

Лекція 3.

Гліколіз, реакції, регуляція

- ✓ Підготовчий етап енергетичного обміну у гетеротрофів
- ✓ Гліколіз:
 - реакції фосфорилування та утворення триоз
 - реакції гліколітичної оксидоредукції
- ✓ Реакції субстратного фосфорилування
- ✓ Енергетичний баланс гліколізу
- ✓ Регуляція гліколізу
- ✓ Гліколіз в злоякісних пухлинах.

Будь-який живий організм, як і окрема клітина, є відкритою системою, тобто обмінюється з навколишнім середовищем і речовиною, і енергією. Всю сукупність реакцій обміну речовин, що протікають в організмі, називають метаболізмом. Метаболізм складається з взаємозв'язаних реакцій енергетичного обміну, званого катаболізмом (або дисиміляцією), і пластичного обміну, званого анаболізмом (або асиміляцією).

Катаболізм – реакції розпаду хімічних сполук, в результаті яких у клітині запасється енергія, необхідна клітинам і організму, і утворюються сполуки, що використовуються в реакціях пластичного обміну.

Анаболізм – це синтез макромолекул, що вимагає великої кількості енергії.

За способом «добування» енергії всі організми діляться на чотири основні групи:

Фотоавтотрофи – організми, які використовують як джерело енергії енергію сонця (зелені рослини, пурпурні і зелені бактерії, ціанобактерії).

Гетеротрофи – організми, що використовують готові органічні сполуки, які вони поглинають у вигляді їжі (тварини, гриби, ряд прокариот, деякі паразитичні вищі рослини).

Автогетеротрофи – організми, що поєднують обидва способи «здобичі» енергії. Це своєрідні симбіотичні організми, які використовують органічні сполуки, синтезовані бактеріями або водоростями – автотрофами, що мешкають в клітинах організму господаря. До них відносяться лишайники, багато найпростіших.

У *гетеротрофних* організмів отримання енергії та її акумуляція у формі макроенергетичних зв'язків нуклеозидтрифосфатів здійснюється у три етапи енергетичного обміну:

I етап – підготовчий;

II етап – гліколіз – безкисневий етап обміну;

III етап – дихання – кисневий етап обміну.

Розглянемо докладніше перші два етапи.

Підготовчий етап полягає в захопленні та переробки органічних матеріалів (їжі), тобто в процесі харчування, який включає величезний спектр способів отримання їжі та її перетравлення. Під час підготовчого етапу енергетичного

обміну складні органічні речовини (полімери) за допомогою ферментів розщеплюються до мономерів, які всмоктуються з кишечника в кров і надходять у клітини, де деякі з них, і насамперед глюкоза, використовуються для енергетичного обміну. Для цієї ж мети клітини можуть використовувати запас органічних речовин – глікоген, ліпіди, в крайньому випадку навіть білки. *Енергія, що виділяється при розщепленні полімерів, не акумулюється в організмі і розсіюється у вигляді тепла.*

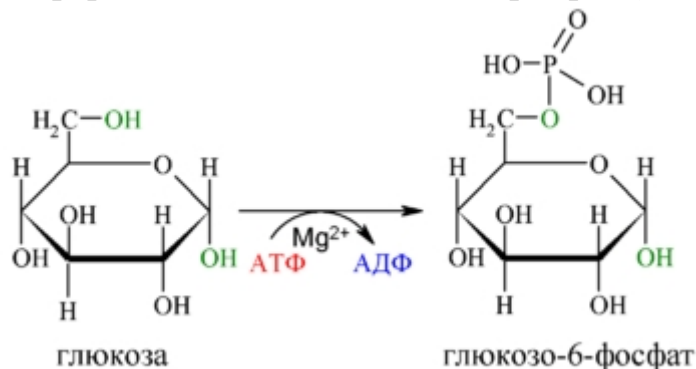
Ферментами для гідролізу білків, що протікає в шлунку, є протеази; для жирів-ліпаза (нагадаємо, що молекули жиру гідролізуються у дванадцятипалій кишці) і для полісахаридів-амілаза і мальтаза (локалізація процесу-ротова порожнина, а також дванадцятипала кишка.

Наступним етапом енергетичного обміну є гліколіз

Гліколіз – це одна з найдавніших систем біохімічних реакцій розщеплення гексоз (3,5 млрд. років), яка вперше сформувалася у гетеротрофних прокариот, ймовірно, ще в епоху, коли в атмосфері Землі був відсутній молекулярний кисень, і яка потім дісталася « у спадок » всім еукаріотичним організмам. Гліколіз включає в себе 10 послідовних реакцій, що протікають під впливом ферментів в цитоплазмі клітин, і не пов'язаних з якими-небудь мембранними системами. У процесі гліколізу виділяють два етапи: фосфорилування і гліколітичної оксидоредукції.

Реакції першого етапу.

Першою реакцією гліколізу є фосфорилування молекули глюкози, що відбувається за участю тканиноспецифічного ферменту гексокінази (АТФ: глюкозо-6 фосфотрансферази)з витратою енергії 1 молекули АТФ; утворюється активна форма глюкози – глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф):



Для протікання реакції необхідна наявність в середовищі іонів Mg^{2+} , з яким комплексно зв'язується молекула АТФ. *Ця реакція необоротна і є першою ключовою реакцією гліколізу.*

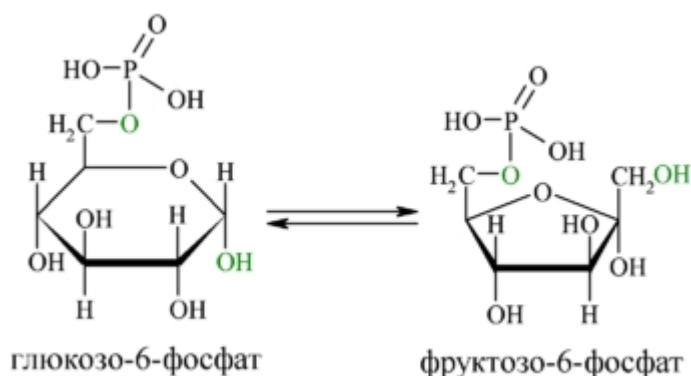
Фосфорилування глюкози забезпечує :

по-перше, через те що плазматична мембрана, проникна для нейтральної молекули глюкози, не пропускає негативно заряджені молекули Г- 6 -Ф, фосфорильована глюкоза виявляється замкнутою всередині клітини.

По-друге, при фосфорилування глюкоза переводиться в активну форму, здатну брати участь у біохімічних реакціях і включатися в метаболічні цикли

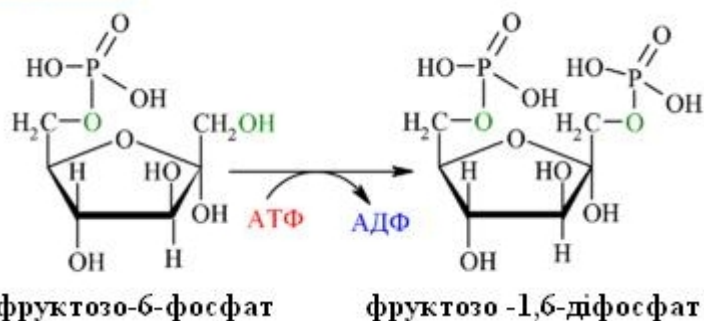
Печінковий ізофермент гексокінази – *глюкокіназа* – має важливе значення в регуляції рівня глюкози в крові.

У наступній реакції (2) ферментом *фосфоглюкоізомеразою* Г- 6 -Ф перетворюється у фруктозо – 6 – фосфат (Ф- 6 – Ф):

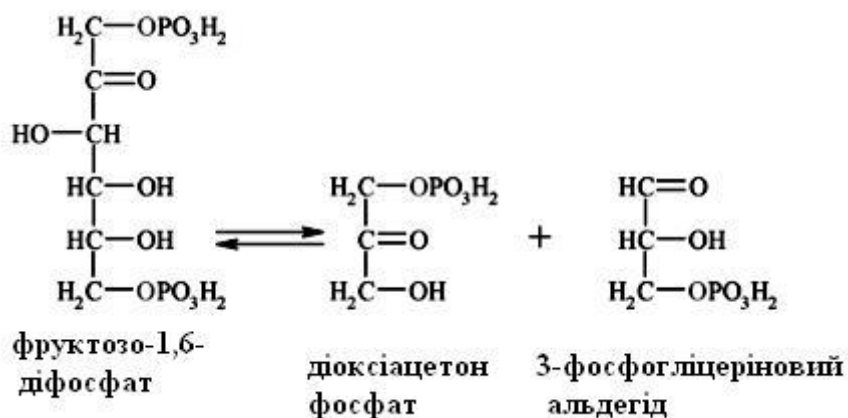


Енергія для цієї реакції не потрібна, і реакція є повністю зворотною. На даному етапі в процес гліколізу може також включатися шляхом фосфорилування і фруктоза.

Далі майже відразу один за одним слідує дві реакції : необоротне фосфорилування фруктозо – 6 – фосфату (3) і оборотне альдольне розщеплення утворився фруктозо – 1, 6- дифосфату (Ф-1,6- ДФ) на дві триози (4). Фосфорилування Ф- 6 -Ф здійснюється фосфоглюкокіназою з витратою енергії ще однієї молекули АТФ ; *це друга ключова реакція гліколізу*, її швидкість визначає інтенсивність гліколізу в цілому.

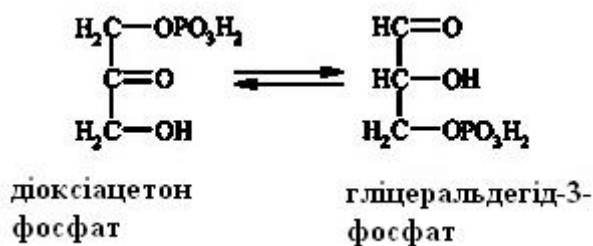


Альдольне розщеплення Ф-1,6-ДФ відбувається під дією альдолази фруктозо-1,6-дифосфату:

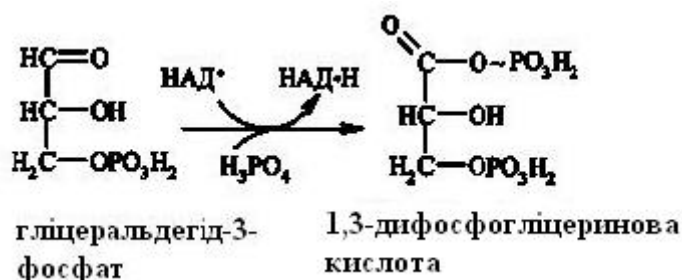


В результаті четвертої реакції утворюються дігідроксіацетонфосфат і гліцеральдегід-3-фосфат, причому перший майже відразу під дією

фосфотризоізомерази переходить у другий (5), який і бере участь в подальших перетвореннях:

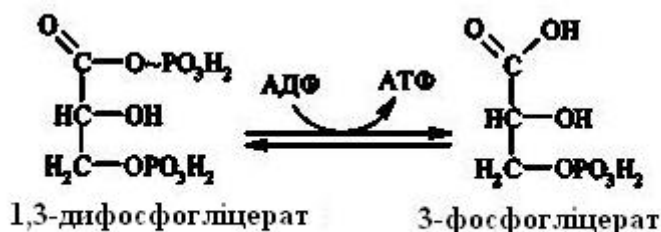


Кожна молекула гліцеральдегідфосфата окислюється дегідрогеназою гліцеральдегідфосфата. Коферментом якої є НАД, до 1,3-діфосфогліцерата (6) та утворення відновного НАДН +Н:



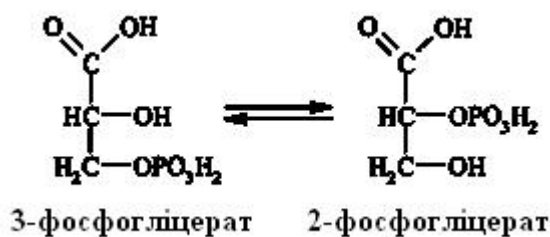
За рахунок енергії, що звільнилась при окисленні гліцеральдегід-3-фосфата у кислоту, приєдналась фосфатна група у перше положення, з утворенням макроергічного зв'язку.

Далі з 1,3-діфосфогліцерата, що містить макроергічний зв'язок в 1 положенні, ферментом фосфогліцераткіназою каталізуються перенос фосфорної кислоти на молекулу АДФ (реакція 7) – утворюється молекула АТФ:

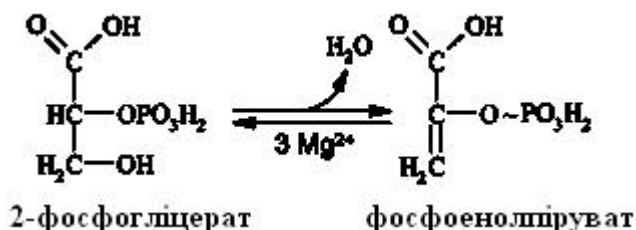


Це перша реакція субстратного фосфорилування. З цього моменту процес розщеплення глюкози перестає бути збитковим в енергетичному плані, так як енергетичні витрати першого етапу виявляються компенсованими : синтезуються 2 молекули АТФ (по одній на кожен 1,3 – діфосфогліцерат) замість двох витрачених в реакціях 1 і 3. Для протікання даної реакції потрібна присутність в цитозолі АДФ, тобто при надлишку в клітині АТФ (і недоліку АДФ) її швидкість знижується – реакція є важливим регулятором гліколізу: у відсутності потреби в АТФ, АТФ інгібує своє утворення.

Потім послідовно: фосфогліцеролмутаза утворює 2-фосфогліцерат (8):



Енолаза утворює фосфоенолпіруват (9):



І нарешті відбувається друга реакція субстратного фосфорилування АДФ з утворенням енольної форми пірувату і АТФ (10):



Для протікання гліколізу потрібно відновлювати вміст НАД. В анаеробних умовах роль акцептора протонів і електронів НАДН+Н⁺ виконую пірвіноградна кислота – метаболіт гліколізу. Реакція каталізуються ферментом лактатдегідрогеназою, продукт реакція молочна кислота:



Субстратне фосфорилування в гліколізі

Окислення 3-ФГА до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти – один з найбільш важливих етапів гліколітичного шляху, оскільки саме на цьому етапі енергія, що звільняється при окисненні альдегідної групи 3-ФГА, запасається в молекулі 1,3-ФГК. Реакція каталізується ферментом 3-ФГА-дегідрогеназою: 3-ФГА + НАД + Фн призводить до утворення 1,3-ФГК + НАДН+ Н⁺.

3- ФГА служить донором електронів, які переходять на НАД функціонуючий в якості переносника електронів від 3-ФГА до пірвіноградної кислоти. Утворення останньої відбувається на більш пізніх етапах гліколітичного шляху. Отже, альдегідна група 3-ФГА окислюється до карбоксильної групи. Однак замість вільної карбонової кислоти утворюється змішаний ангідрид фосфорної кислоти і карбоксильної групи 3- ФГК – 1,3- ГК. Реакція окислення

3-ФГА до 1,3-ФГК за допомогою НАД-залежної 3-ФГА – дегідрогенази складається з декількох етапів, в результаті чого енергія, що звільняється при

окисленні 3-ФГА, запасється в макроергічному фосфатном зв'язку у першого вуглецевого атома 1,3-ФГК. 1,3-ФГК реагує далі з АДФ, віддаючи високоенергетичну фосфатну групу, що призводить до синтезу молекули АТФ. Таким чином, енергія, вивільнена при окисленні альдегідної групи, виявляється запасеної в молекулі АТФ. Отже, відбулося утворення 3-ФГК. Тепер можна підвести деякі підсумки. Клітина на цьому етапі "повернула" свої енергетичні витрати: 2 молекули АТФ були витрачені і 2 молекули АТФ синтезувалися на 1 молекулу глюкози. На цьому ж етапі в реакції окислення 3-ФГА до 1,3-ФГК і утворення АТФ має місце перше субстратне фосфорилування. Енергія звільняється і запасється в макроергічних фосфатних зв'язках АТФ в процесі перебудови збродженого субстрату за участю ферментів. Реакція, яка веде до субстратного фосфорилування, може бути проведена в пробірці. Всі необхідні для цього компоненти відомі і отримані в чистому вигляді. Можливість здійснення реакції в пробірці вказує на те, що фермент, який каталізує її, не пов'язаний з клітинними структурами. Перше субстратне фосфорилування носить ще назву фосфорилування на рівні 3-ФГА. Після утворення 3-ФГК фосфатна група з третього положення переноситься в друге. Далі відбувається відщеплення молекули води від другого і третього атомів вуглецю 2-ФГК, каталізуються ферментом енолазою, і утворюється фосфоенолпіровиноградна кислота (ФЄП). У результаті дегідратації молекули 2-ФГК ступінь окислення її другого вуглецевого атома збільшується, а третього – зменшується. Таким чином, дана реакція по суті являє собою внутрішньомолекулярний окислювально-відновний процес. Дегідратація молекули 2-ФГК, що приводить до утворення ФЄП, супроводжується перерозподілом енергії всередині молекули, внаслідок чого фосфатний зв'язок у другого вуглецевого атома з низькоенергетичної в молекулі 2-ФГК перетворюється на високоенергетичний в молекулі ФЄП.

Молекула ФЄП стає донором багатого енергією фосфатної групи, яка переноситься на АДФ за допомогою ферменту піруваткінази. Таким чином, в процесі перетворення 2-ФГК в піровиноградну кислоту має місце вивільнення енергії і запасання її в молекулі АТФ. Це друге субстратне фосфорилування. По ряду рис воно відрізняється від першого субстратного фосфорилування:

- якщо в першому випадку утворення макроергічного фосфатного зв'язку протікало одночасно з приєднанням до субстрату фосфатної групи, то в другому – фосфатна група була приєднана до молекули субстрату задовго до цієї події;
- перше субстратне фосфорилування пов'язано з реакцією окислення, що приводить до того, що від молекули 3-ФГА відриваються два електрони і переходять на НАД⁺, тобто молекула 3-ФГА служить донором електронів, але питання про кінцевий акцептор їх на цьому етапі не вирішене.

Навпаки, при другому субстратному фосфорилуванні, пов'язане з реакцією дегідратації молекули 2-ФГК, вирішується проблема і донора і акцептора.

Тут в результаті внутрішньомолекулярного окислювально-відновного процесу одна молекула і донує і акцептує електрони. В процесі другого субстратного фосфорилування утворюється ще молекула АТФ; в підсумку загальний енергетичний виграв процесу становить 2 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози. Така енергетична сторона

Енергетичний баланс гліколізу 2 АТФ

Сумарне рівняння гліколізу на стадії утворення ПВК можна записати в наступному вигляді:



Таким чином, при анаеробному окисленні однієї молекули глюкози сумарний вихід АТФ становить дві молекули, отримані в реакціях *субстратного фосфорилування АДФ*. Енергетичний вихід гліколізу незначний, КПД гліколізу – 40%. Але в умовах гіпоксії це єдина можливість клітин отримати АТФ

Регуляція гліколізу

Регуляція метаболічних шляхів здійснюється через контроль вхідних та лімітуючих ферментів шляхів, такі ферменти звать ключовими.

Ключові ферменти гліколізу

1. Гексокіназа – це регуляторний фермент гліколізу у позапечінкових клітинах. Гексокіназа аллостерічно інгібується глюкозо-6-фосфатом. Глюкокіназа – регуляторний фермент гліколізу в гепатоцитах. Синтез глюкокінази індукується інсуліном.

2. Фосфофруктокіназа –ключовий фермент, який каталізує реакцію, лімітуючу швидкість всього процесу (найбільш повільна реакція). Синтез ферменту індукується інсуліном. Аллостерічні активатори – АМФ, АДФ, фруктозо-2, 6-дифосфат. Рівень фруктозо-2,6- дифосфату збільшується під дією інсуліну і знижується під дією глюкагону. Аллостерічні інгібітори – АТФ і цитрат.

3. Піруваткіназа. Фермент активний в нефосфорильованій формі. Глюкагон (у гепатоцитах) і адреналін (у міоцитах) стимулюють фосфорилування ферменту, а значить інактивують фермент. Інсулін, навпаки, стимулює дефосфорилування ферменту, а значить активує фермент. Аллостерний активатор – Ф-1,6- ДФ. Аллостерічний інгібітор – АТФ і ацетил КоА. Синтез ферменту індукує інсулін.

Гліколіз в злякисних пухлинах

- Широке клінічне використання ^{18}F – флуорозоксиглюкози в позитронно - емісійній томографії показало, що гліколітичний фенотип спостерігається в більшості злякисних пухлин людини.

- Концепція канцерогенезу як процесу, який відбувається за соматичною еволюцією, очевидно, впливає, що загальні риси злякисного фенотипу,

наприклад посилення активності гліколізу, є результатом активних процесів відбору і повинні надати значне, ідентифікує перевагу в зрості. •

Локальна регуляція гліколізу, ймовірно, буде адаптацією до гіпоксії, яка розвивається в умовах швидкого зростання злоякісних пухлин і недостатнього їх кровопостачання. На даному етапі кровопостачання залишається фізично відокремленим від зростаючих клітин неушкодженою базальною мембраною. •

Локальне збільшення виробництва кислоти при посиленні активності гліколізу вимагає подальшої адаптації в мікросередовищі ацидозу, виживання фенотипів, стійких до кислотно-індукованої токсичності.

• Клітинні популяції, які виникають з цієї еволюційної послідовності мають потужну перевагу зростання, так як вони змінюють своє середовище за рахунок підвищення гліколізу, який є токсичним для інших фенотипів, але нешкідливий для злоякісних клітин. Екологічний ацидоз також полегшує вторгнення ракових клітин через руйнування сусідніх нормальних популяцій, деградації позаклітинного матриксу і просування ангиогенезу.

• Вважають, що гліколітичний фенотип має потужну перевагу зростання, необхідну для еволюції інвазивних злоякісних пухлин людини.