πλε
κέν
σχη
οπο
μετ
και
ακό
μόρ
κυτ
δεσ
πρό
από
ενό
και
πρό
παρ
ύδα
απε
συν

Αποτροπή
δημιουργίας
ελεύθερων
ριζών



+4H⁺

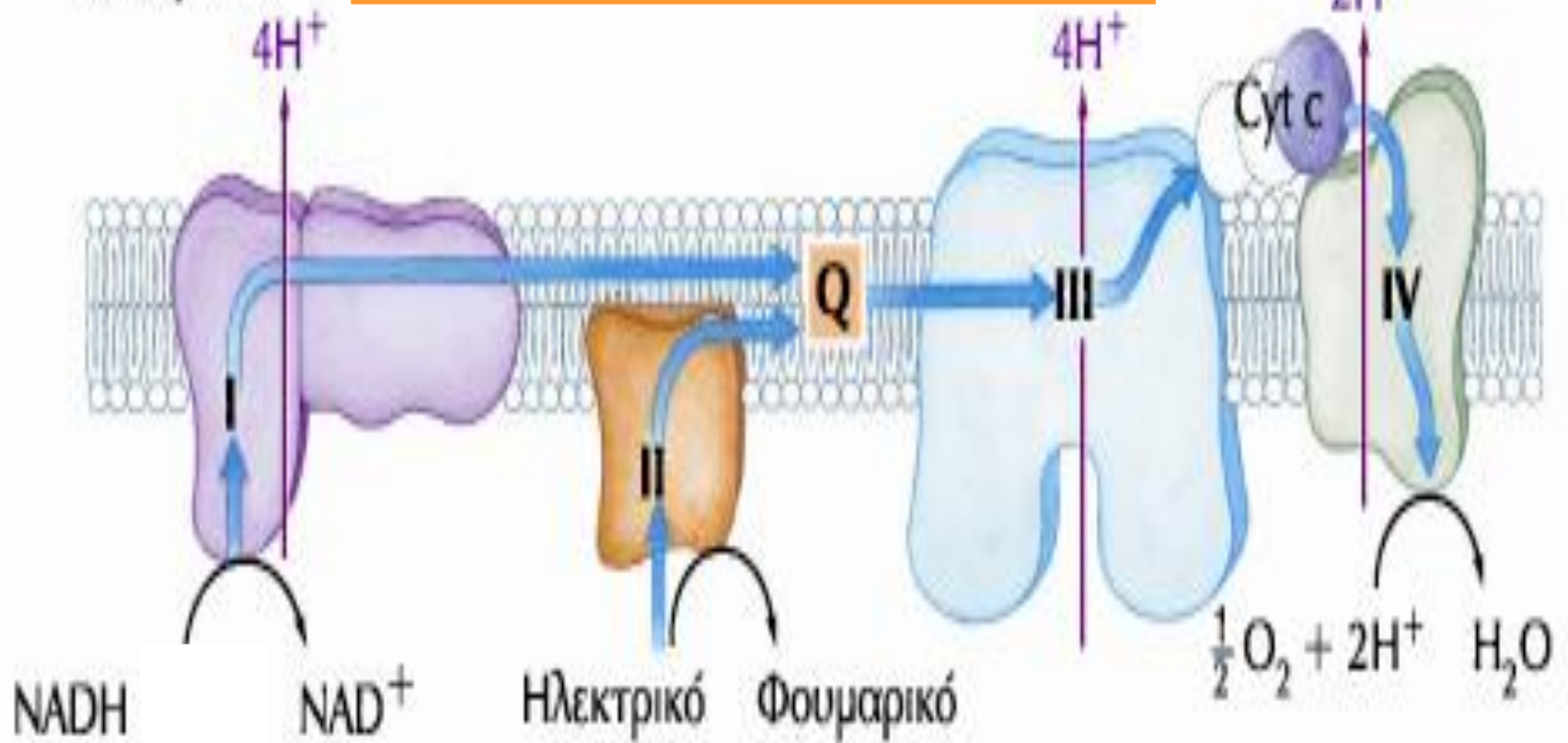
ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΚΥΤΟΧΡΩΜΙΚΗΣ ΟΞΕΙΔΑΣΗΣ

- ◆ Κυανιούχα (HCN ή KCN: LD 50 mg ή κυανογλυκοζίτες από σπάσιμο κουκουτσιών από βερύκοκκα, κεράσια, αχλάδια) δεσμεύονται στο Fe^{+3} της αίμης α_3
- ◆ Τα **νιτρώδη** που χορηγούνται θεραπευτικά οξειδώνουν την οξυαιμοσφαιρίνη σε μεθαιμοσφαιρίνη (Fe^{+2} σε Fe^{+3}) η οποία έχει μεγάλη τάση να δεσμεύει κυανιούχα και συναγωνίζεται την αίμη α_3
- ◆ Η χορήγηση **θειοθειικού** μετατρέπει τα κυανιούχα σε μη-τοξικά θειοκυανικά (μέσω ενζυμικής δράσης ροδανάσης) τα οποία στη συνέχεια αποβάλλονται στα ούρα
- ◆ Άλλος αναστολέας το CO: δεσμεύεται ένα βήμα πιο κάτω στην ανηγμένη μορφή της αίμης α_3 (Fe^{+2}) και εμποδίζει τη μεταφορά ηλεκτρονίων στο οξυγόνο



Διαμεμβρανικός χώρος
(πλευρά P)

ΠΡΩΤΟΝΙΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΥΝΑΜΗ



Στρώμα (πλευρά N)

Ενεργός Μεταφορά H⁺

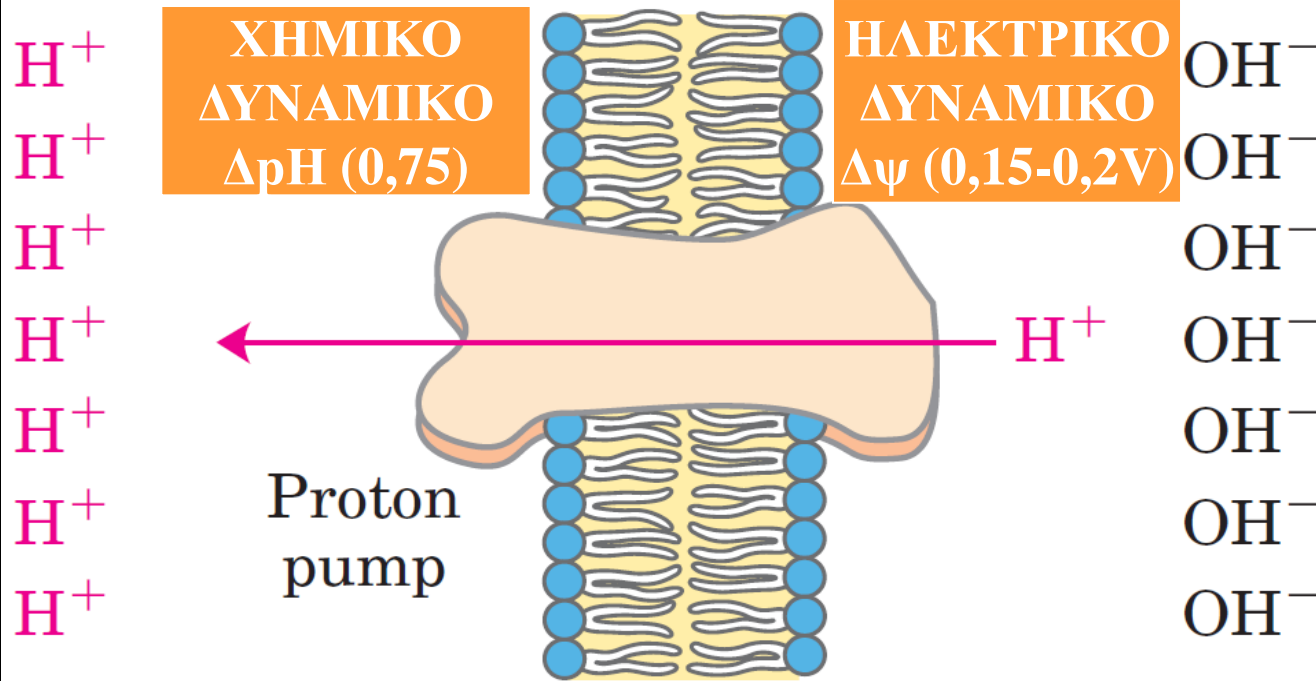
$$\Delta G'^0=0$$

Πλευρά P

Πλευρά N

$$[H^+]_P = C_2$$

$$[H^+]_N = C_1$$



$$C_2 > C_1$$

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln(C_2/C_1) + Z \cdot F \cdot \Delta\psi =$$

$$2,3 \cdot R \cdot T \cdot (\log C_2 - \log C_1) + Z \cdot F \cdot \Delta\psi =$$

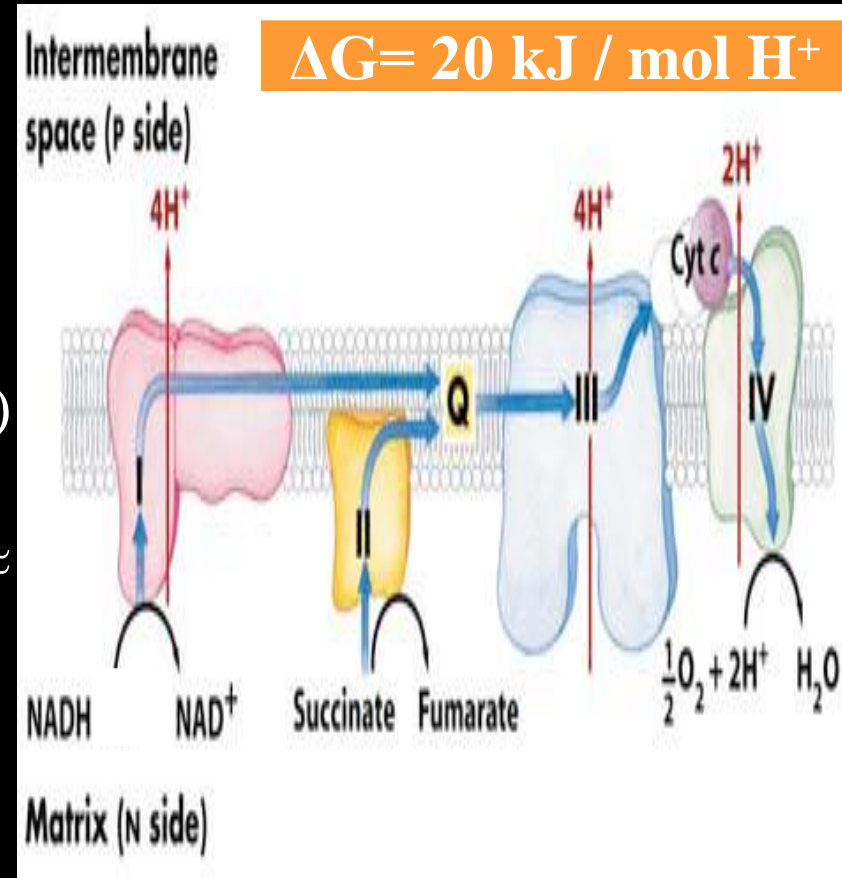
$$2,3 \cdot R \cdot T \cdot (\log [H^+]_P - \log [H^+]_N) + Z \cdot F \cdot \Delta\psi =$$

$$2,3 \cdot R \cdot T \cdot (\text{pH}_N - \text{pH}_P) + Z \cdot F \cdot \Delta\psi = \mathbf{2,3 R \cdot T \cdot \Delta pH + F \cdot \Delta\psi}$$

$$\mathbf{Z = 1}$$

Πόση ενέργεια δεσμεύθηκε ως ηλεκτροχημικό δυναμικό (πρωτονιοκινητική δύναμη)?

- ◆ $\Delta G = 2,3 \cdot R \cdot T \cdot \Delta \text{pH} + F \cdot \Delta \psi$
- ◆ ΔpH = διαμεμβρανική χημική βαθμίδωση pH (~0,75 pH)
- ◆ $\Delta \psi$ = διαμεμβρανική διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού (~0,15-0,20 V)
- ◆ $\Delta G = 4,3$ (χημική) + 15,4 (ηλέκτρο-) ≈ 20 kJ ανά mol H^+
- ◆ 10 H^+ ανά 2 e^- NADH
- ◆ ~200 kJ ανά 2 e^- από NADH, το οποίο αποτελεί ~90% των 220 kJ που υπολογίζονται από την οξείδωση του NADH!



ΔG° οξείδωσης NADH

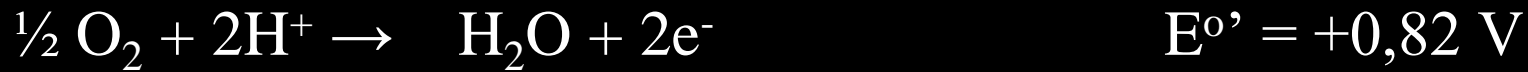


$\Delta G^{\circ} = -n \cdot F \cdot \Delta E^{\circ}$ (F = σταθερά Faraday, n = αριθμός μεταφερόμενων e⁻)

$$\Delta G^{\circ} = -2 \cdot 96,5 \text{ kJ} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 1,14 \text{ V} = -220 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

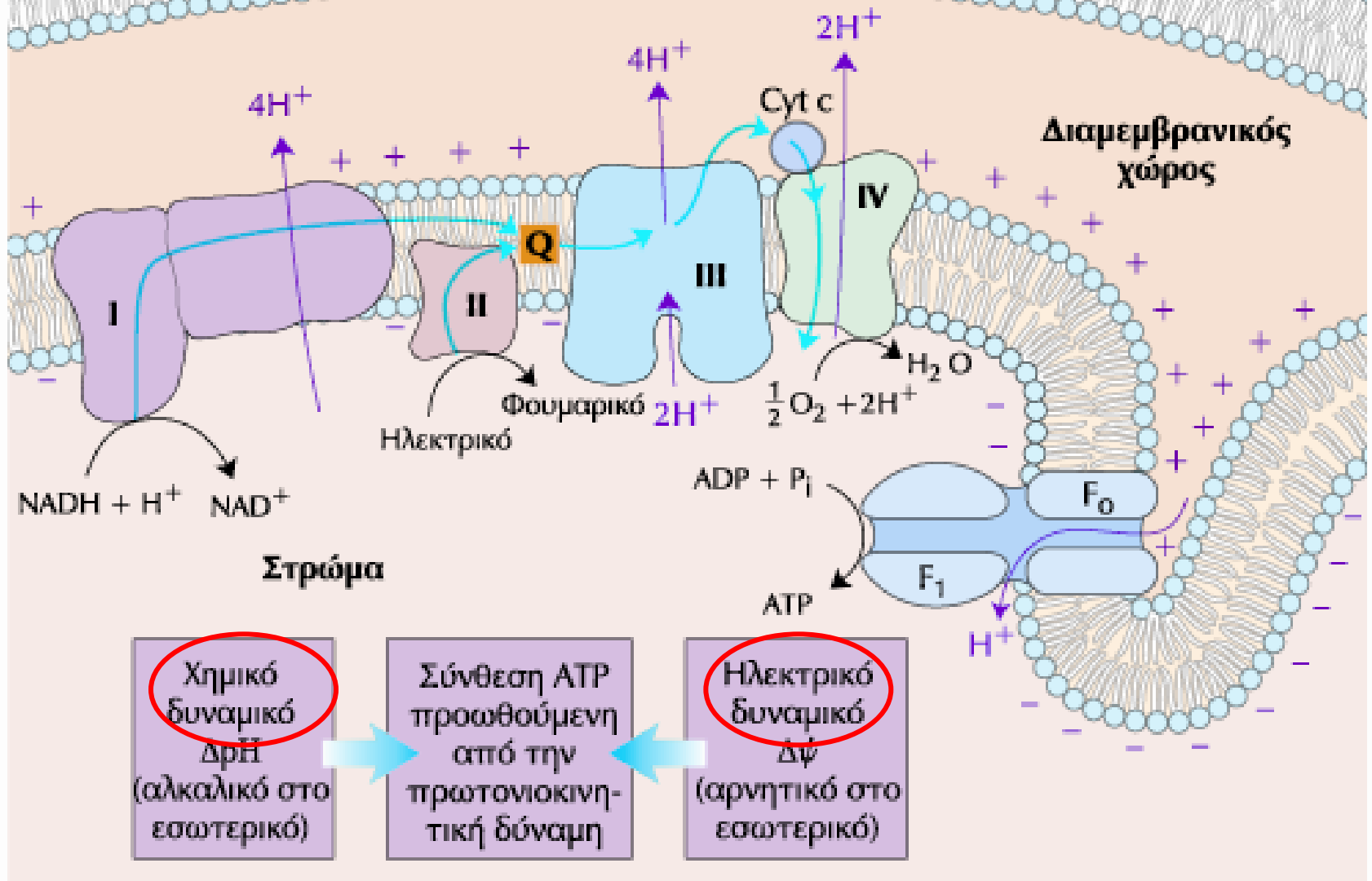
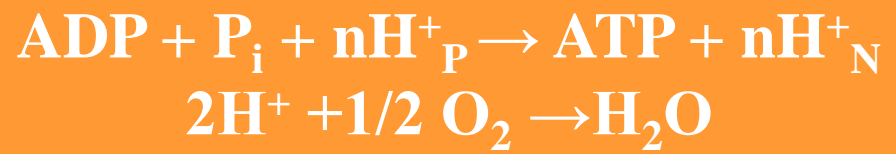
- ◆ Ικανή ενέργεια για παραγωγή $220/30,5 = \sim 7$ μόρια ATP
- ◆ Στη πράξη, το μιτοχόνδριο παράγει $\sim 2,5$ ATP ανά NADH
- ◆ Συνεπώς, η θερμοδυναμική απόδοση κάτω από πρότυπες συνθήκες είναι $(2,5 \times 30,5)/220 \times 100 = 35\%$
- ◆ Στις πραγματικές συνθήκες του μιτοχονδρίου η απόδοση είναι καλλίτερη
- ◆ Σε σύγκριση, η απόδοση μιας μηχανής αυτοκινήτου είναι $<30\%$
- ◆ Η αναπνευστική αλυσίδα μοιάζει με αγωγό ορισμένης αντίστασης

$\Delta G^{\circ'}$ οξειδωσης $FADH_2$



$$\Delta G^{\circ'} = -2 \cdot 96,5 \text{ kJ} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 0,86 \text{ V} = -166 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

- ◆ Ικανή ελεύθερη ενέργεια για $166/30,5 \sim 5$ μόρια ATP
- ◆ Στην πράξη, στο μιτοχόνδριο $\sim 1,5$ ATP ανά μόριο $FADH_2$ (30%)



Μη αντιστρεπτή διαδικασία

Σύζευξη της οξείδωσης με τη φωσφορυλίωση ADP

- ◆ Η σύνθεση ATP στην αναπνευστική αλυσίδα από φωσφορυλίωση ADP:
 - καταλύεται από τη μιτοχονδριακή ATP συνθάση
 - είναι συνδεδεμένη με κατανάλωση οξυγόνου (οξείδωση)
 - η οξειδωτική φωσφορυλίωση εξηγείται με το χημειωσμωτικό μοντέλο
- ◆ Περιγραφή του χημειωσμωτικού μοντέλου:
 - η ροή των ηλεκτρονίων προκαλεί αποβολή H^+
 - η εσωτερική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη στα H^+
 - δημιουργία ηλεκτροχημικού δυναμικού
 - πρωτόνια επιστρέφουν στο στρώμα με την ATP συνθάση
 - το ηλεκτροχημικό δυναμικό είναι η κινητήρια δύναμη και χρησιμοποιείται στην ενζυμική αντίδραση παραγωγής ATP από ADP (ATP συνθάση)

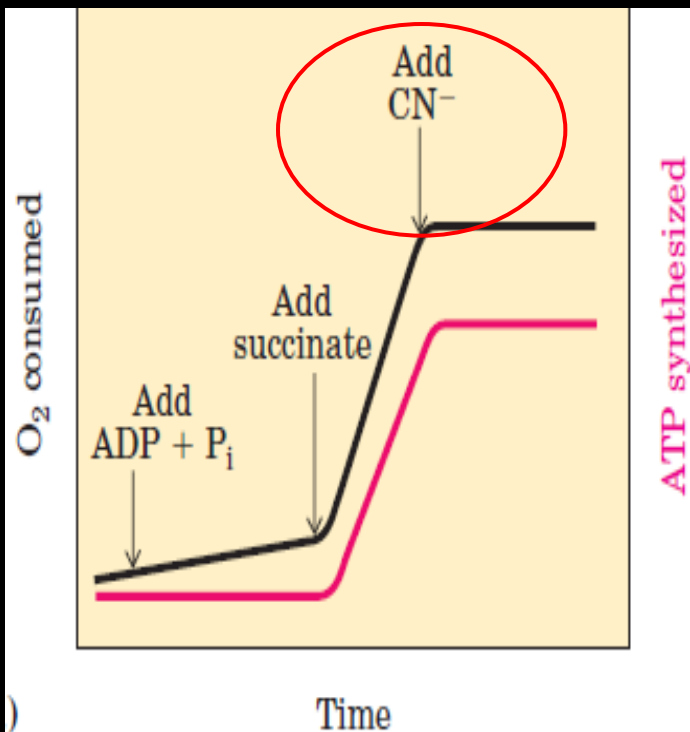
Πειραματικά ευρήματα υπέρ χημειωσμοτικού μοντέλου:

1. Μεταφορά ηλεκτρονίων από υποστρώματα (δότες ηλεκτρονίων) προκαλεί διαβάθμιση του pH
2. Είναι δυνατή η σύνθεση ATP με μόνο διαβάθμιση του pH (είτε τεχνητά είτε με μεταφορά e^- από υποστρώματα)
3. Σύνθεση ATP σε λιποσωμάτια με κατάλληλες πρωτεΐνες
4. Είναι αδύνατη η σύνθεση ATP με διαρροή ιόντων H^+ η οποία μπορεί να επιτευχθεί με μέσα αποσύζευξης όπως:
 - με ιοντοφόρα (π.χ. βαλινομυκίνη)
 - με ασθενή λιποδιαλυτά οξέα (π.χ. 2,4-DNP, FCCP)

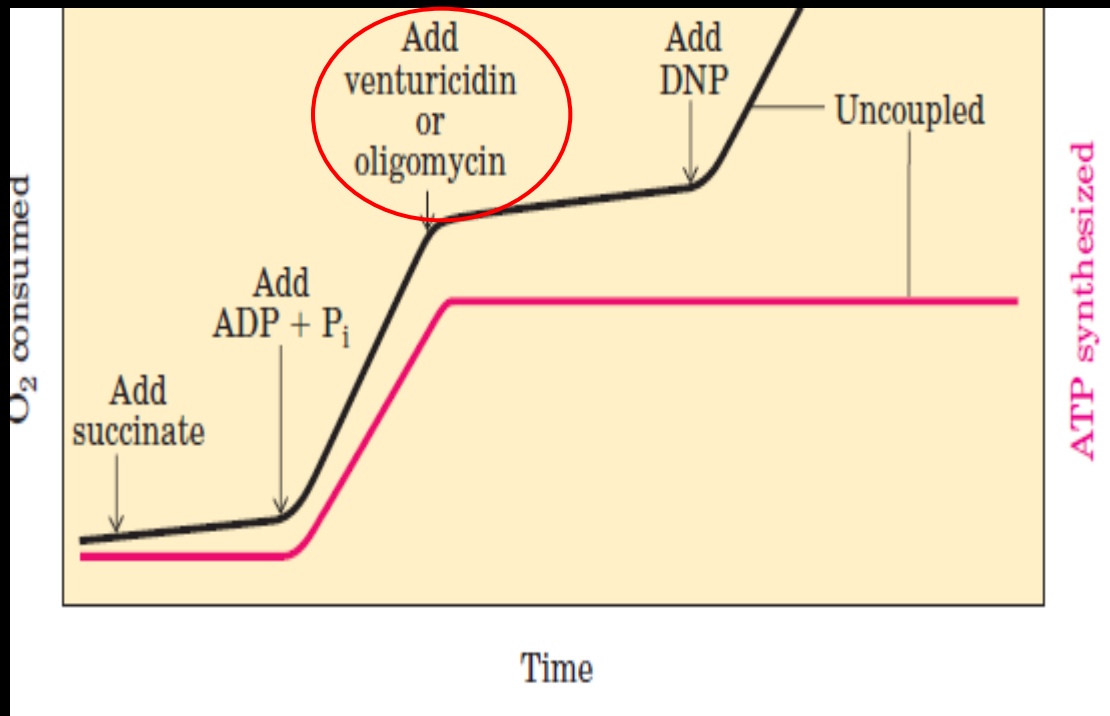
Σύζευξη μεταφοράς e^- , αναπνοής και σύνθεσης ATP

Σε τακτά χρονικά διαστήματα: **μέτρηση ATP** σε απομονωμένα μιτοχόνδρια και μέτρηση κατανάλωσης O_2 με ειδικό ηλεκτρόδιο (*sensor*)

Απαιτούνται και υποστρώματα και ADP/ P_i για να συζευχθούν

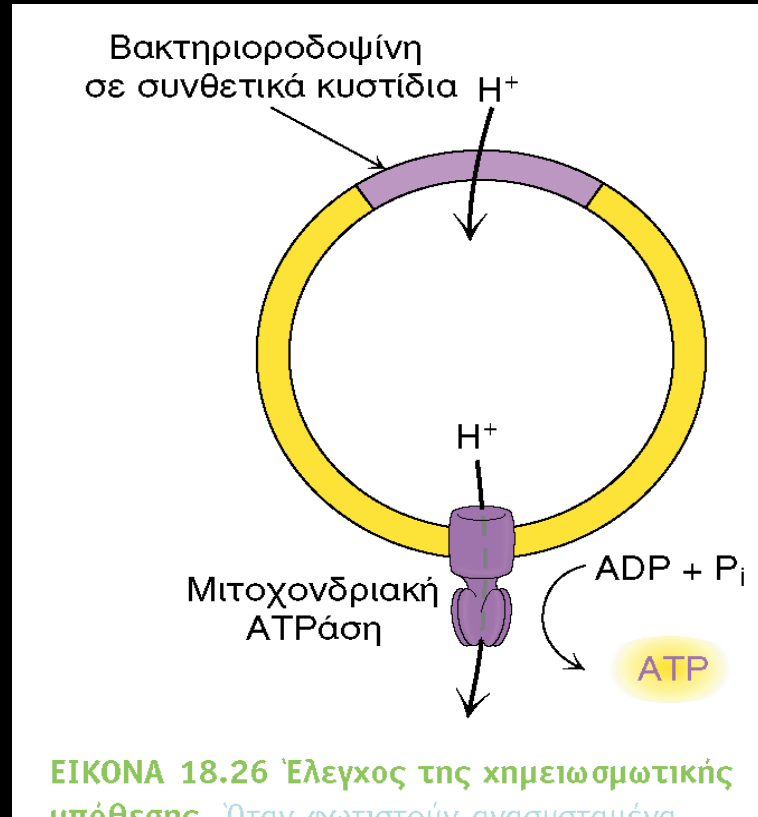


Παρουσία αναστολέα της μεταφοράς ηλεκτρονίων (π.χ. κυάνιο) σταματάει φυσικά η αναπνοή (κατανάλωση O_2) αλλά στη συνέχεια και η **παραγωγή ATP**



Παρουσία αναστολέα της σύνθεσης ATP (π.χ. ολιγομυκίνης) επιβραδύνεται και τελικά σταματάει και η αναπνοή

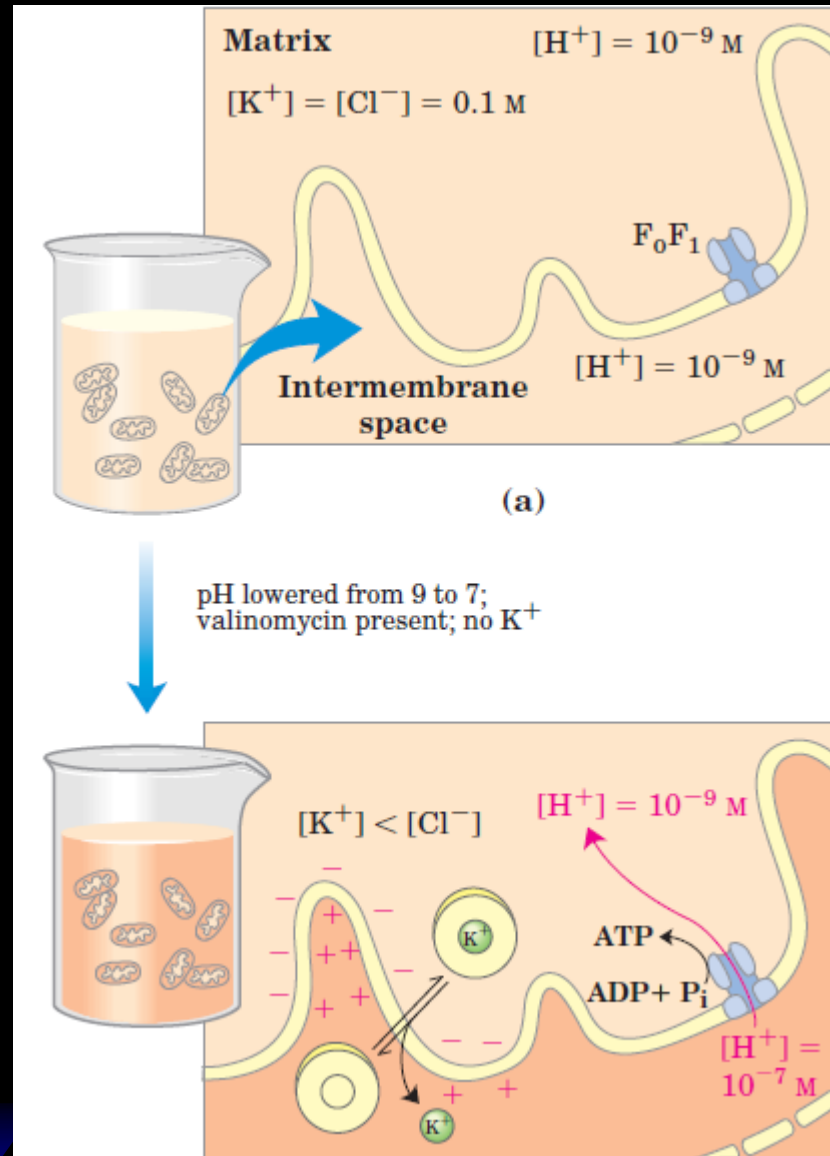
Σύζευξη ATP συνθάσης με πρωτονιοκινητική δύναμη #1



Η βακτηριοροδοψίνη αντλεί πρωτόνια στο εσωτερικό των συνθετικών κυστιδίων όταν παρέχεται φως

Παρουσία φωτός και ADP παράγεται ATP
(απουσία υποστρωμάτων και μεταφοράς ηλεκτρονίων)

Σύζευξη ATP συνθάσης με πρωτονιοκινητική δύναμη #2



Απομονωμένα
μιτοχόνδρια

pH 9

+ KCl 0,1 M

pH 7

+ Βαλινομυκίνη
(ιοντοφόρο K^+)

*ΔpH και ανισορροπία φορτίων επαρκούν για σύνθεση ATP από ADP
απουσία υποστρώματος αναπνευστικής αλυσίδας*

Δομή ATP συνθάσης

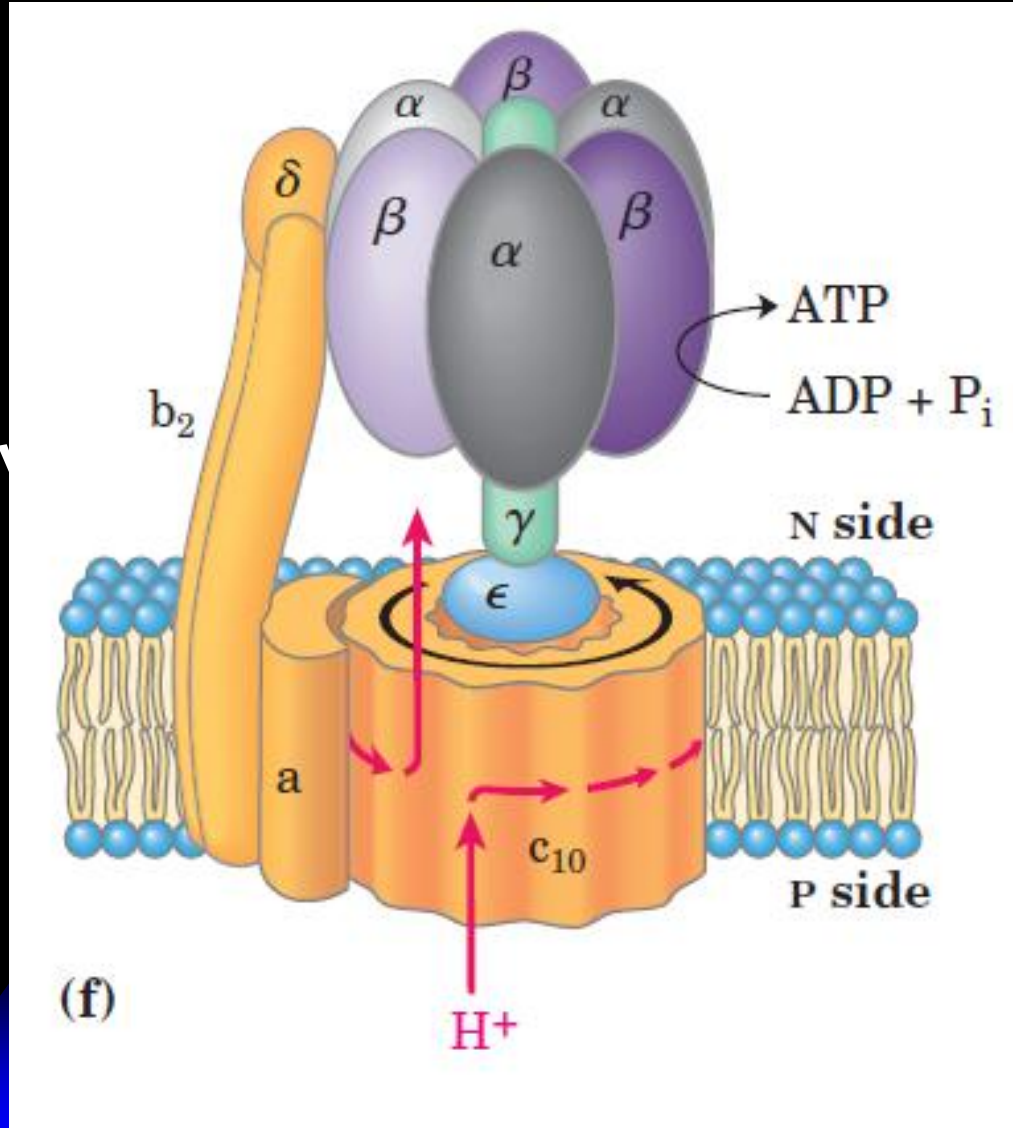
F_1 στοιχειομετρία = $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$
First discovered Factor

F_0 στοιχειομετρία = $a_1b_2c_{9-12}$
oligomycin-sensitive

F_1

Δακτύλιος
εναλλασσόμενων
 α και β
υπομονάδων

F_0

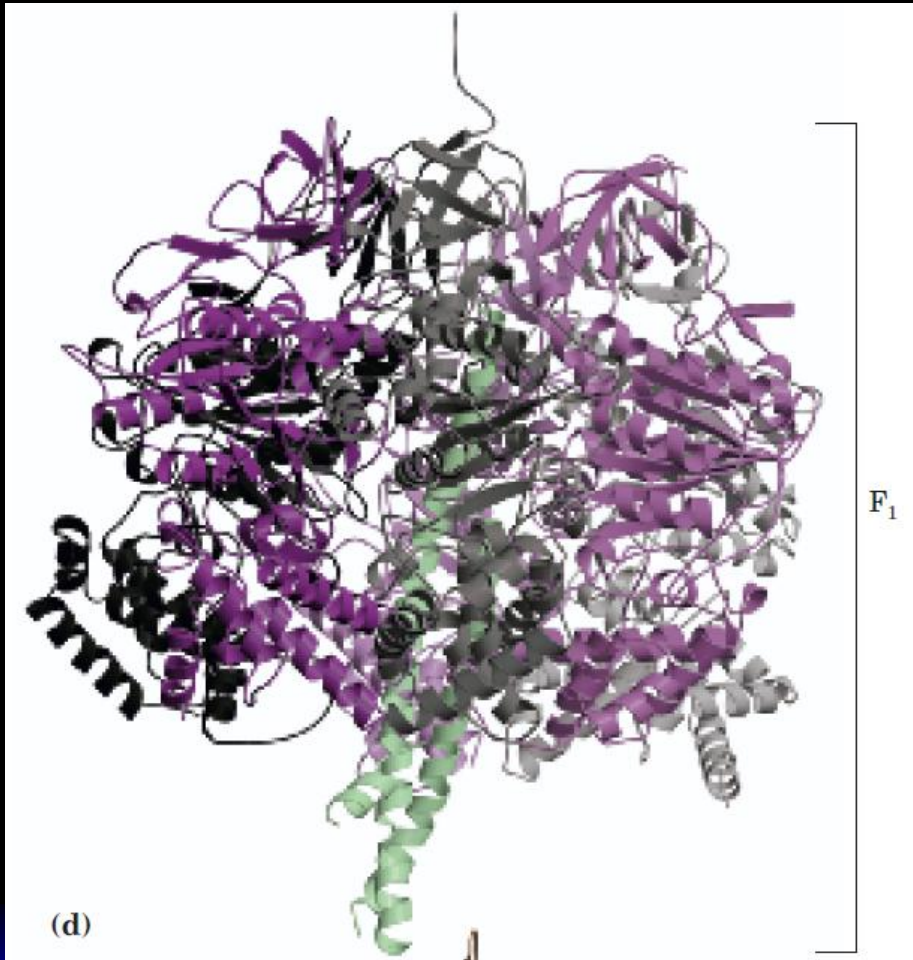


Το ATP
συντίθεται
στις β
υπομονάδες

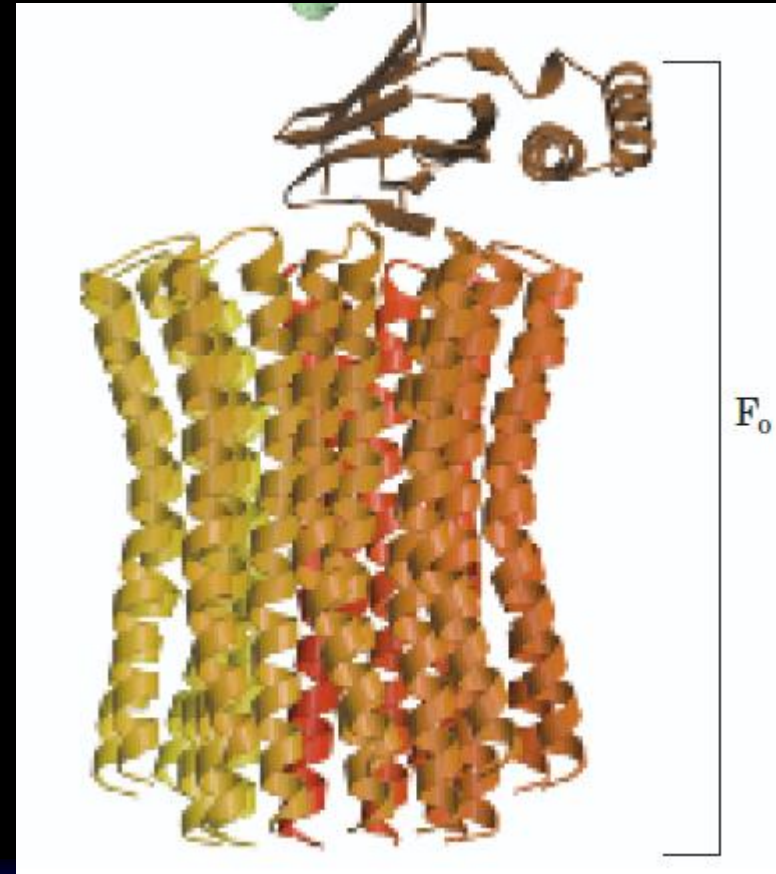
Η ροή των
πρωτονίων
αναγκάζει το
δακτύλιο των c
υπομονάδων να
περιστραφεί σε
σχέση με την
μεγαλύτερη F_1
υπομονάδα!

Δομή ATP συνθάσης

Στην F_o , c υπομονάδα: υδρόφοβο πολυπεπτίδιο (MB 8000) με δύο διαμεμβρανικές έλικες, οι *N*-τελικές εσωτερικά και οι *C*-τελικές εξωτερικά

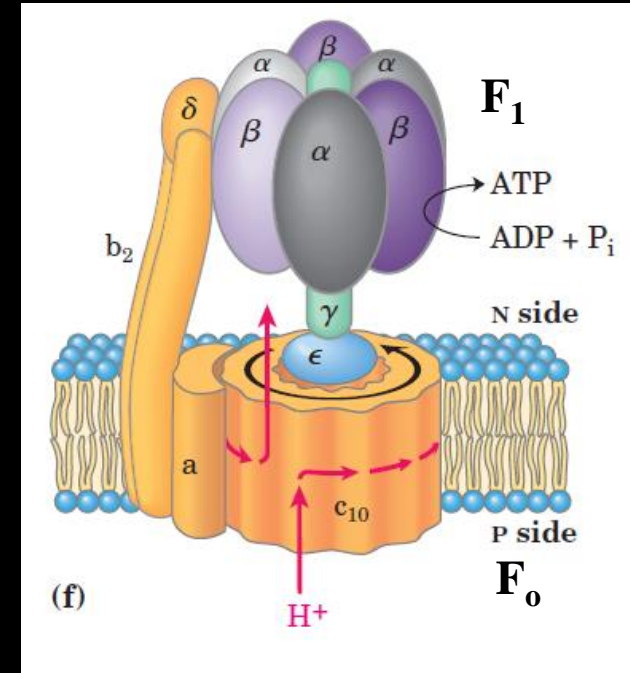
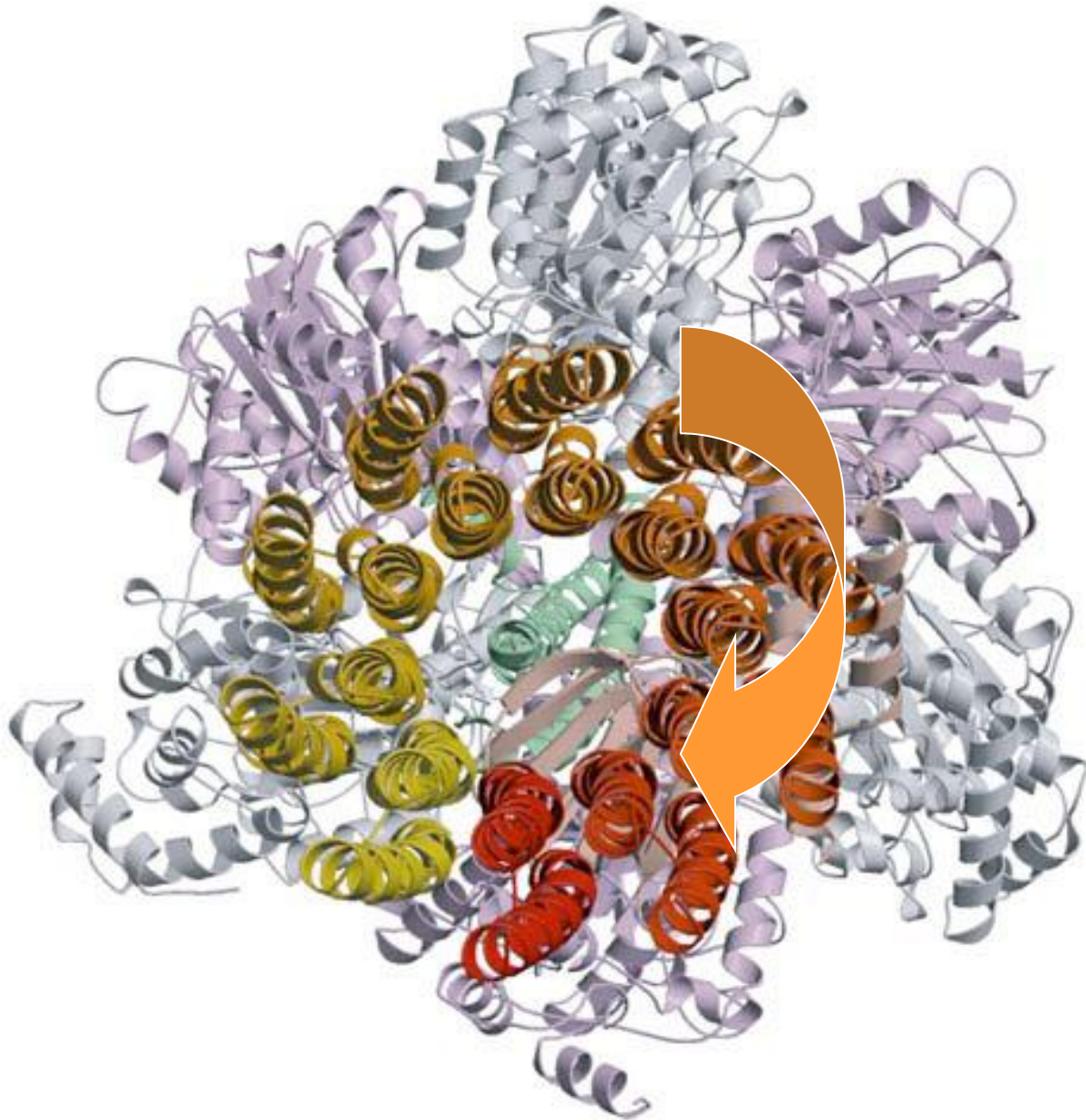


Bovine F_1 ($\alpha_3\beta_3$)



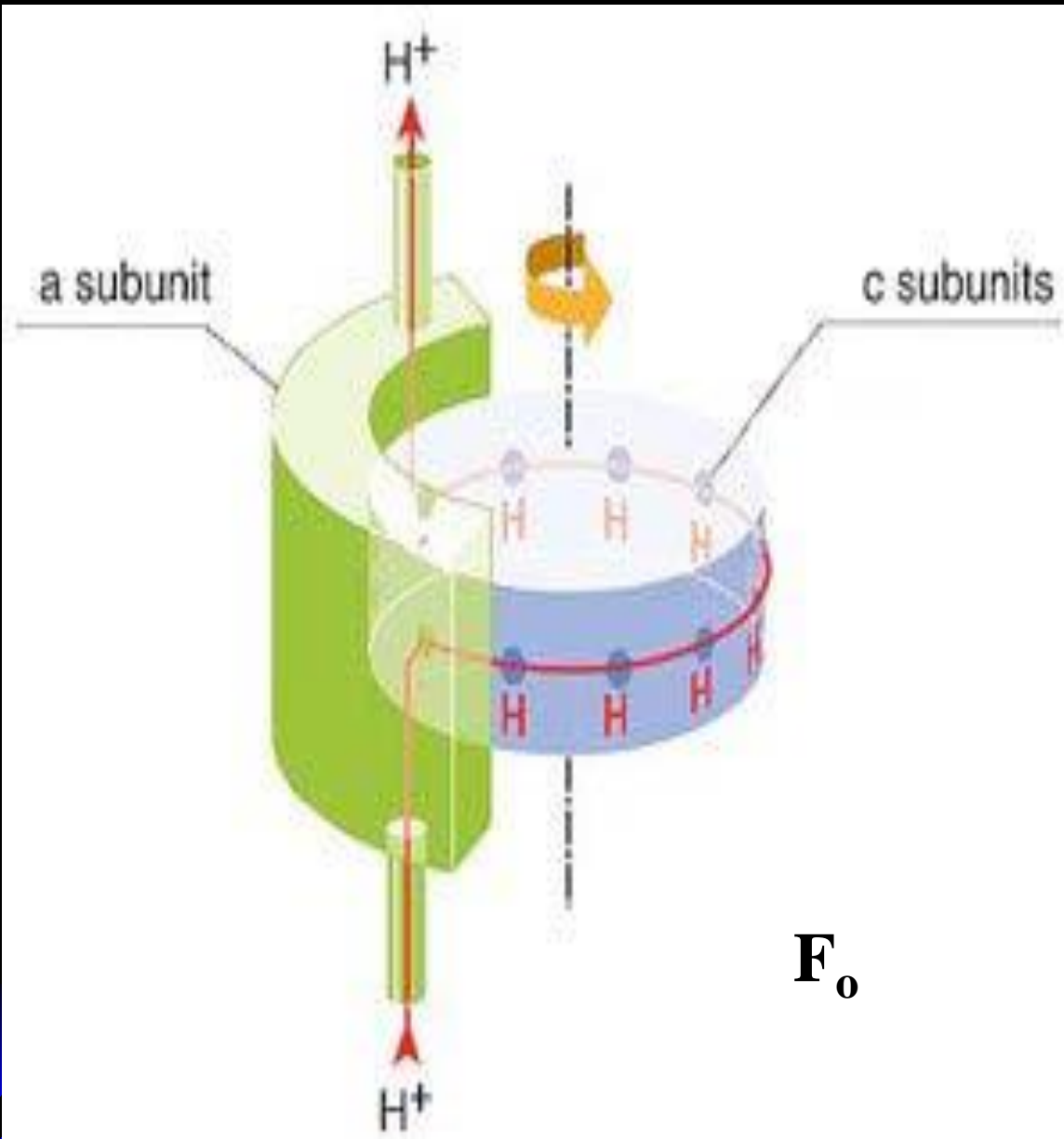
Yeast F_o (c_{10})

Μοριακό μοντέλο ATP συνθάσης



Ο δακτύλιος των c υπομονάδων του F_0 περιστρέφεται μαζί με τον «μίσχο» γ/ϵ σε σχέση με το F_1 σύμπλεγμα ($\alpha_3\beta_3$) το οποίο κρατείται στη θέση του ακίνητο μέσω $b_2\delta$

Περιστροφή c υπομονάδων



Μια πλήρη περιστροφή απαιτεί 9–12H⁺ (όσα και οι c υπομονάδες) και 3 ATP θα συντεθούν (ένα σε κάθε β υπομονάδα)

Στοιχειομετρία:
9–12 H⁺/3 ATP =
=3–4 H⁺/ ATP
(επιβεβαιώνεται πειραματικά)

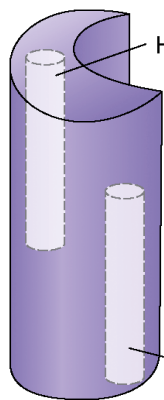
Μεταφορά H^+ μέσω c υπομονάδας



Ασπαραγινικό οξύ

Asp

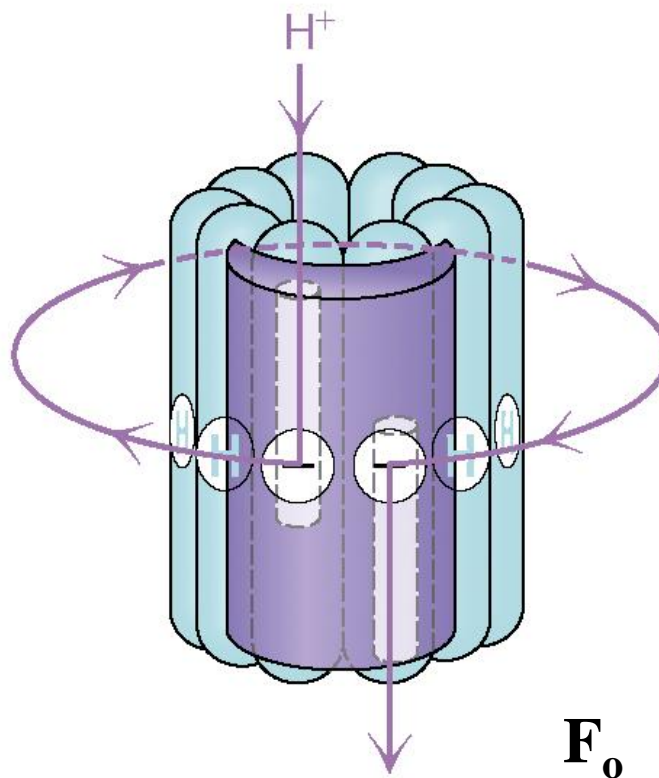
Υπομονάδα c (2 έλικες)



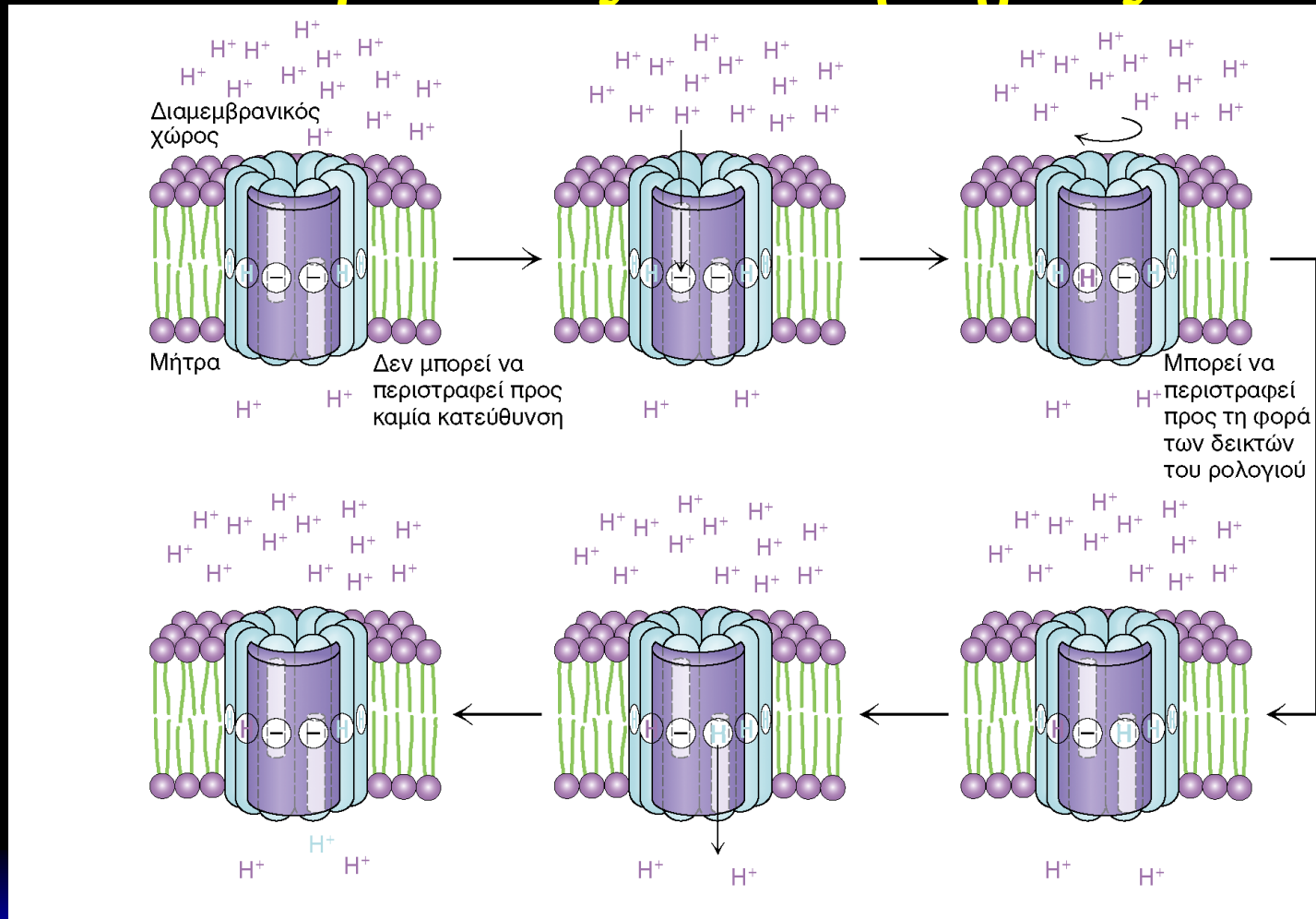
Ημιδιάυλος πρωτονίων
προς την πλευρά του
κυτοσολίου

Ημιδιάυλος πρωτονίων
προς την πλευρά
της μήτρας

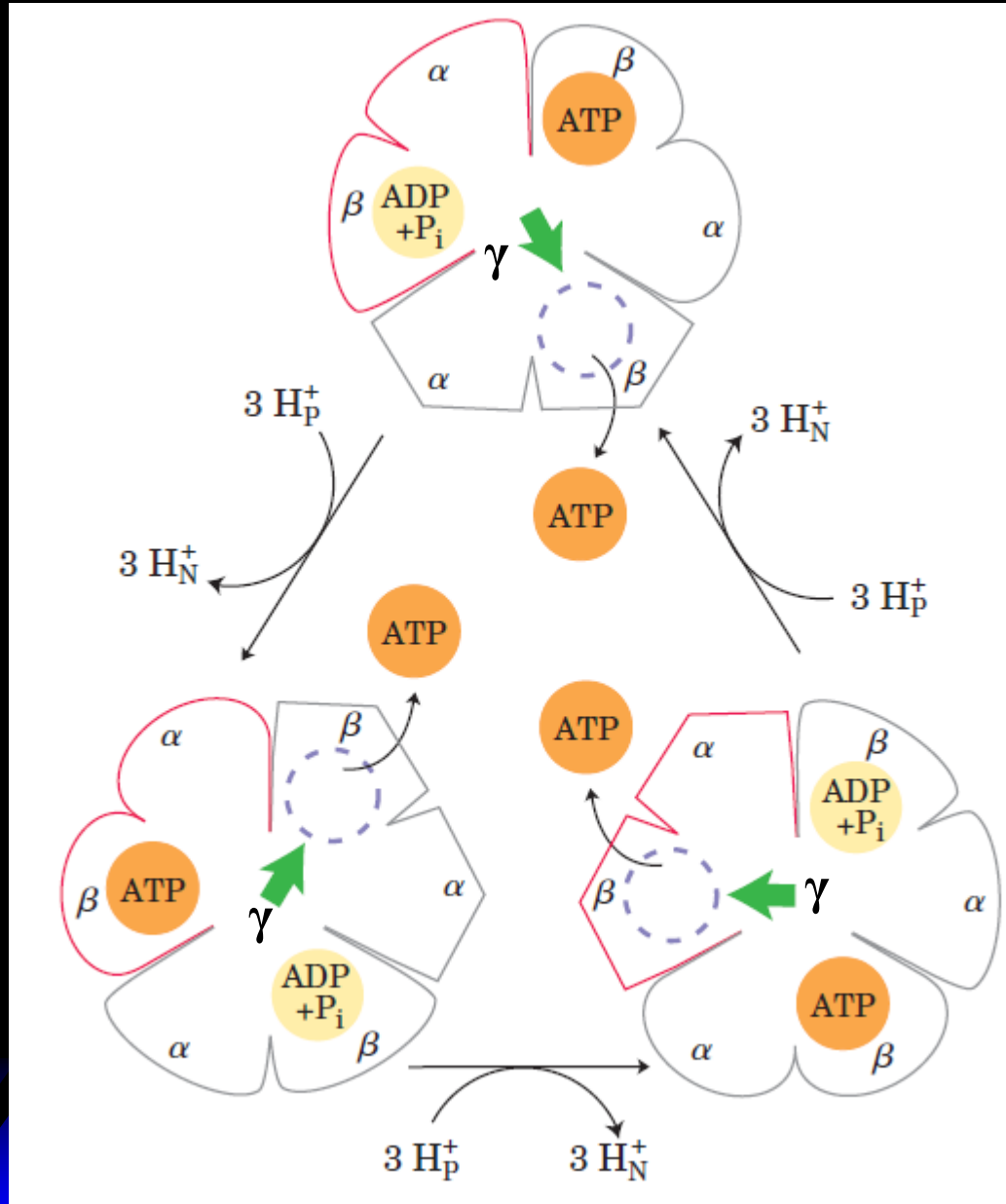
Υπομονάδα a



Περιστροφή δακτυλίου c της F_0 : Μοριακός «κινητήρας»



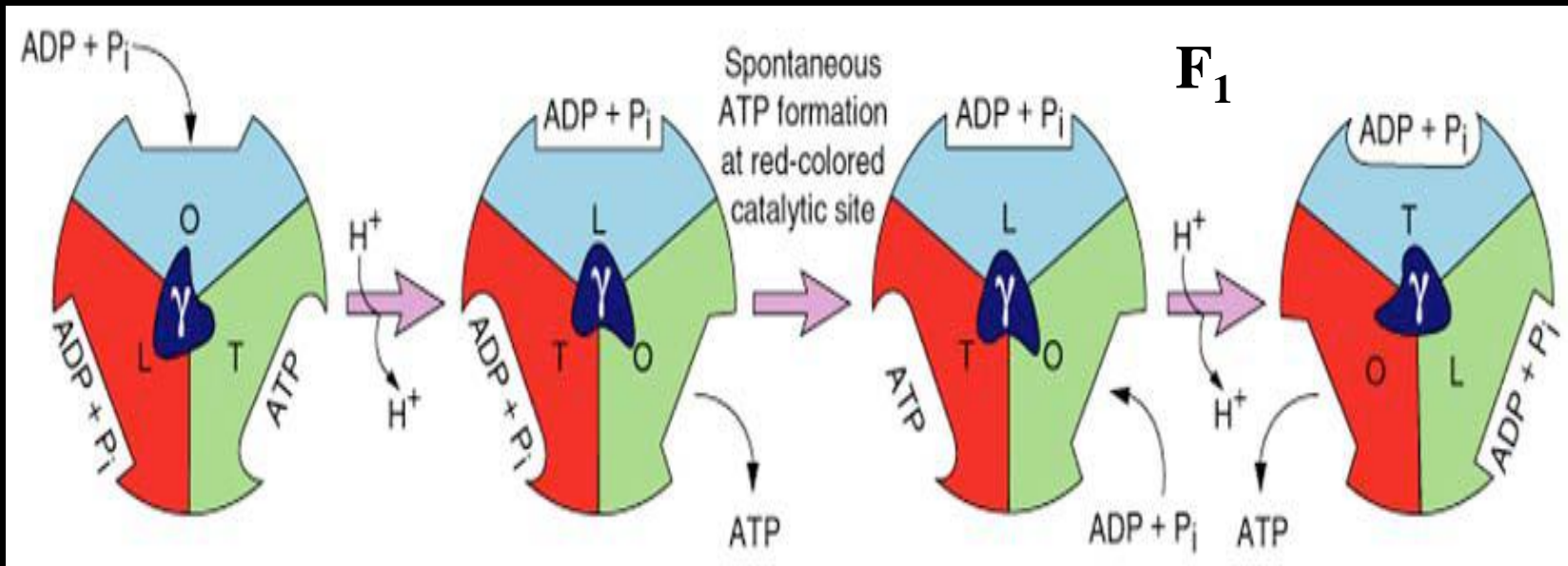
Παραγωγή 3 μορίων ATP από μια περιστροφή



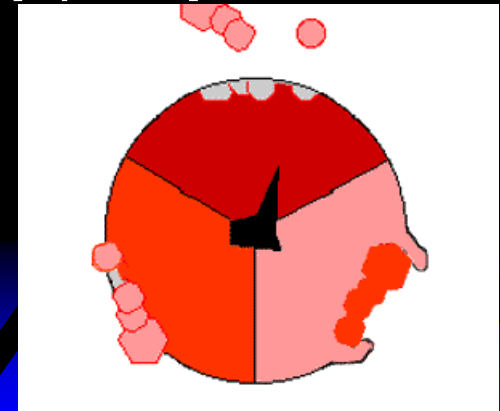
F₁

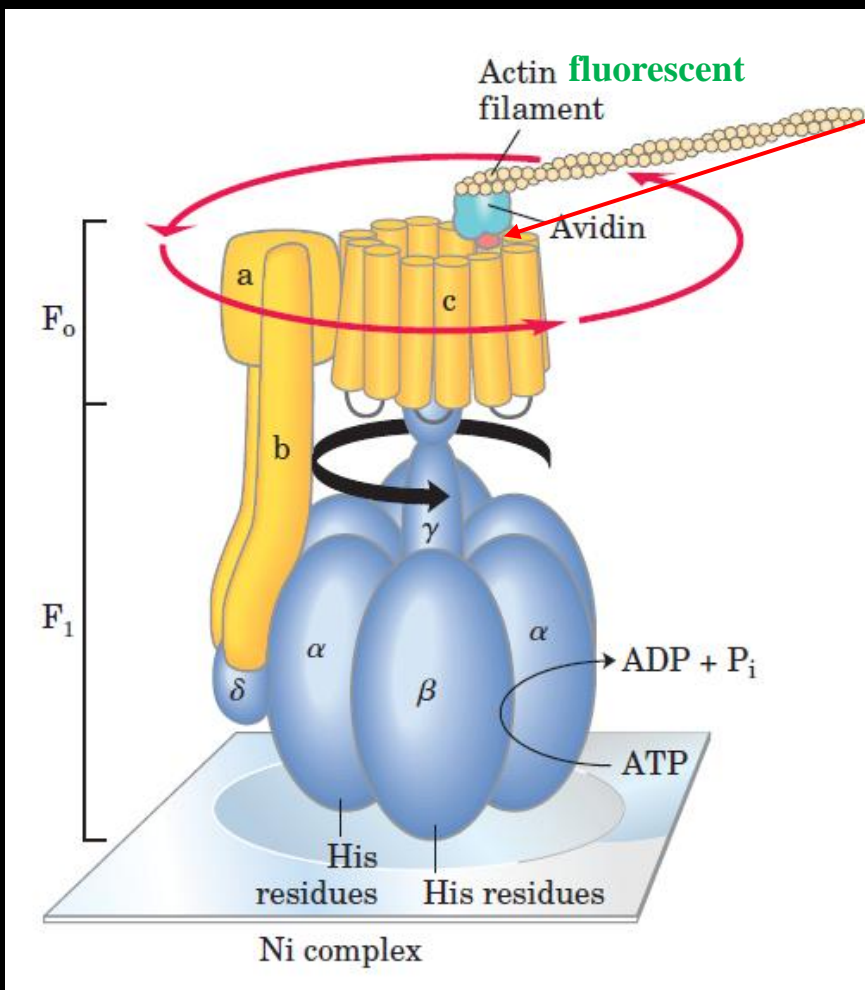
Δεν μπορεί να απελευθερωθεί ATP από μια θέση εάν προηγουμένως δεν προσδεθεί ADP + P_i σε άλλη θέση

Μηχανισμός περιστροφικής κατάλυσης



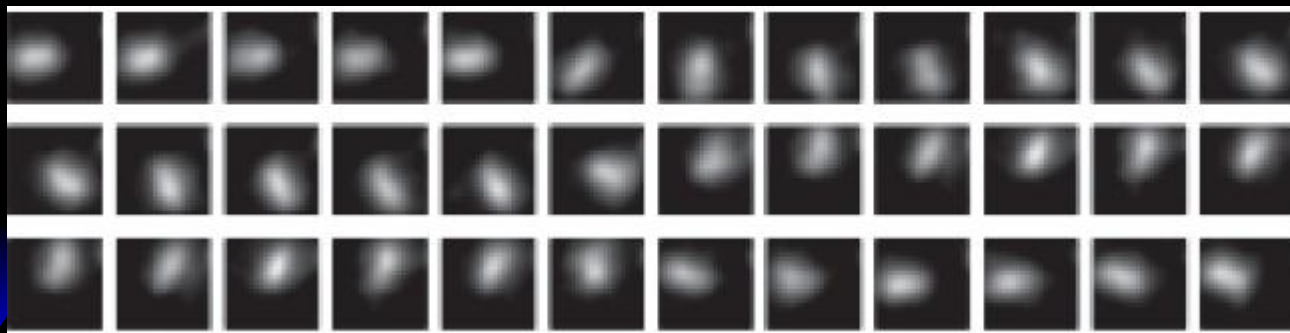
Το ATP συντίθεται στις β υπομονάδες: πάντοτε υπάρχει β-ATP, β-ADP, β-κενό που αλλάζουν διαμόρφωση από O (Open) → L (Loose) → T (Tight)





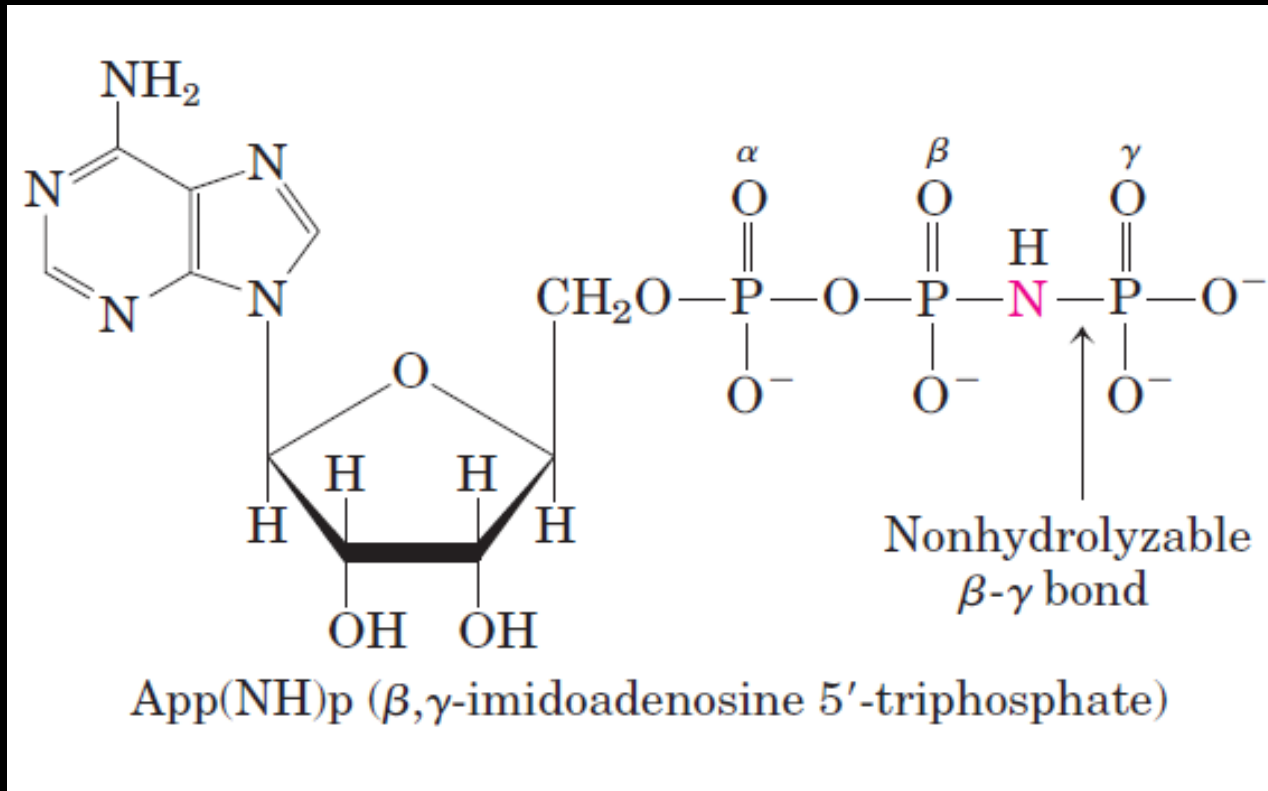
βιοτίνη

Πειραματική
απόδειξη κίνησης
γ υπομονάδας σε
3 ευδιάκριτα
βήματα των 120°



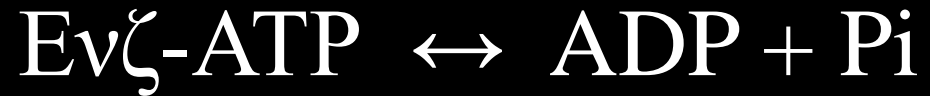
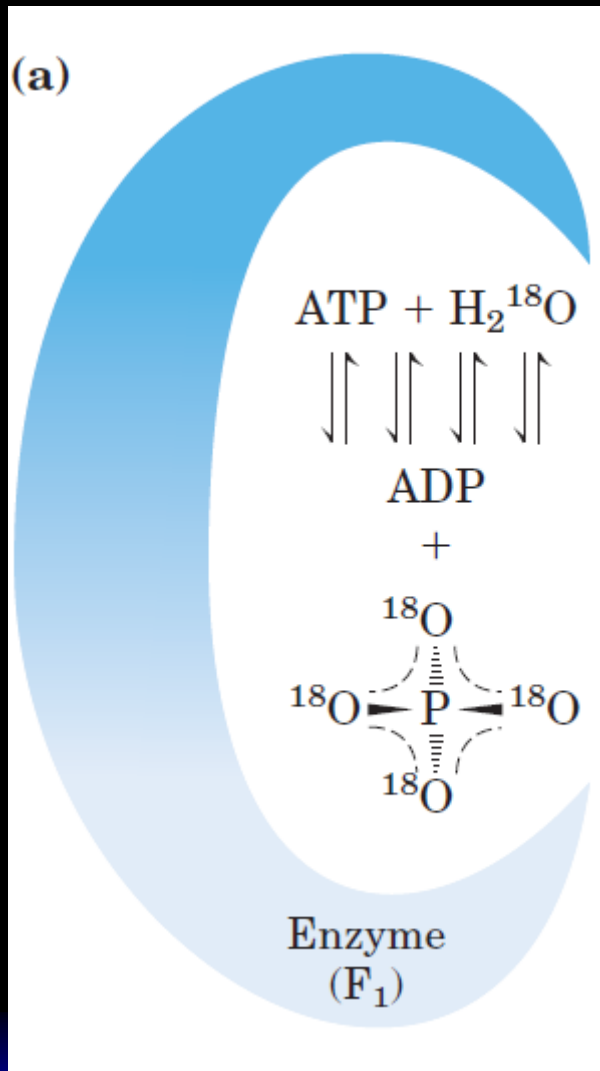
Όταν βιοτίνη
συνδεθεί στη
γ υπομονάδα

Μη-υδρολυόμενο δομικό ανάλογο του ΑΤΡ



Δεσμεύεται ισχυρά στη μία από τις 3 β -υπομονάδες
 $\Rightarrow \beta$ -App(NH)p, στις άλλες δύο: β -ADP, β -κενό

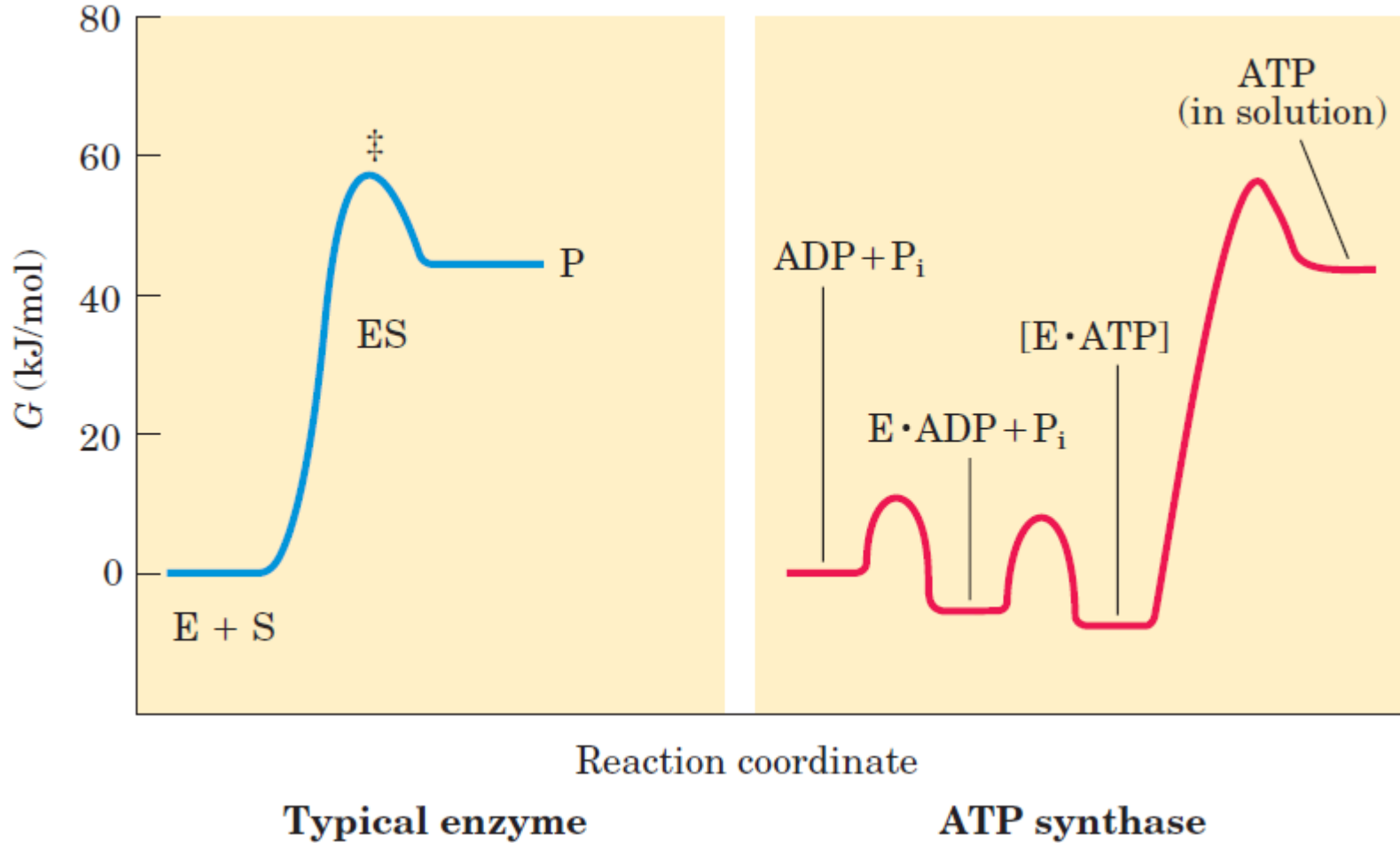
Πείραμα ανταλλαγής ^{18}O



$$\Delta G^{\circ'} \sim 0$$

$$K'_{\text{eq}} = k_{-1} / k_1 = 24 \text{ s}^{-1} / 10 \text{ s}^{-1} = 2,4$$

Η ανταλλαγή ATP/ADP πάνω στο ένζυμο ή μέρος του (F1) δεν απαιτεί ενέργεια αλλά...



... απαιτείται για την απελευθέρωση του ATP στο διάλυμα (παρέχεται από την πρωτονιοκινητική δύναμη)!

Μεταφορείς ATP/ADP και Pi

Intermembrane space

Matrix

**ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ:
ΑΤΡΑΚΤΥΛΟΖΙΔΙΟ**

Adenine nucleotide translocase (antiporter)

ATP⁴⁻
ADP³⁻

ATP⁴⁻
ADP³⁻

ATP synthase

H⁺

H⁺

Phosphate translocase (symporter)

H₂PO₄⁻
H⁺

H₂PO₄⁻

H⁺

ΣΩΜΑΤΙΟ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ATP (3 πρωτεΐνες)

Κατανάλωση ενέργειας (H⁺)

14%
της
εσωτ.
μεμβρ.

1:1

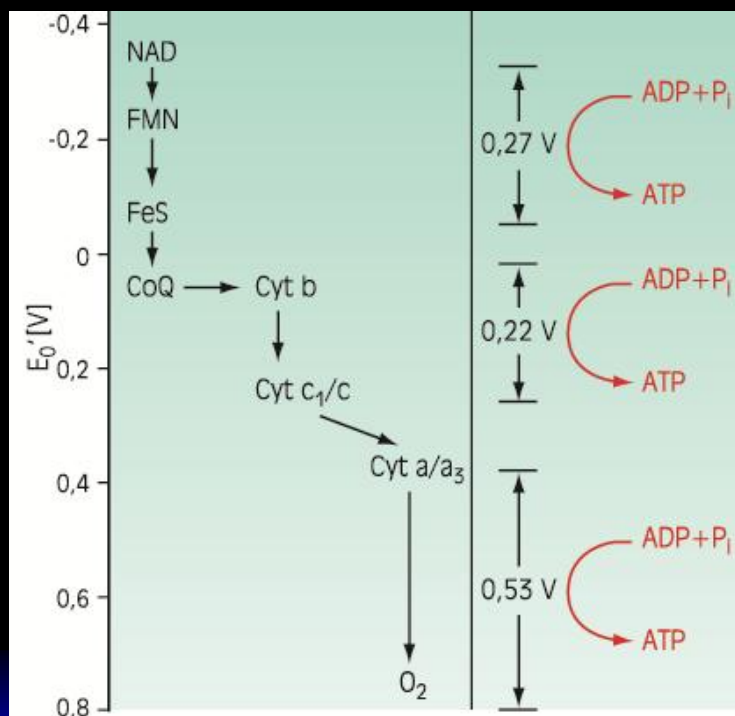
1:1



$x = \text{P} / \text{O} = \text{P} / 2e^- = ?$ (από πειραματικά δεδομένα)

$3 + 1 = 4 \text{H}^+ \Rightarrow$ παραγωγή 1 ATP

$2e^- \text{NADH} \rightarrow 10 \text{H}^+ \Rightarrow 10/4 = 2,5 \text{ATP}$



Σύνολο
1,14 V

Αντίστοιχα για τα $2e^-$ των $\text{FMH}_2/\text{FADH}_2 \rightarrow 6 \text{H}^+ \Rightarrow 6/4 = 1,5 \text{ATP}$

Άλλοι μεταφορείς (carriers)

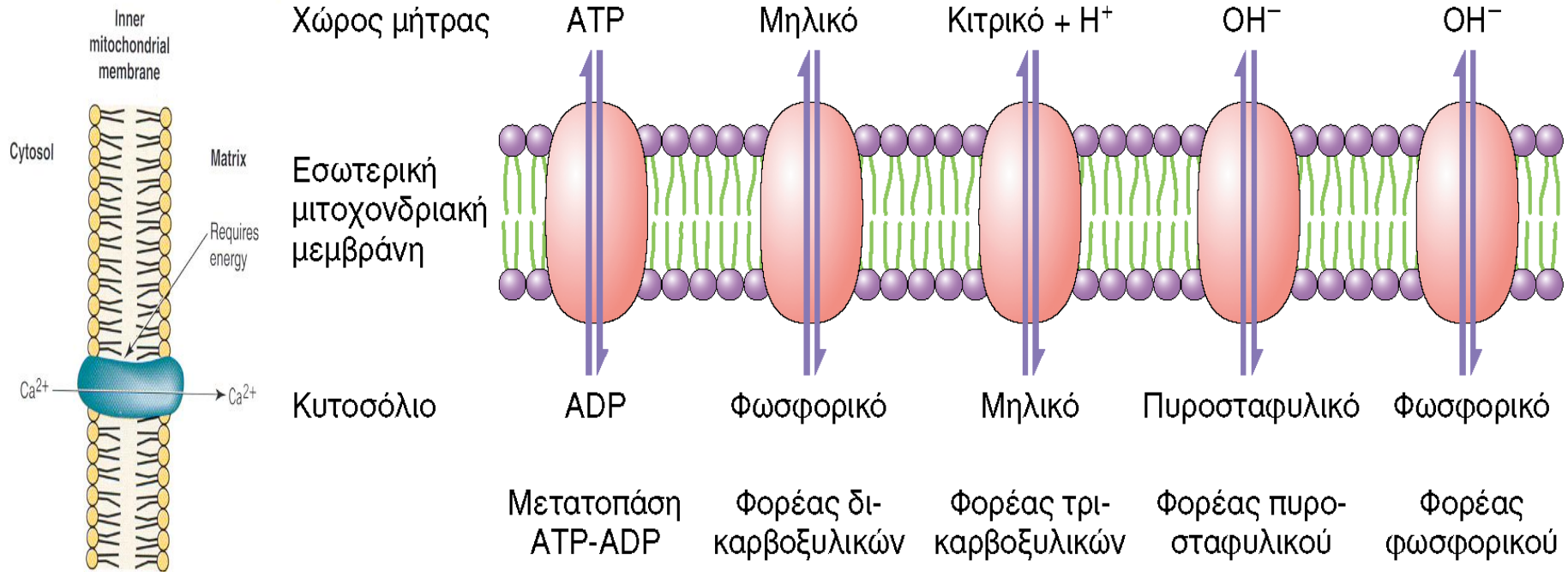
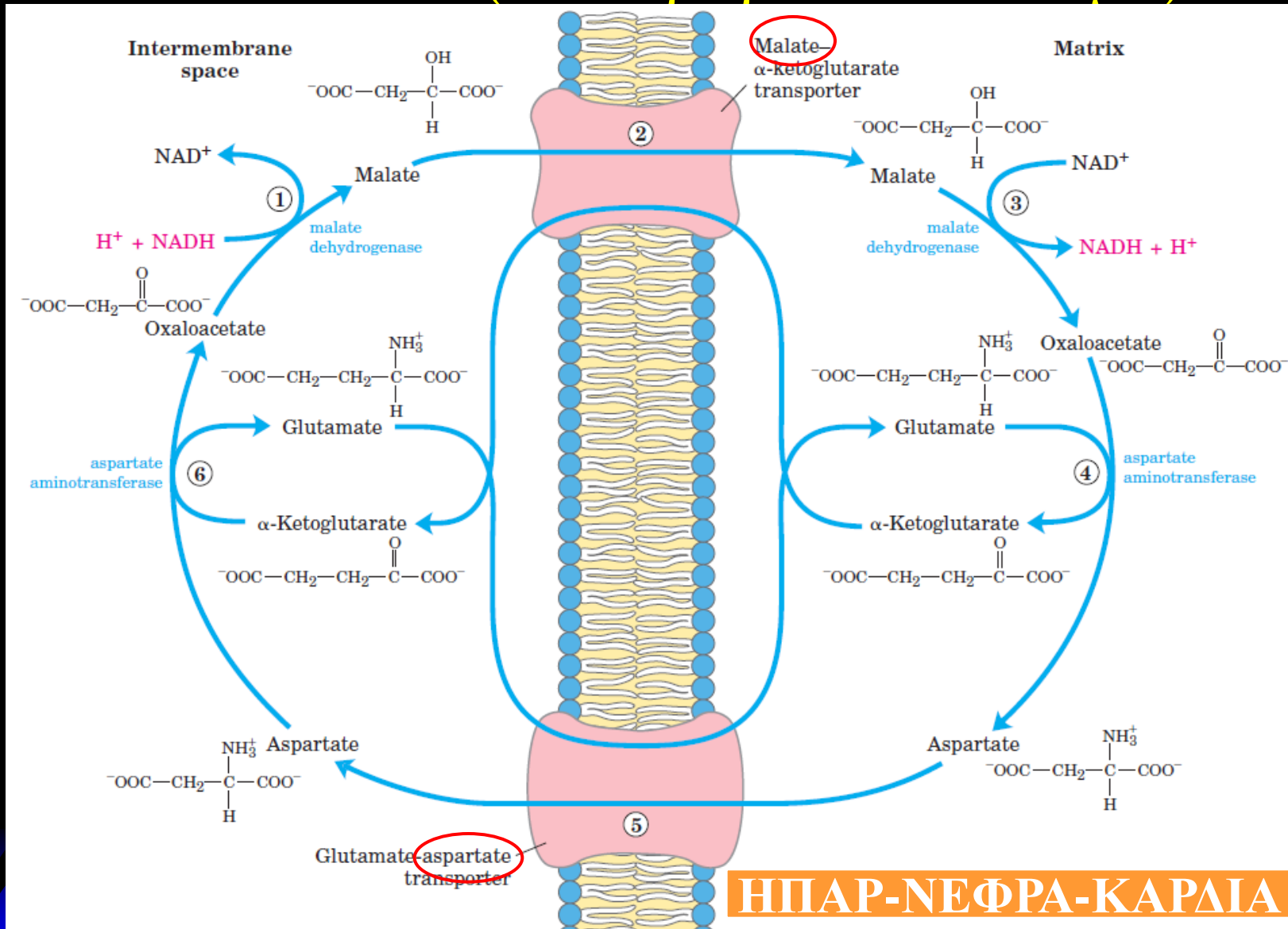


FIGURE 14.58
Mitochondrial calcium carrier.

Ρόλος
στην
απόπτωση

Πηγή
Ακέτυλο-
CoA

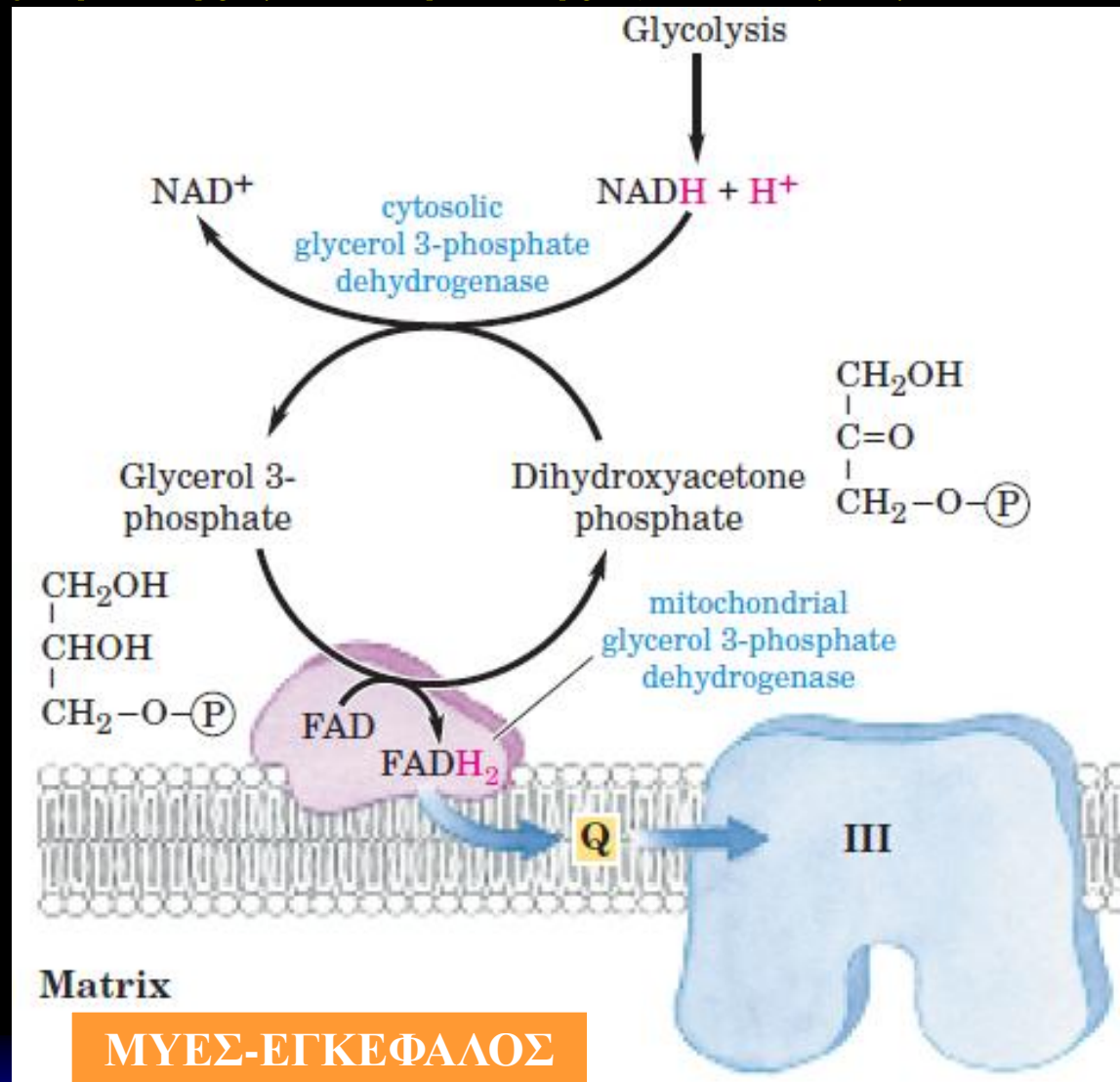
Μεταφορέας μηλικού-ασπαρτικού για κυτοσολικό NADH (2 αναγωγικά ισοδύναμα)



Αναγέννηση
κυτοσολικού
NAD⁺

Αντιστρεπτή μεταφορά με 2 μεταφορείς – 4 ένζυμα

Σύστημα μεταφοράς κυτοσολικού NADH #2 μέσω 3-φωσφορικής γλυκερόλης (2 αναγωγικά ισοδύναμα)



Για υψηλούς ρυθμούς οξειδωτικής φωσφορυλίωσης-
Αναγέννηση κυτοσολικού NAD⁺

Απόδοση ATP από την πλήρη οξείδωση της γλυκόζης

Διεργασία	Άμεσο προϊόν	Τελικό ATP
Γλυκόλυση	2 NADH (κυτταροδιάλυμα) 2 ATP	3 ή 5* 2
Οξείδωση πυροσταφυλικού (2 μόρια/μόριο γλυκόζης)	2 NADH (μιτοχονδριακό στρώμα)	5
Οξείδωση ακετυλο-CoA στον κύκλο Krebs (2 μόρια /μόριο γλυκόζης)	6 NADH (μιτοχονδριακό στρώμα) 2 FADH ₂ 2 ATP ή 2 GTP	15 3 2
	Συνολική απόδοση ανά μόριο γλυκόζης:	30 ή 32*

*ο αριθμός εξαρτάται από το σύστημα που μεταφέρει αναγωγικά ισοδύναμα στο μιτοχόνδριο

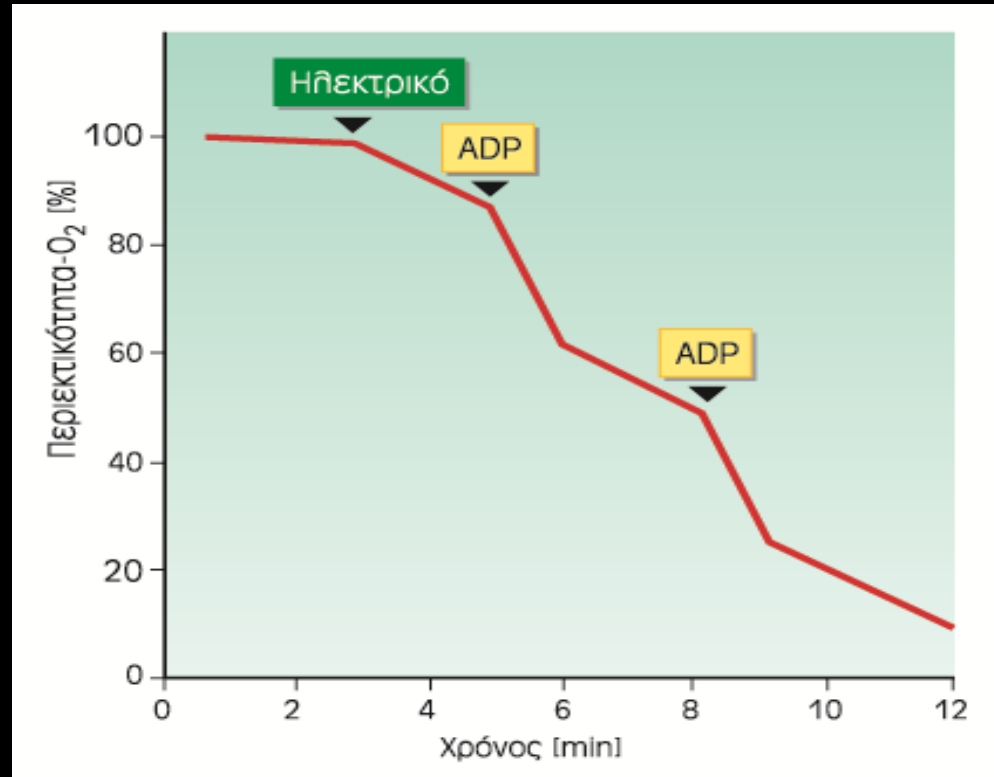
Hinkle P. et al., Biochemistry (1991), 30, 3576

Αναερόβια γλυκόλυση μόνο 2 ATP!

Αναπνευστικός έλεγχος:

Ρύθμιση ταχύτητας αναπνοής (κατανάλωσης O_2)

Σε απομονωμένα μιτοχόνδρια:



+ P_i

Άλλα υποστρώματα:

Μηλικό,

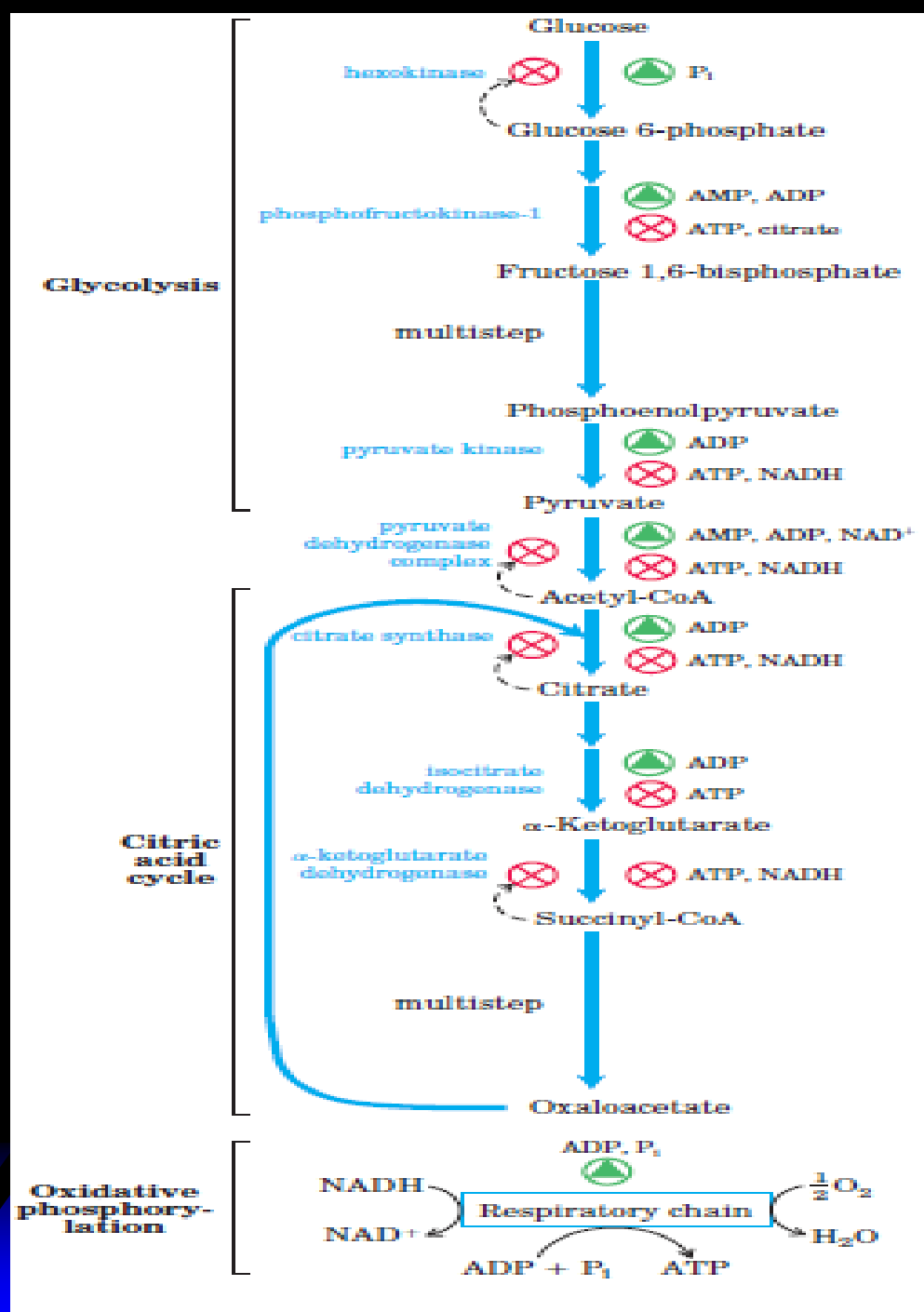
Πυροσταφυλικό κλπ

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΔΕΚΤΗ = ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ O_2 /ADP
ΛΟΓΟΣ ΜΑΖΑΣ-ΔΡΑΣΗΣ: $[ATP]/[ADP]*[P_i]$ ($\downarrow \Rightarrow$ αναπνοή \uparrow)

Ρύθμιση οξειδωτικής φωσφορυλίωσης

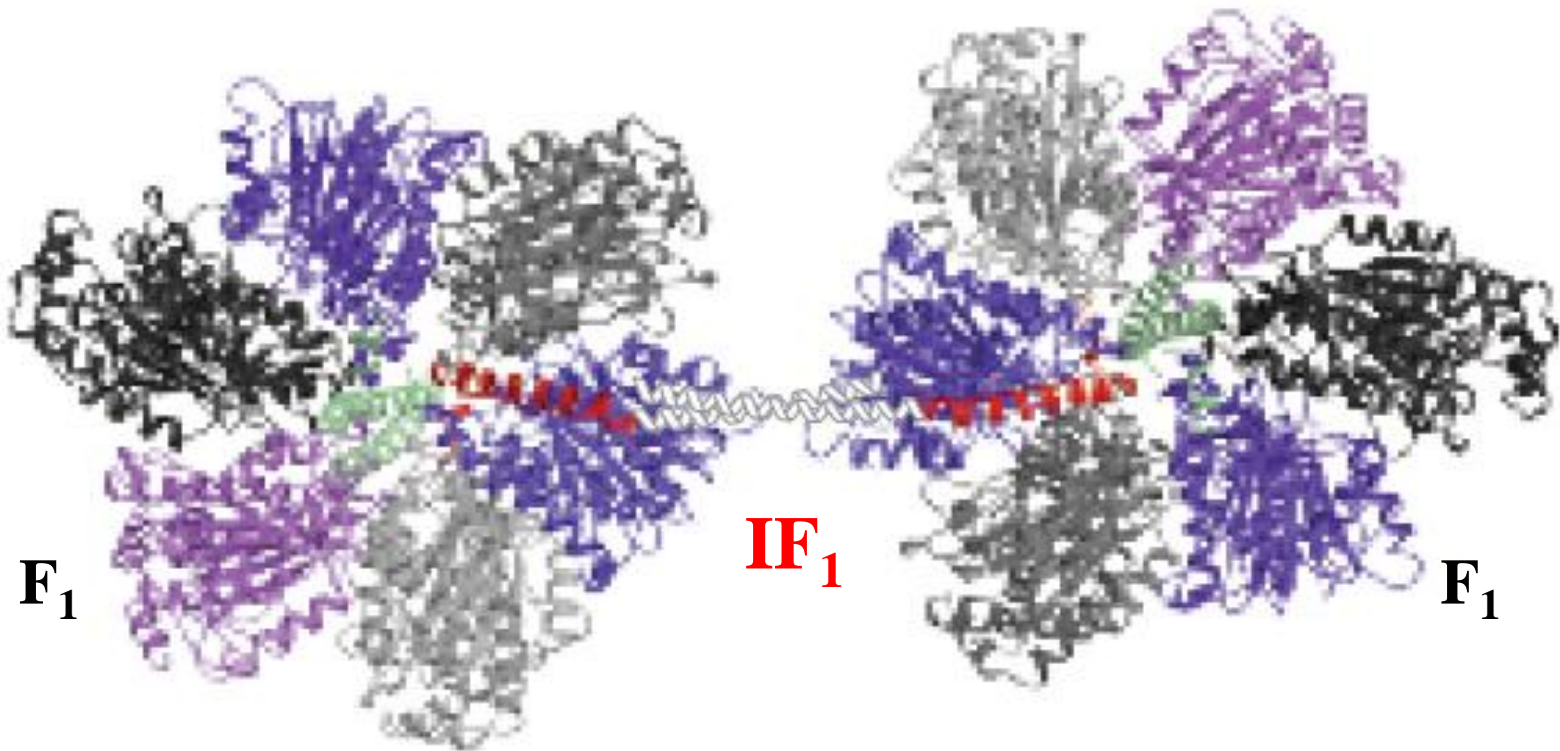
ATP ↓ → γλυκόλυση + TCA ↑
 → αναγωγικά ισοδύναμα ↑
 → e⁻ ↑ → ATP ↑

Αλλοστερική ρύθμιση μέσω ATP ή ADP



Αναστολή ATP συνθάσης (ΑΤΡάσης) στην ισχαιμία

Ένδεια O_2 → αύξηση πυροσταφυλικού ή γαλακτικού → pH ↓
→ διμερισμός και ενεργοποίηση της IF_1



ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΤΡ ΜΕ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ
ΔΙΜΕΡΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ-ΑΝΑΣΤΟΛΕΑ IF_1 (pH < 6,5)



Αποσύζευξη στο φαιό λιπώδη ιστό

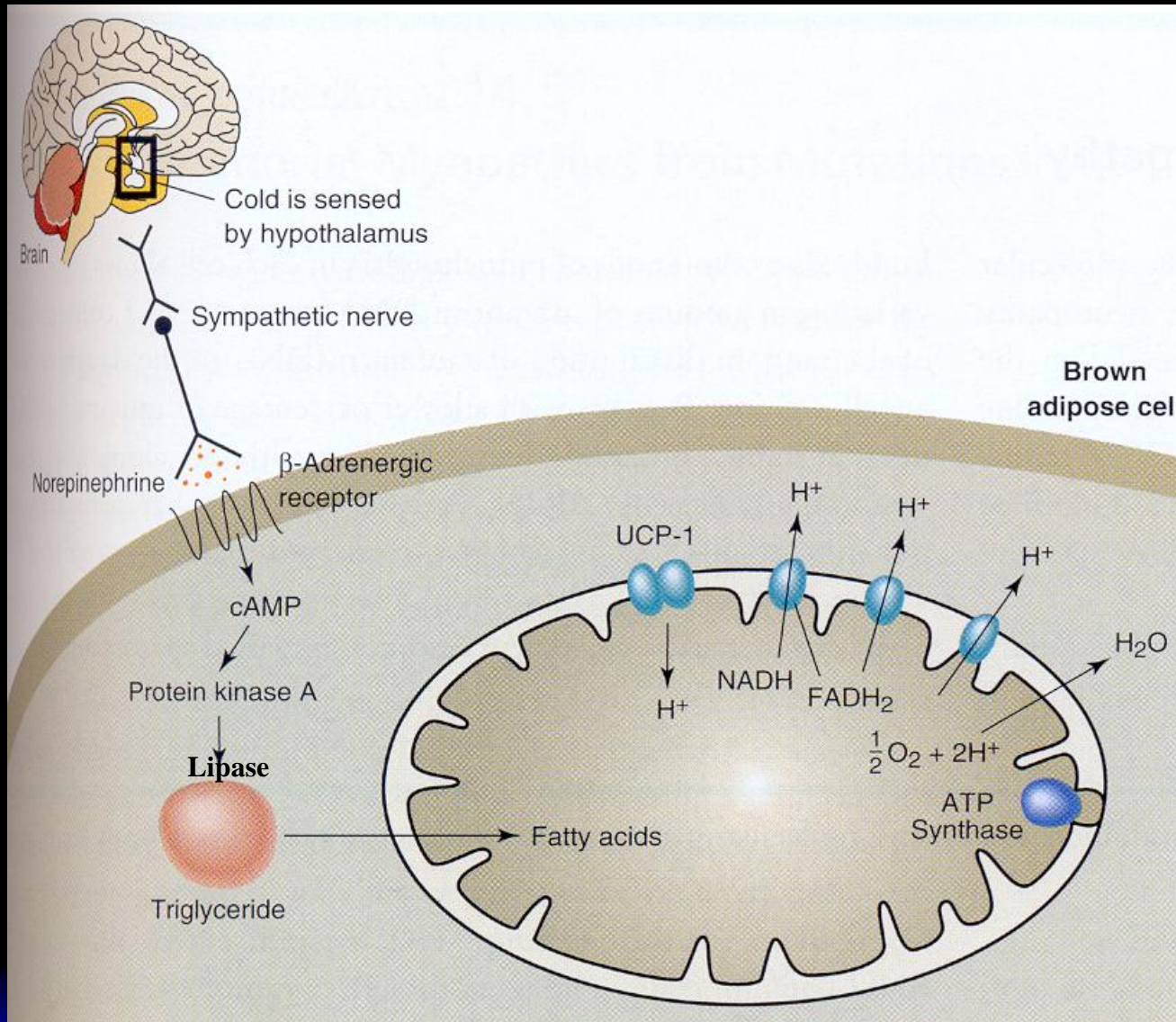


Στο λαιμό, στέρνο,
μεταξύ των ώμων,
γύρω από τους
νεφρούς
*(φαιός λόγω μεγάλου
αριθμού μιτοχονδρίων και
κυτοχρωμάτων)*

Πετούν τις κουβέρτες
στο μέσο της νύχτας!

Μη-τρομώδη (Non-shivering) θερμογένεση
Επίσης στη χειμερία νάρκη

Ενεργοποίηση UCP-1 (Uncoupling protein-1)



«Βραχυκύκλωμα
ATP συνθάσης»

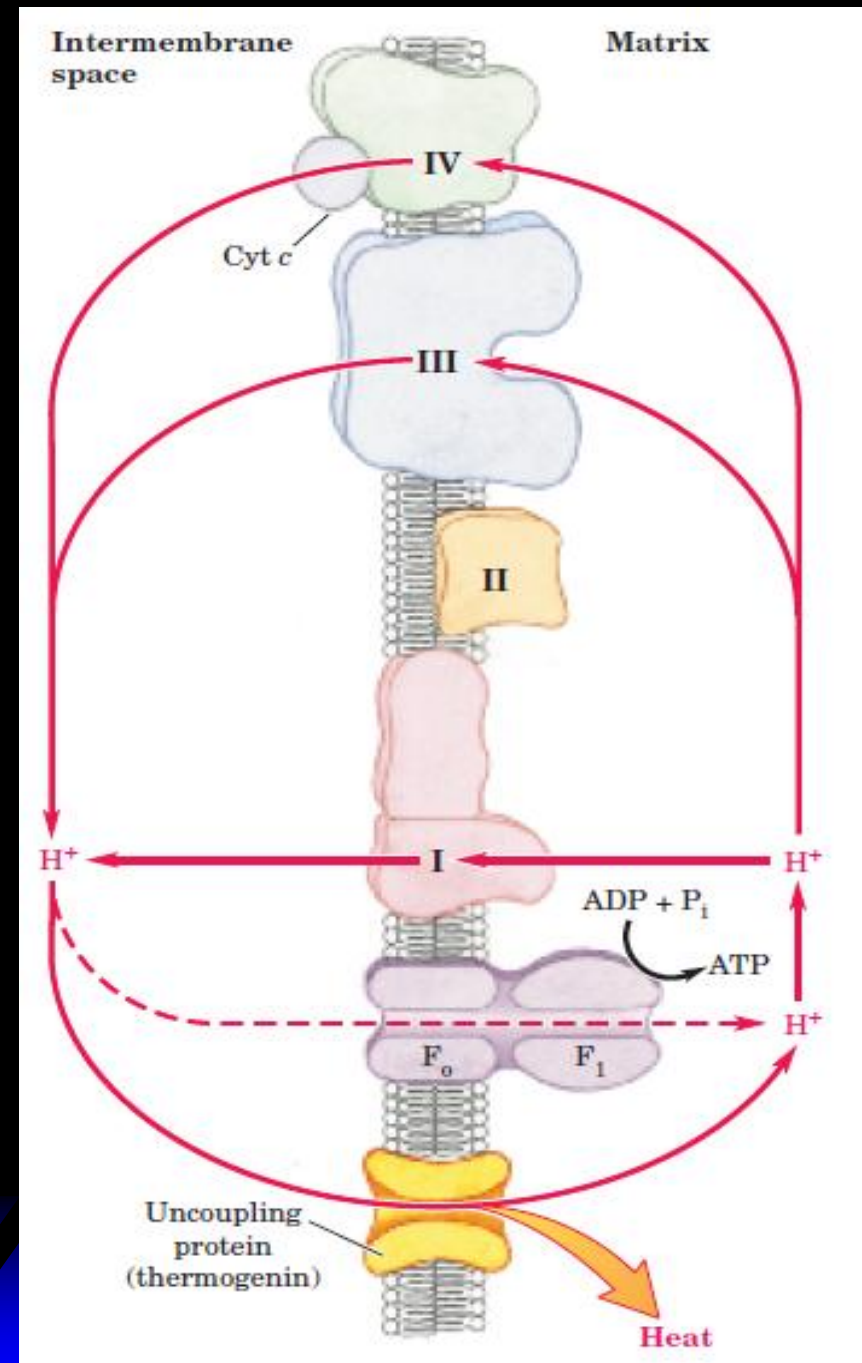
Στο φαιό λίπος, μεγάλη ποσότητα UCP-1 (επαγόμενη σε χειμερία νάρκη)

Θερμογενίνη

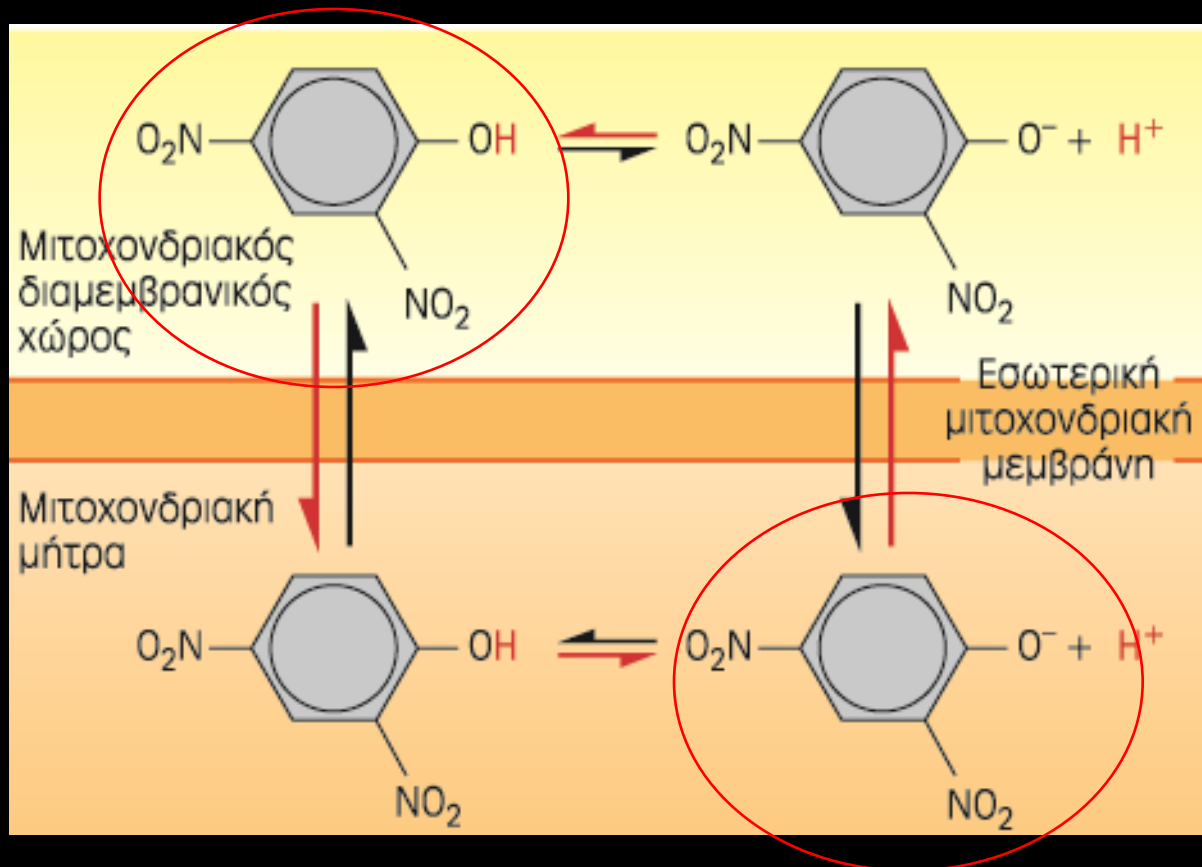
Επίσης UCP-2, -3, -4, -5 με αρκετή ομολογία

Αποσυζεύκτες κατά παχυσαρκίας?

Ενέργεια θα μετατραπεί σε θερμότητα
→ πιθανή βλάβη σε ιστούς?



Αποσύζευξη μέσω υδρόφοβου 2,4-DNP

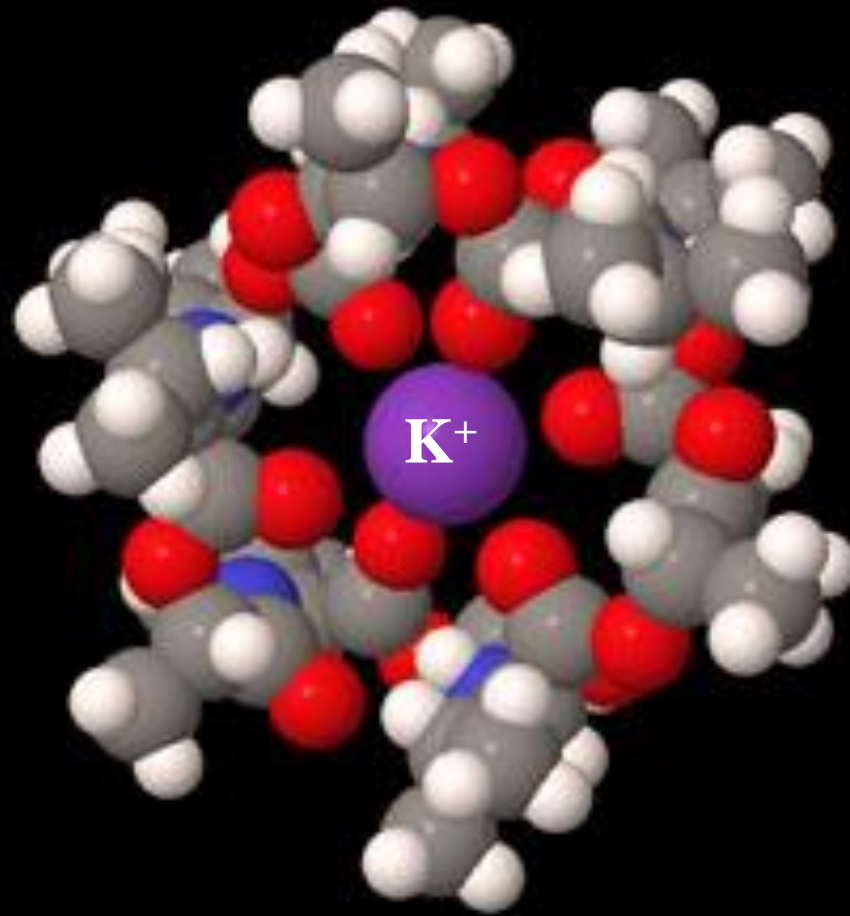


P side
Χαμηλό
pH
(H⁺↑)

N side
Υψηλό pH
(H⁺↓)

Επίσης FCCP (παράγωγο φαινυλδραζόνης)
Περιορίζουν σημαντικά τη βαθμίδωση πρωτονίων

**Βαλινομυκίνη: ιοντοφόρο μεταφοράς
ιόντων K^+ διαμέσου μεμβρανών**



Αναστολείς της αναπνευστικής αλυσίδας

- ◆ Η διερεύνηση της αλληλουχίας των συστατικών της αναπνευστικής αλυσίδας με τη χρήση αναστολέων της ροής των ηλεκτρονίων:
- ◆ ροτενόνη και αμυτάλη είναι αναστολείς του I
- ◆ αντιμυκίνη A είναι αναστολέας του III
- ◆ ιόντα κυανίου και CO είναι αναστολείς του IV
- ◆ ολιγομυκίνη είναι αναστολέας της μιτοχονδριακής ATP συνθάσης
- ◆ Η αναστολή στη ροή ηλεκτρονίων προκαλεί αντίστοιχη αναστολή στη σύνθεση ATP

TABLE 19-4 Agents That Interfere with Oxidative Phosphorylation or Photophosphorylation

<i>Type of interference</i>	<i>Compound*</i>	<i>Target/mode of action</i>
Inhibition of electron transfer	Cyanide	Inhibit cytochrome oxidase
	Carbon monoxide	
Inhibition of ATP synthase	Antimycin A	Blocks electron transfer from cytochrome <i>b</i> to cytochrome <i>c</i> ₁
	Myxothiazol	
	Rotenone	Prevent electron transfer from Fe-S center to ubiquinone
	Amytal	
	Piericidin A	
	DCMU	
Inhibition of ATP synthase	Aurovertin	Competes with Q _B for binding site in PSII
	Oligomycin	Inhibits F ₁
	Venturicidin	
	DCCD	Inhibit F _o and CF _o
Uncoupling of phosphorylation from electron transfer	FCCP	Blocks proton flow through F _o and CF _o
	DNP	
	Valinomycin	Hydrophobic proton carriers
	Thermogenin	K ⁺ ionophore
		In brown fat, forms proton-conducting pores in inner mitochondrial membrane
Inhibition of ATP-ADP exchange	Attractyloside	Inhibits adenine nucleotide translocase

*DCMU is 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea; DCCD, dicyclohexylcarbodiimide; FCCP, cyanide-*p*-trifluoromethoxyphenylhydrazone; DNP, 2,4-dinitrophenol.

Πρωτεΐνες της αναπνοής που κωδικοποιούνται από μιτοχονδριακά γονίδια του ανθρώπου

	Σύμπλοκο	Αριθμός υπομονάδων	Αριθμός υπομονάδων που κωδικοποιούνται από mtDNA	Γονίδια
I	Δεϋδρογονάση NADH	43	7	ND 1-6
II	Δεϋδρογονάση ηλεκτρικού	4	0	
III	Οξειδοαναγωγή ουβικινόνης: κυτοχρώματος c	11	1	Cyt b
IV	Οξειδάση κυτοχρώματος	13	3	CO I-III
V	ATP Συνθάση	8	2	Mt-ATPase6 (a F _o) Mt-ATPase8 (c F _o)

Άθροισμα : 13

900 ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΑΠΟ ΠΥΡΗΝΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ, ΣΥΝΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΕΙΣΕΡΧΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ

Γενικές αρχές μιτοχονδριακών νοσημάτων

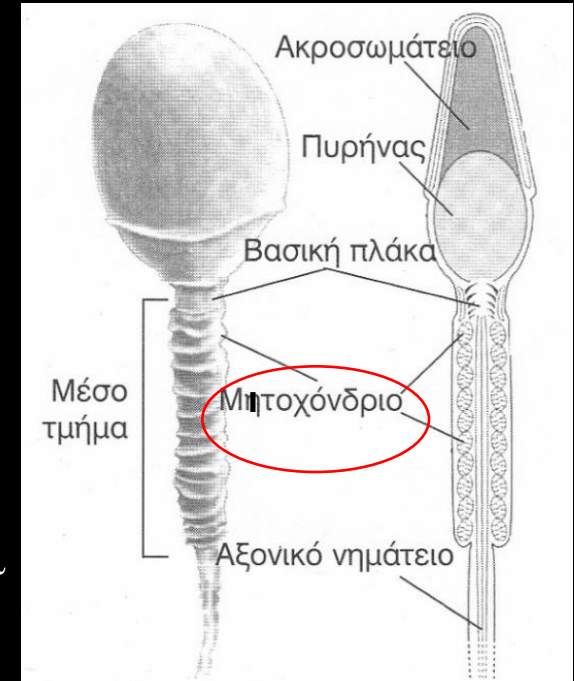
Σε ασθενείς:

Κληρονομούνται από τη μητέρα

Βαρύτητα των νοσημάτων ποικίλλει λόγω:
-ουδό έκφρασης, Φαινόμενο ετεροπλασμίας
-υψηλό ρυθμό μετάλλαξης στο mtDNA
(εκτεθειμένο στις ελεύθερες ρίζες του μιτοχονδρίου χωρίς την προστασία ιστονών και χωρίς καλά συστήματα DNA επιδιόρθωσης)-
επιπρόσθετες «σωματικές» μεταλλάξεις

Σε φυσιολογικά άτομα αναμένονται «σωματικές» μεταλλάξεις και πτώση της ικανότητας οξειδωτικής φωσφορυλίωσης με την ηλικία και αύξηση ελεύθερων ριζών – «γηρασμένα» μιτοχόνδρια

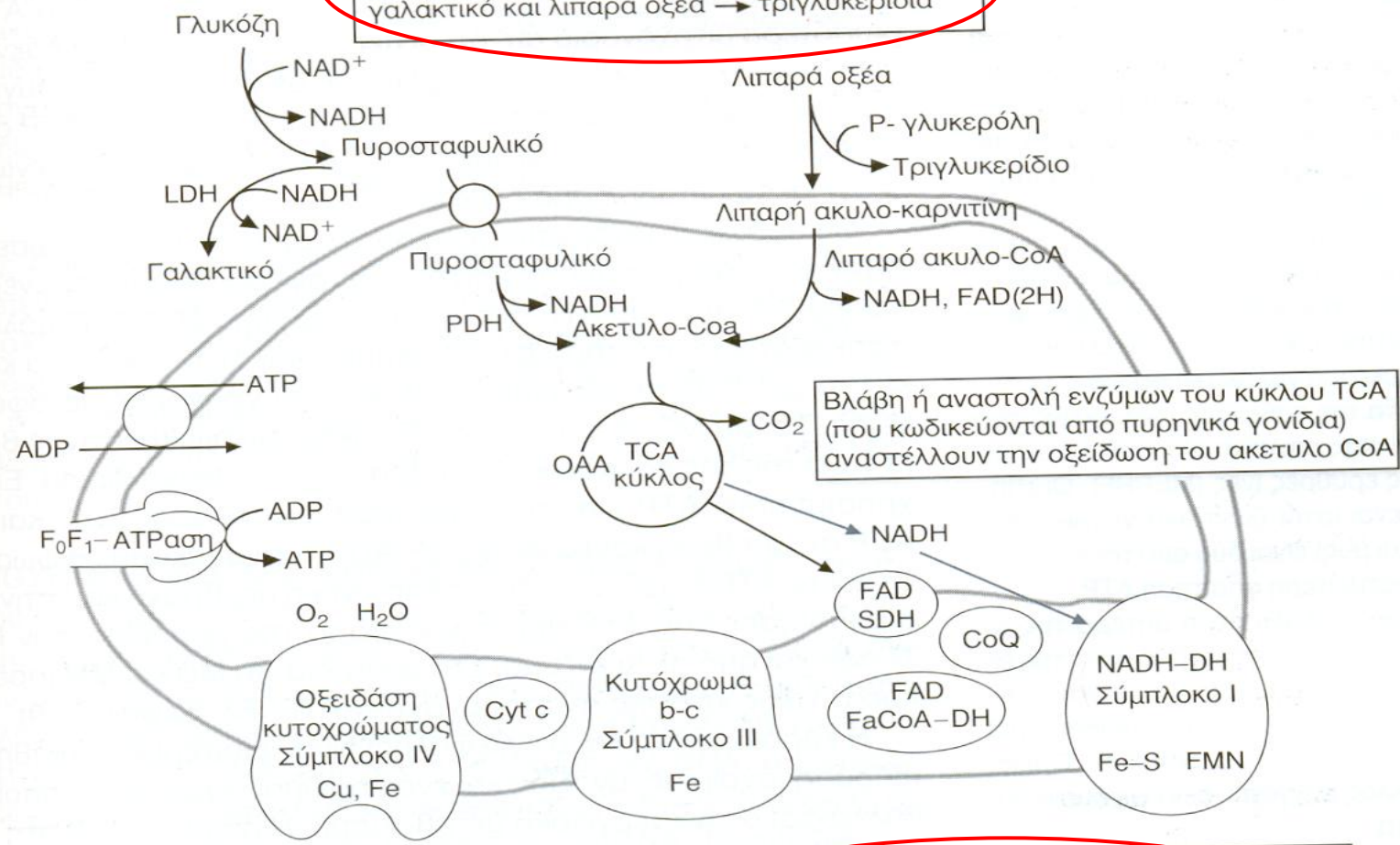
Γενετικές νόσοι μιτοχονδριακής λειτουργίας προκύπτουν και από μεταλλάξεις στο πυρηνικό DNA: επιπτώσεις σε καρδιά, μύες, νευρικό ιστό, νεφρούς



Σπερματοζώαριο

Δυσλειτουργούντα μιτοχόνδρια

Ελαττωμένη οξειδωση NADH και FAD(2H) στην αλυσίδα ET καταλήγει σε πυροσταφυλικό → γαλακτικό και λιπαρά οξέα → τριγλυκερίδια



Ανοξία, ισχαιμία, κυάνιο, δηλητηρίαση με CO και άλλες διακοπές της αλυσίδας ET εμποδίζουν την ροή ηλεκτρονίων και την σύνθεση ATP

Γενετικές βλάβες σε πρωτεΐνες που κωδικεύονται από μιτοχονδριακό DNA (μερικές υπομονάδες των συμπλεγμάτων I, III, IV, και FoFi-ATPase) ελαττώνουν την μεταφορά ηλεκτρονίων και την σύνθεση ATP



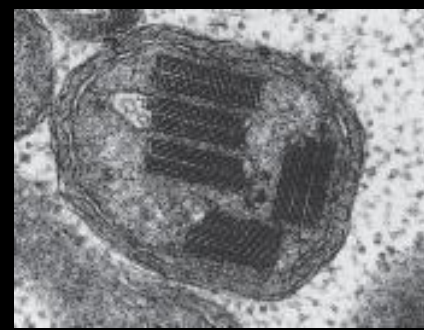
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

- ◆ Κληρονομική οπτική νευροπάθεια του Leber (**LHON**, **LEBER'S** **HEREDITARY** **OPTIC** **NEUROPATHY**):
 - Σπάνιο νόσημα
 - Μετάλλαξη στο ND4 (His αντί Arg) του συμπλόκου I (επίσης ND1, ND6)
 - Ελαττωματική μεταφορά από NADH προς Q
 - Νευρολογικές διαταραχές και αμφοτερόπλευρη τύφλωση σε νεαρή ηλικία
 - Επί πλέον και μετάλλαξη και στο γονίδιο του cyt b πιθανόν από δευτεροπαθή βλάβη (πολλές ανάλογες «σωματικές» μεταλλάξεις στο cyt b σε ανθρώπους με έλλειψη αντοχής στην άσκηση)



ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΕΣ

ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΕΣ (tRNA)



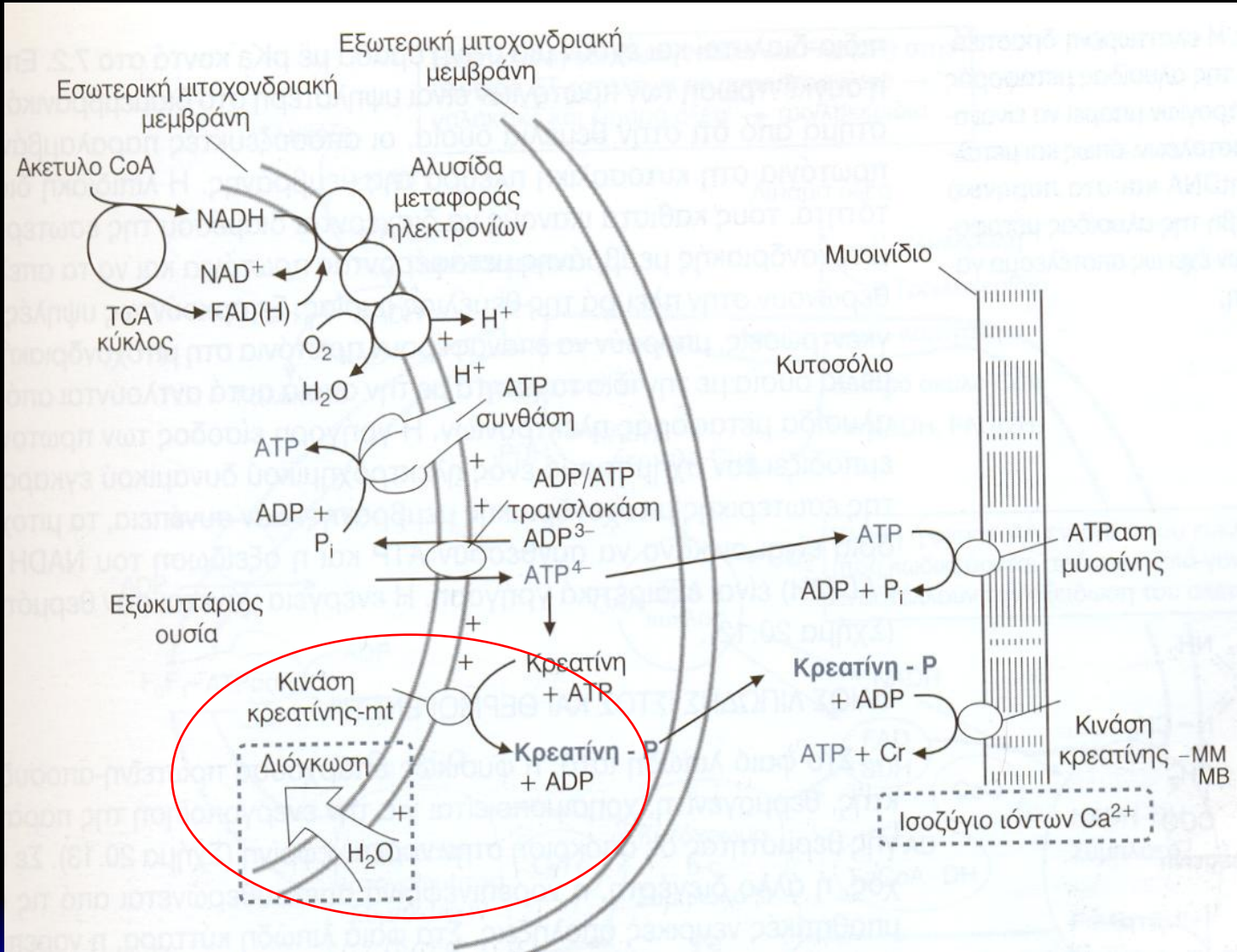
◆ ΜΥΟΚΛΟΝΙΚΗ ΕΠΙΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΝΟΣΟΣ ΤΩΝ ΑΝΩΜΑΛΩΝ ΚΟΚΚΙΝΩΝ ΙΝΩΝ (Νόσος του **MERRF**, ΜΥΟΚΛΟΝΙΚΗ ΕΠΙΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΡΑΓΓΕΔ-ΡΕΔ ΦΙΒΕΡ ΔΙΣΕΑΣΗ) :

- Μετάλλαξη στο γονίδιο mt-tRNA^{Lys}
- Ελαττωματική παραγωγή πολλών πρωτεϊνών (π.χ. οξειδάσης κυτοχρώματος c)
- «Συγγενής» γαλακτική οξέωση: συσσώρευση γαλακτικού και πυροσταφυλικού στο κυτοσόλιο
- Οι γραμμωτοί μύες έχουν τραχείες ερυθρές ίνες με ανώμαλα μιτοχόνδρια με παρακρυσταλλικές δομές
- Κλινικά παρουσιάζουν ανεξέλεγκτες μυοκλονική επιληψία, αταξία, μυοπάθεια, υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια

◆ **MELAS** (ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗ ΜΥΟΠΑΘΕΙΑ, ΕΝΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ ΛΑΚΤΙΚΗ ΑΚΙΔΩΣΗ ΣΤΡΟΚΕ-ΛΙΚΗ)

- Μετάλλαξη στο γονίδιο mt-tRNA^{Leu}
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II ενηλίκων, κώφωση (ελαφριά μορφή, <5-30% μεταλλαγμένο mtDNA)

Μεταβολισμός στην καρδιά

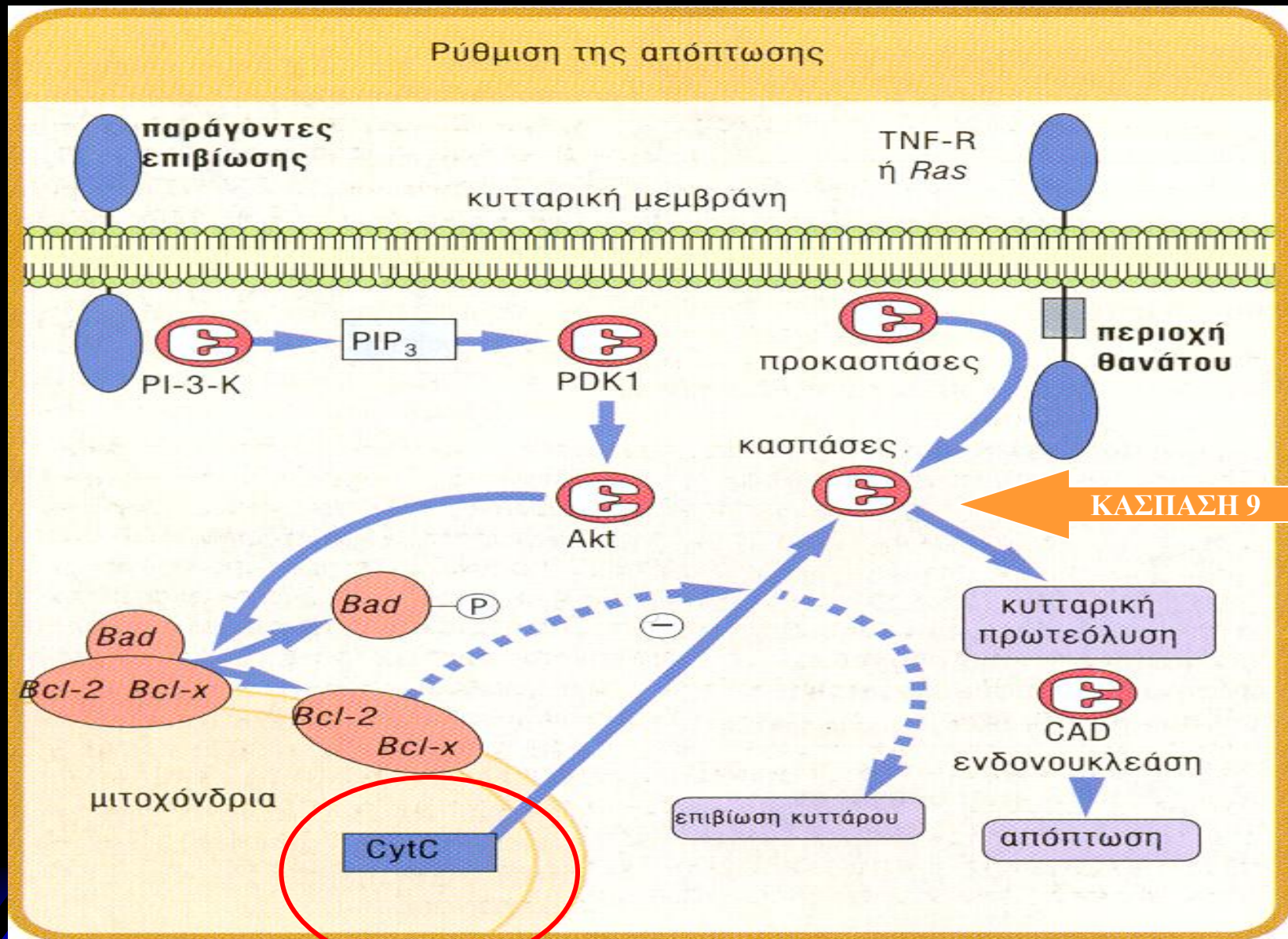


ΑΠΟΠΤΩΣΗ

ΟΙ ΚΑΣΠΑΣΕΣ (ΠΡΩΤΕΑΣΕΣ ΚΥΣΤΕΪΝΗΣ) ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ:

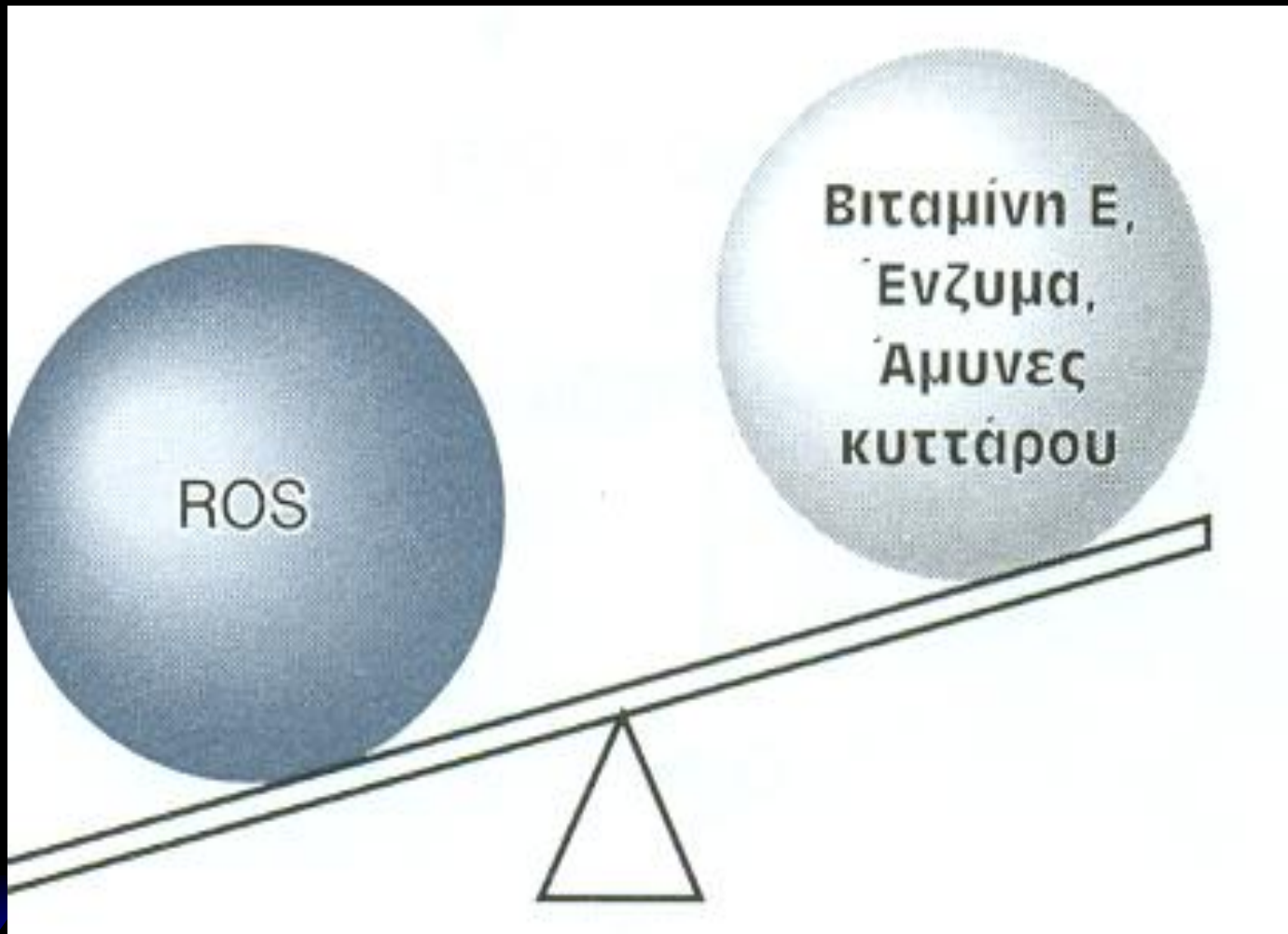
- ❖ Αναστολή εξέλιξης κυτταρικού κύκλου
- ❖ Απενεργοποίηση των ομοιοστατικών και επιδιορθωτικών μηχανισμών
- ❖ Έναρξη αποσύνδεσης του κυττάρου από τις γειτονικές δομές του ιστού
- ❖ Διάλυση δομικών συστατικών όπως ο κυτταροσκελετός
- ❖ Σηματοδότηση του κυττάρου που πεθαίνει για φαγοκυττάρωση

ΑΠΟΠΤΩΣΗ → ΜΟΡΦΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΕΝΟΥ ΚΥΤ. ΘΑΝΑΤΟΥ



Ενεργοποίηση DNase

Οξειδωτικό στρες



ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ;

- ◆ Άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια
- ◆ Οι κυριότερες είναι: $\text{OH}\cdot$, O_2^- (σούπερ-οξειδίο), H_2O_2 , Υποχλωριώδες HOCl , Οργανικά υπεροξειδία, Οργανικές ρίζες, $\text{NO}\cdot$ και το Περοξυνιτρώδες $\text{ONOO}\cdot$
- ◆ Το O_2 έχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια με παράλληλα spin
- ◆ Για να αντιδράσει το O_2 με άλλα μόρια πρέπει να αλλάξει spin που είναι δύσκολο λόγω θερμοδυναμικού φράγματος

ΠΩΣ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΙ ΟΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

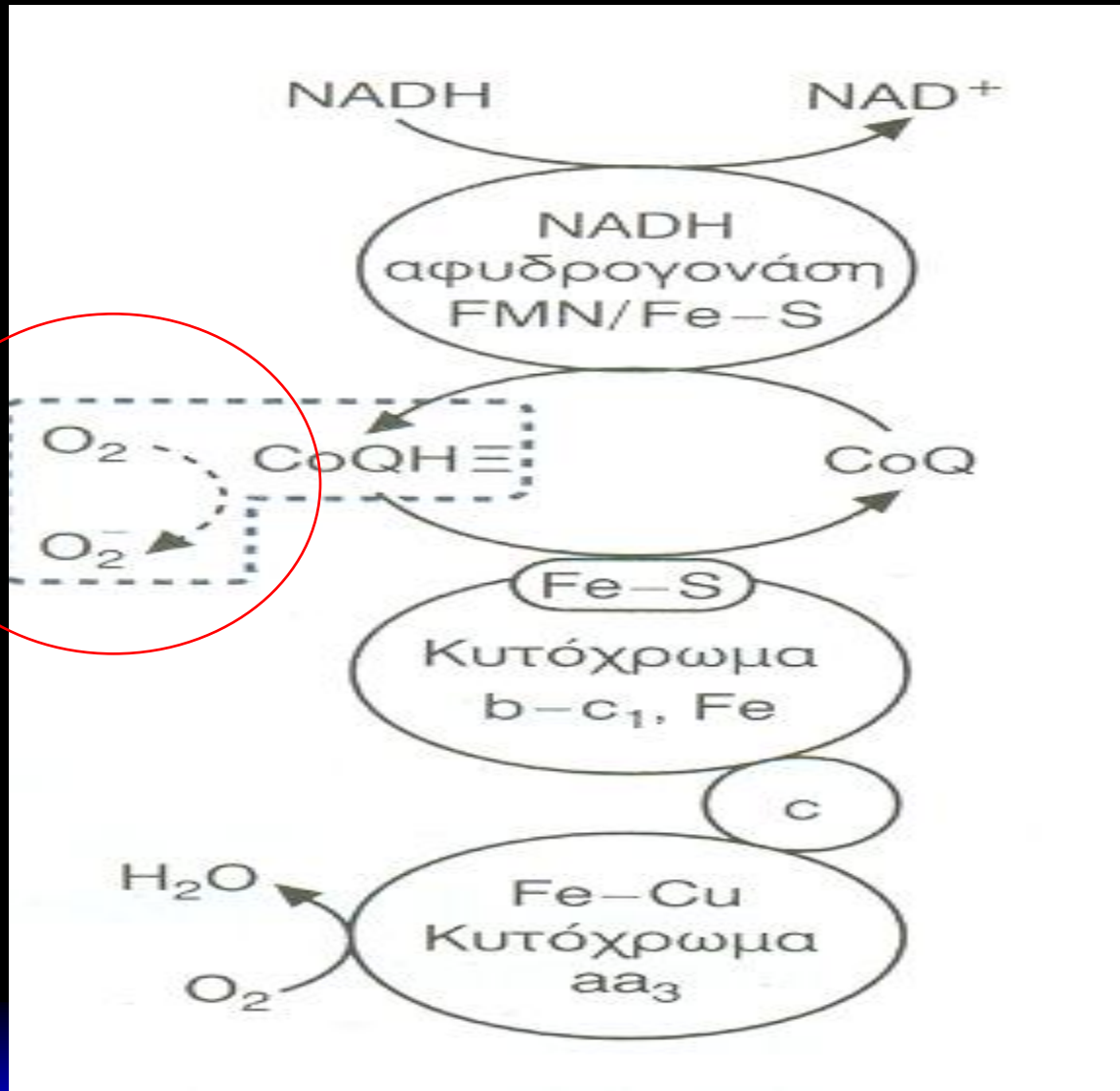
- ◆ Αντιδράσεις του φυσιολογικού μεταβολισμού
- ◆ Αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού
- ◆ Ακτινοβολίες (Περιβάλλον, Κοσμική, Ιατρογενής)
- ◆ Χημικές ουσίες και τοξικά απόβλητα του περιβάλλοντος

Πίνακας 21.1. Δραστικά Είδη Οξυγόνου

Προέλευση και Χαρακτηριστικά

O_2^- , Ανιόν υπεροξειδίου	Παράγεται από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και σε άλλες θέσεις. Παράγει άλλα δραστικά είδη οξυγόνου, αλλά δεν μπορεί να διαχυθεί μακριά από την αρχική θέση.
H_2O_2 , Υπεροξειδίο υδρογόνου	Δεν είναι ελεύθερη ρίζα, αλλά μπορεί να δημιουργεί ελεύθερες ρίζες με αντίδραση με ένα μέταλλο μετάπτωσης (όπως Fe^{2+}). Μπορεί να διαχυθεί μέσα και διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.
$OH\bullet$, Ρίζα υδροξυλίου	Το πιο δραστικό είδος στην προσβολή βιολογικών μορίων. Παράγεται από H_2O_2 παρουσία Fe^{2+} .
$R\bullet$, Οργανικές ρίζες	Μία οργανική ελεύθερη ρίζα παραγόμενη από RH από προσβολή $OH\bullet$. RH μπορεί να είναι ο άνθρακας ενός διπλού δεσμού σε ένα λιπαρό οξύ (καταλήγει σε $-C\bullet=C-$) ή RSH (καταλήγει σε $R-S\bullet$).
$RCOO\bullet$, Ρίζα οργανικού υπεροξειδίου	Μία ρίζα οργανικού υπεροξειδίου, όπως απαντάται κατά τη διάρκεια λιπιδιακής αποικοδόμησης.
$HOCl$, Υποχλωριώδες οξύ	Παράγεται στα βακτηρίδια κατά τη διάρκεια αναπνευστικής έκρηξης για να καταστρέψει εισβάλοντες οργανισμούς.
$O_2\uparrow\downarrow$, Μεμονωμένο οξυγόνο	Οξυγόνο με αντιπαράλληλα spin. Παράγεται σε υψηλή τάση οξυγόνου από την απορρόφηση ενέργειας. Αποσυντίθεται με την απελευθέρωση φωτός.

90% του οξυγόνου



I

III

Σουπεροξειδίο

10% του οξυγόνου

Οξειδάσες



Μονοοξυγενάσες



S = substrate

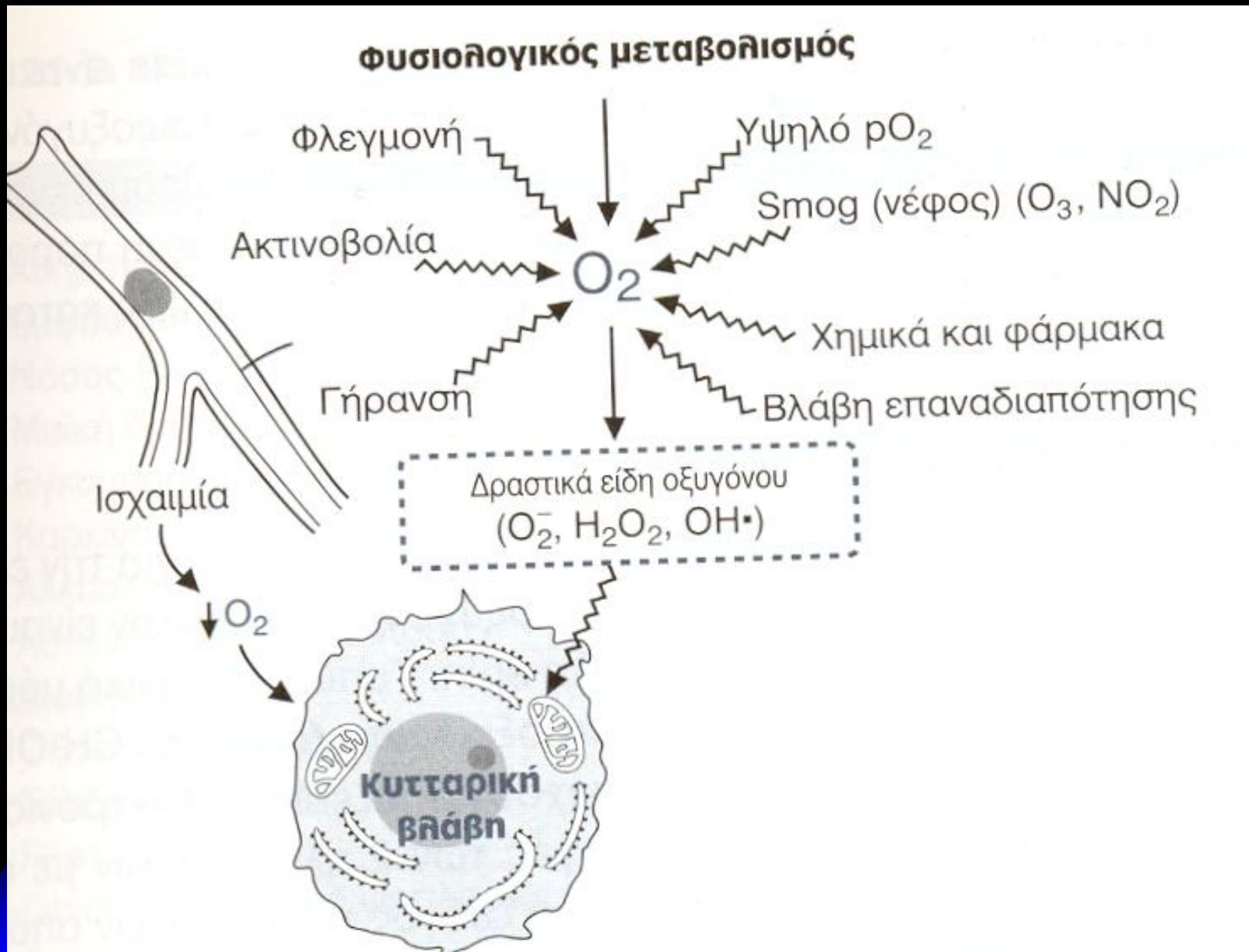
π.χ. Υδροξυλάσες (P450)

Διοξυγονάσες



π.χ. Συνθάση προσταγλανδίνης

Δημιουργία ελεύθερων ριζών



Δημιουργία ρίζας $\text{OH}\cdot$ από υπεροξείδιο

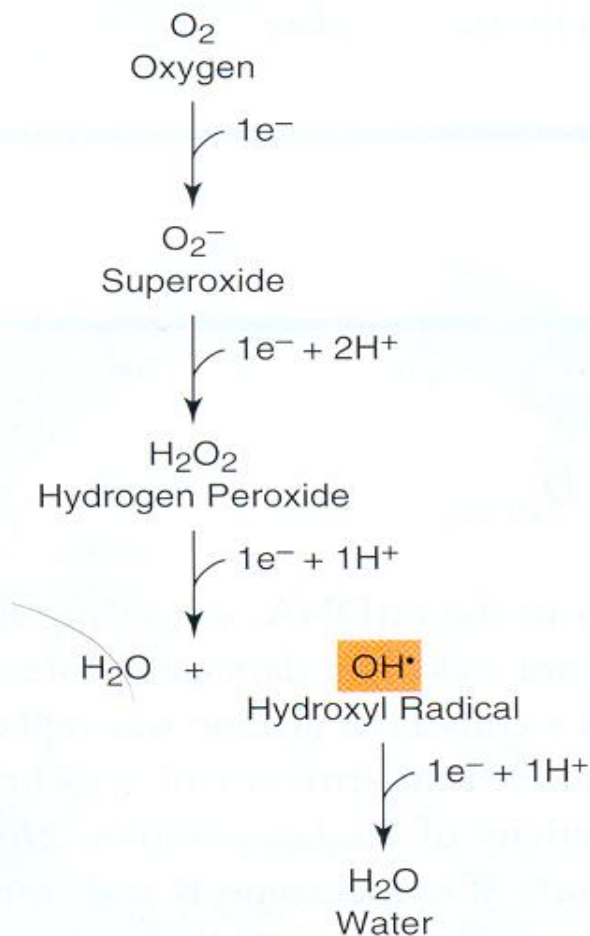
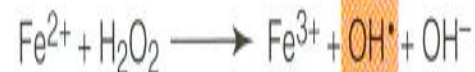


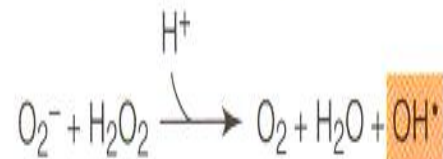
FIGURE 14.61

One-electron steps in reduction of oxygen, leading to formation of reactive oxygen species superoxide, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical.

Fenton Reaction



Haber-Weiss Reaction



Cu^+

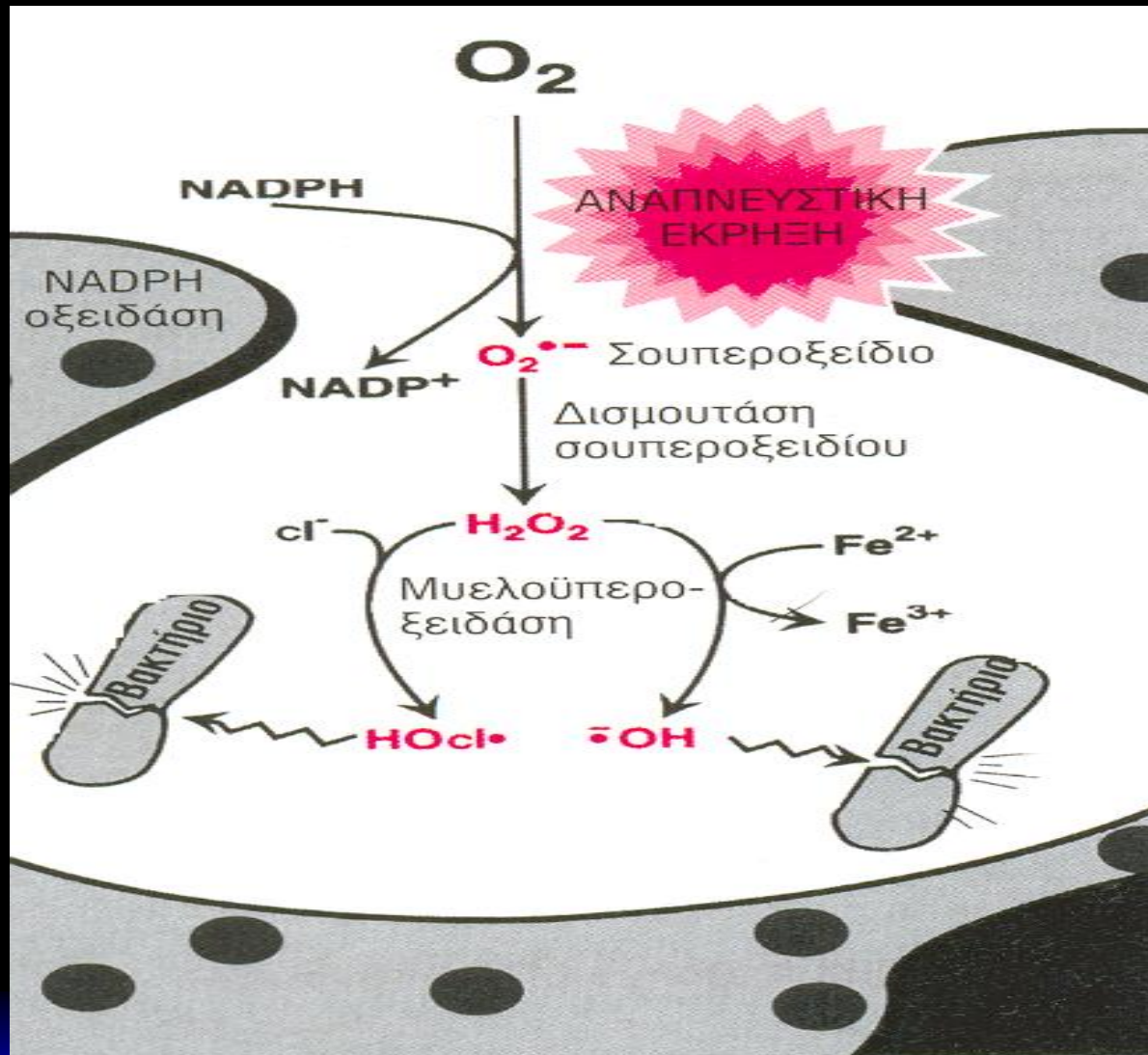
FIGURE 14.62

The Fenton and Haber-Weiss reactions for formation of toxic hydroxyl radical.

Respiratory burst στα φαγοκύτταρα

Cyt b

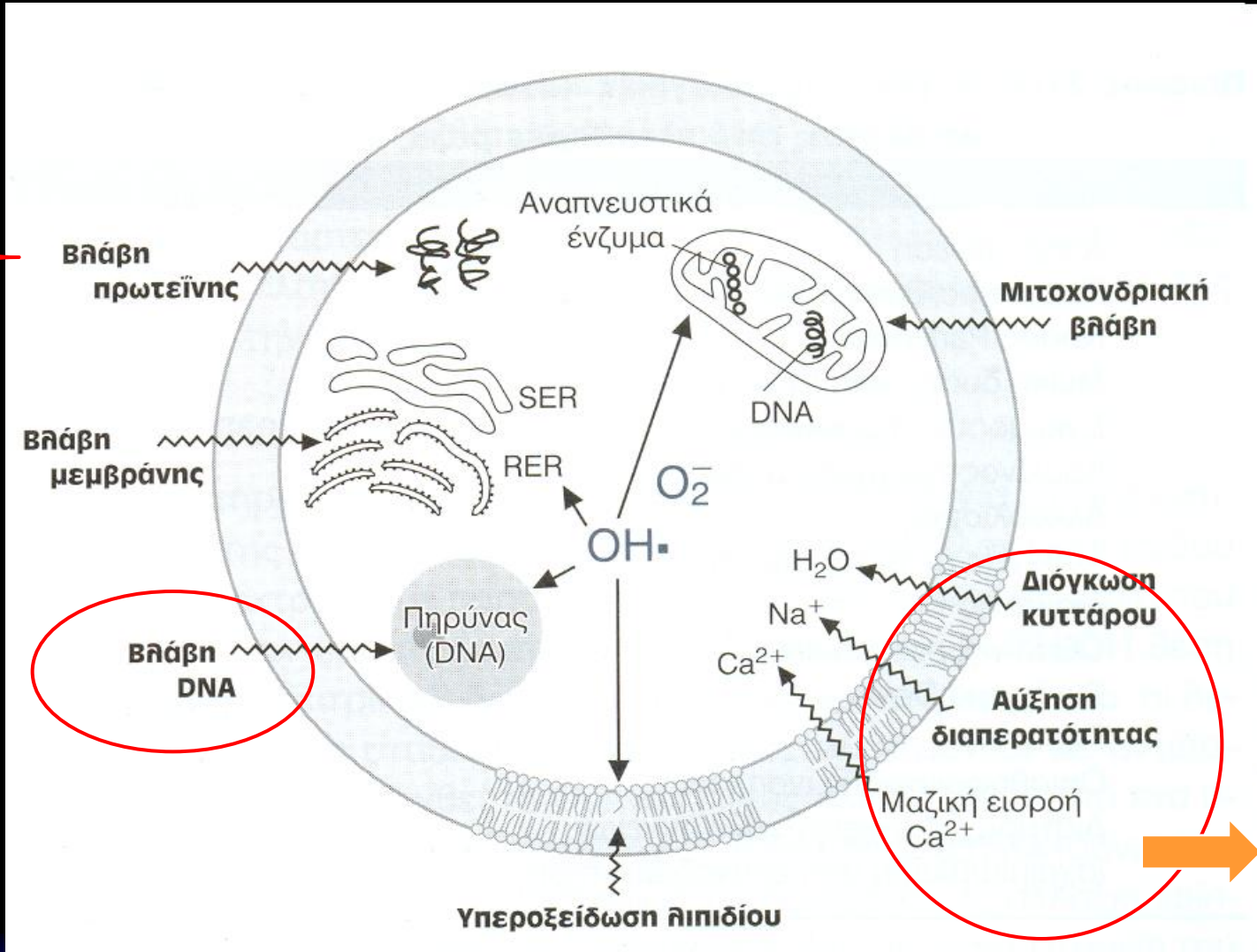
MPO



Χρόνια μόλυνση αυξάνει τα ROS

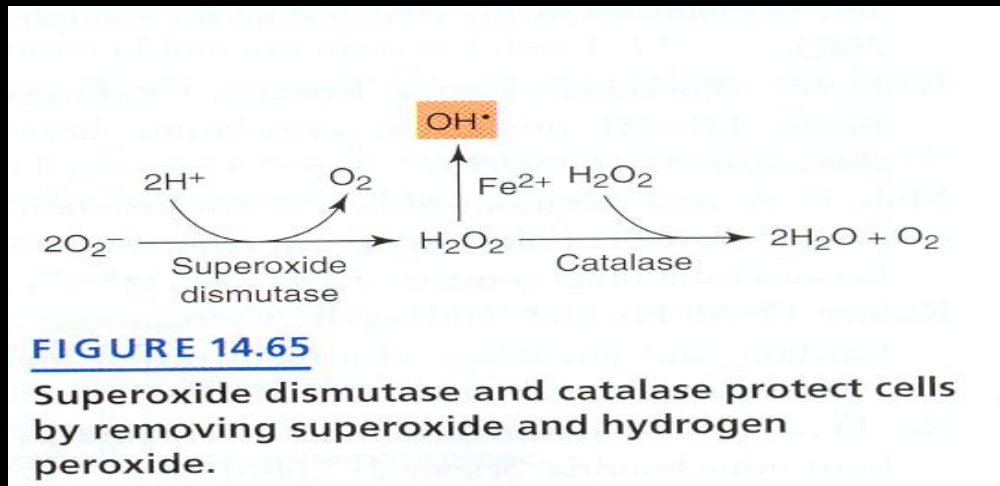
Βλάβες από ελεύθερες ρίζες

Pro
His
Arg
Cys
Met



Βλάβες σε πολυακόρεστα λιπαρά δίνουν λιπιδικές ρίζες υπεροξειδίου, λιπιδικά υπεροξείδια και μαλονδιαλδεύδη (ανιχνεύσιμη στο αίμα)

Ενδοκυττάρια ενζυμική άμυνα έναντι ROS: SOD (Super Oxide Dismutase), Καταλάση



A.O.: $-\frac{1}{2} \rightarrow 0 \quad -1$

3 ισοένζυμα SOD (dismutation = αυτοοξειδοαναγωγή):

SOD1 (κυτταρόπλασμα), SOD2 (μιτοχονδριακό), SOD3 (εξωκυττάριο)

Cu/Zn

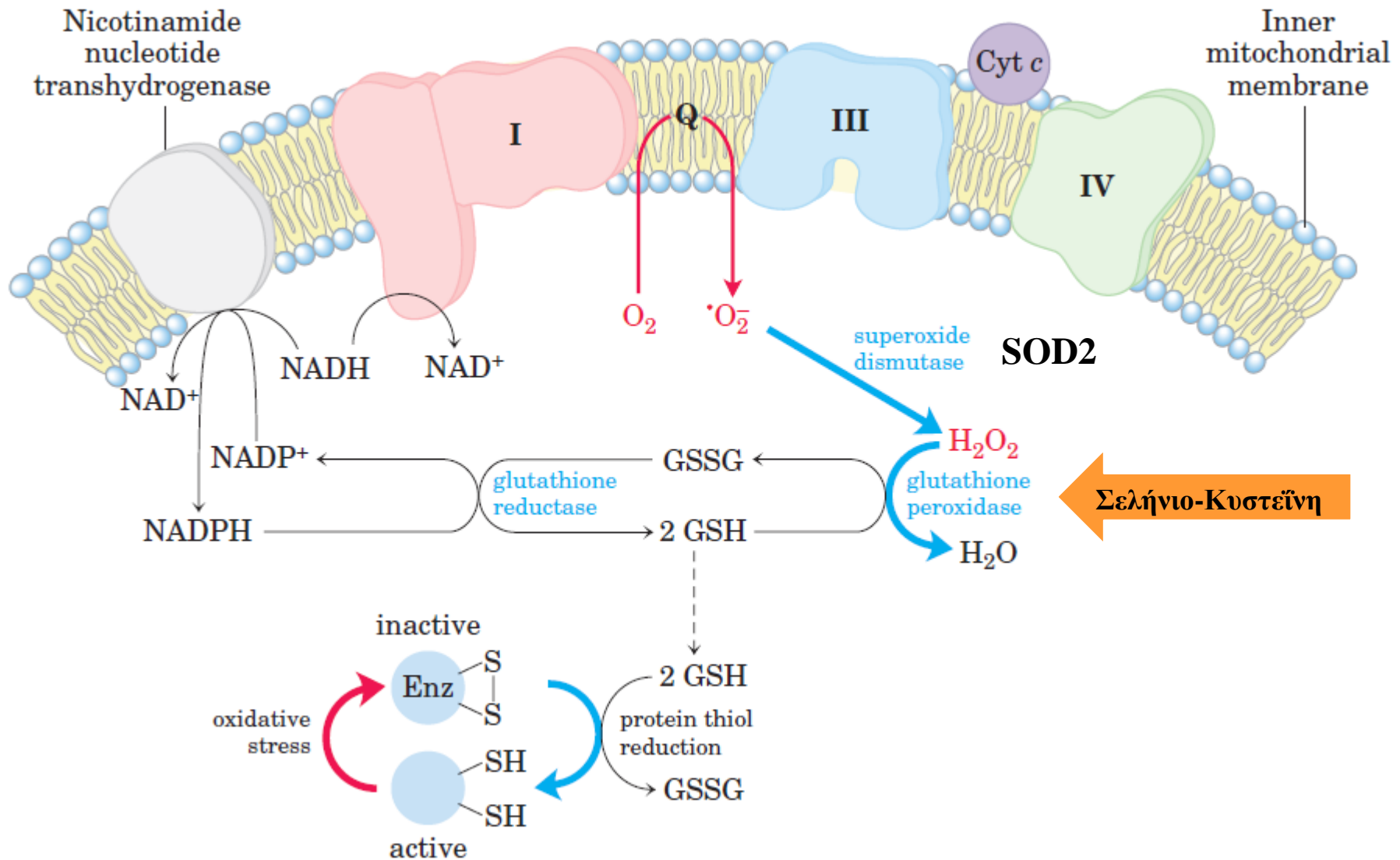
Mn

Cu/Zn

Καταλάση κυρίως στα υπεροξυσωμάτια

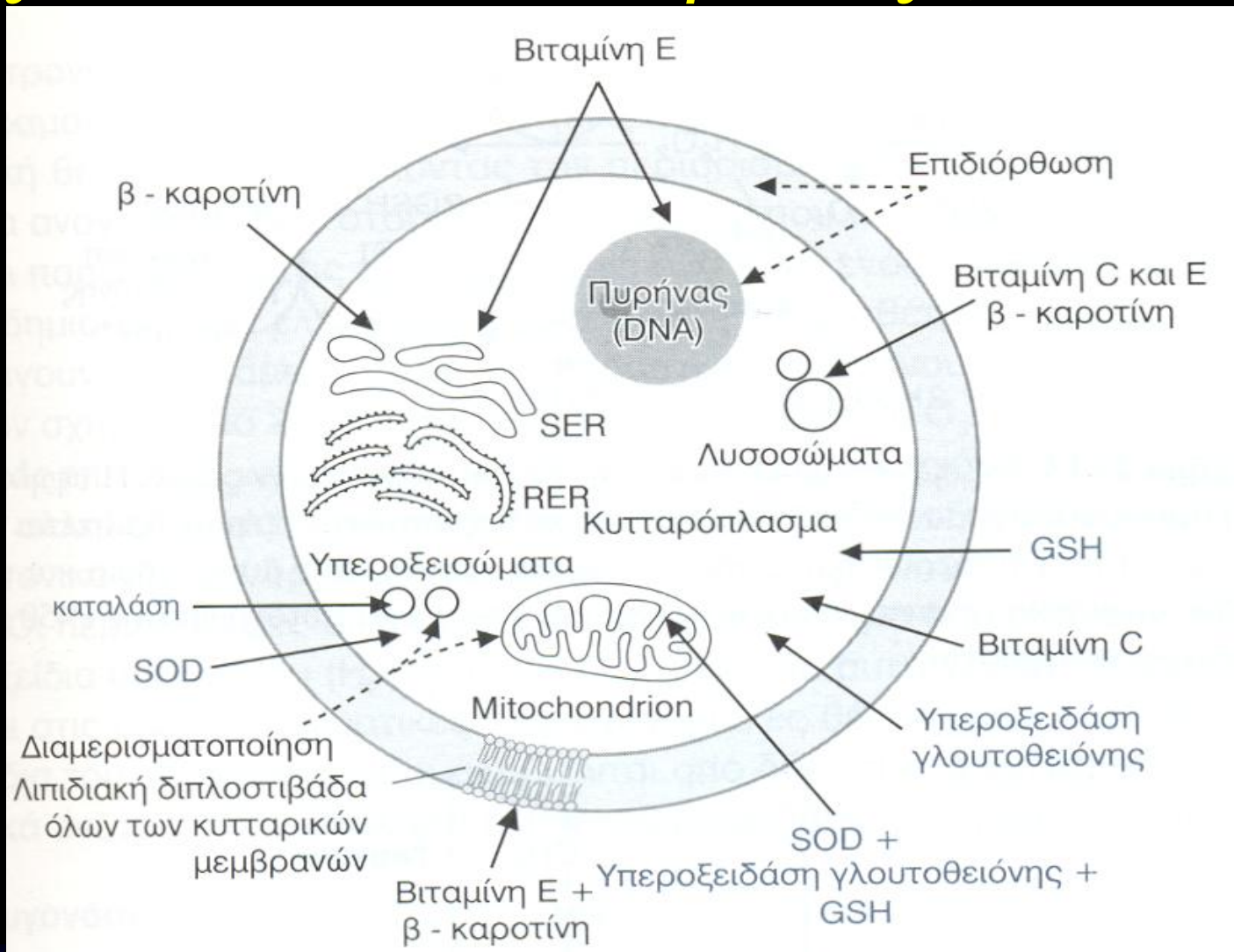
SOD1 μεταλλάξεις στο ~2% των ασθενών με αμυοτροφική πλάγια σκλήρυνση (ALS)

Υπεροξειδάση και αναγωγή της γλουταθειόνης



Γλουταθειόνη (G-SH): γλυκίνη + κυστεΐνη + γλουταμικό
Δισουλφίδιο δύο μορίων γλουταθειόνης (G-S-S-G)

Αντιοξειδωτικά: εκκαθαριστές (scavengers)



Λιπόφιλη vitE για ρίζες λιπιδίων + β-καροτίνη?, vitC



- ◆ Αθηρογένεση
- ◆ Εμφύσημα/Βρογχίτιδα
- ◆ Νόσος Parkinson/Alzheimer
- ◆ Μυϊκή δυστροφία Duchenne
- ◆ Προεκλαμψία εγκυμοσύνης
- ◆ Καρκίνος τραχήλου μήτρας
- ◆ Αλκοολισμός
- ◆ Ασθενείς υπό αιμοδιάλυση
- ◆ Διαβήτης
- ◆ Οξεία νεφρική κάμψη
- ◆ Σύνδρομο Down
- ◆ Γήρανση
- ◆ Οπισθοφακοειδής ινοπλασία στα νεογνά
- ◆ Διαταραχές εγκεφαλικών αγγείων
- ◆ *Ισχαιμία/βλάβη από επαναιμάτωση*

**Νοσήματα που
σχετίζονται με
βλάβες από
ελεύθερες ρίζες**



ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΕΠΑΝΑΙΜΑΤΩΣΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

- ◆ Η απόφραξη αγγείου του μυοκαρδίου και η επακόλουθη ισχαιμία απαιτεί άμεση αντιμετώπιση
- ◆ Η εξάντληση των αποθεμάτων γλυκογόνου, οξυγόνου και η αύξηση του γαλακτικού με επακόλουθο την ελάττωση του pH οδηγούν σε ιστικές βλάβες
- ◆ Οι τεχνικές όμως επαναιμάτωσης όπου επανεισάγεται O_2 οδηγούν σε επικίνδυνη παραγωγή ελευθέρων ριζών (Νιτρώδες υπεροξειδίο από NO, Σούπερ-οξειδίο κλπ)
- ◆ Προστασία με αντιοξειδωτικά?