

Bioenergetica



Bioenergetica - știința ce studiază transformările și utilizarea energiei.

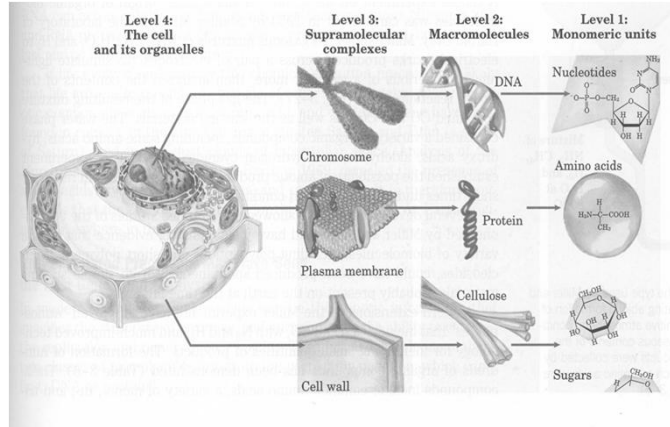
Întreaga biosferă desfășoară o luptă continuă pentru menținerea structurii proprii și a funcțiilor inerente acestora;

Pentru a exista și a supraviețui, organismele vii se află într-un schimb permanent de energie cu mediul înconjurător;

- Organismele vii posedă dispozitive de transformare a energiei, deosebit de subtile și eficiente;
- Energia chimică a substanțelor nutritive, după transformarea ei într-o formă convenabilă, este utilizată pentru efectuarea de travalii specifice vieții- creștere, reparații tisulare, activitate contractilă, osmotică etc.



- Ca sisteme termodinamice pot fi cercetate atât indivizii unei specii, celulele izolate, cât și reacțiile biochimice;



Organismele vii pot fi considerate sisteme termodinamice, pentru care sunt valabile legile termodinamice:

- I. Principiul conservării – energia reacțiilor chimice nu dispare și nu apare din nimic, dar se transformă dintr-o formă în alta;
- II. Principiul evoluției – toate procesele asociate cu transfer de energie se desfășoară de la sine numai într-o direcție și numai până la o anumită limită - ce corespunde entropiei maxime.

Entropia - S -

este gradul de dezordine a unui sistem.

Moleculele organice, proteinele, acizii nucleici, celulele vii, organismele pluricelulare sunt sisteme naturale cu entropii din cele mai mici.

Entropia Universului crește permanent. Ordinea se transformă spontan în dezordine.

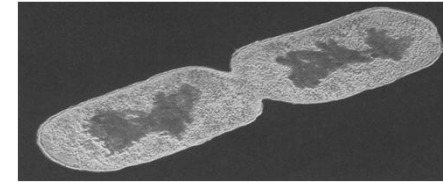
Sistemele biologice sunt:

- Sisteme deschise (schimb de energie și materie cu mediul înconjurător);
- Fiecare sistem are o energie internă (E), care este constituită din energie liberă (G) și energie dependentă de variațiile TΔS;
- $\Delta E = \Delta G + T\Delta S$;
- Forța motrice a reacțiilor este tendința sistemului atât de a-și spori gradul de dezordine, cât și de a-și reduce conținutul de energie liberă ordonată.

- Cum celula recepționează energia și capacitatea reducătoare (NADPH + H⁺) din mediul ambiant ?
- Cum celulele sintetizează diferite macromolecule ?

Metabolismul

- este un sistem coordonat de transformări ale substanțelor și energiei la care participă sistemele multienzimatice



FUNCȚIILE METABOLISMULUI:

- aprovizionarea celulelor cu energie chimică (generată din molecule nutritive);
- transformarea substanțelor nutritive în precursori macromoleculari și asamblarea lor în componentele celulare;
- biosinteza și catabolismul biomoleculelor specifice organismului;

- Torentul de energie în biosferă este un proces direcționat, neciclic, cheltuindu-se o energie anumită pentru activitatea căilor metabolice;
- Energia utilizată nu poate fi regenerată;

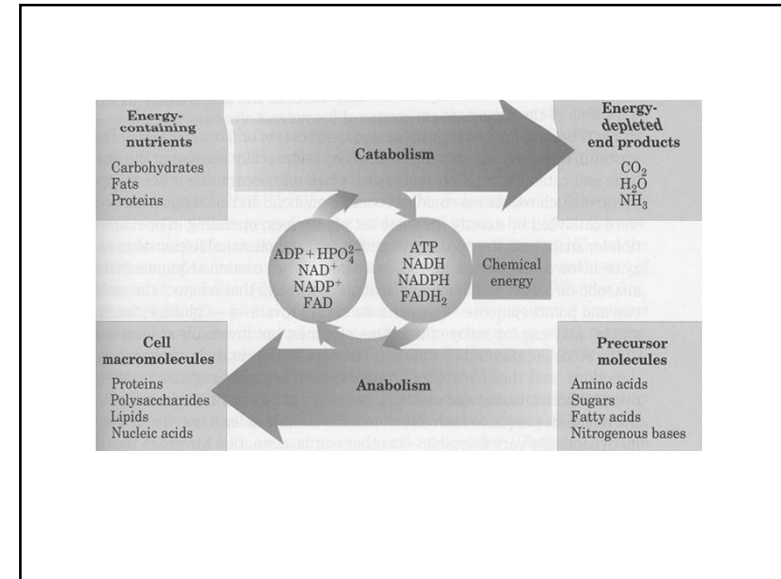
FAZELE METABOLISMULUI:

Catabolismul

- . faza degradării macromoleculor (provenite din mediul înconjurător sau rezervele proprii în timpul reînnoirii) în produși mai simpli;
- . este însoțit de degajarea energiei libere, care se acumulează în ATP și în structura NADPH+H⁺

Anabolismul

- . faza de sinteză a diversilor compuși organici
- . necesită utilizarea energiei libere (ATP) și a componentilor reducători - NADPH+H⁺



CĂILE METABOLICE

- reprezintă reacțiile chimice în lanț, cu o anumită funcție.
 $S \implies A \implies B \implies C \implies P$

DEOSEBIM CĂI METABOLICE:

- centrale* (comune pentru degradarea și sinteza principalelor macromolecule)
 - specifice* (caracteristice doar pentru substanțe individuale (cofactor).
 - liniare (glicoliza)
 - ciclice (ciclul Krebs)
- anabolice
 - catabolice
 - amfibolice
 - aerobe
 - anaerobe

ETAPELE CATABOLISMULUI

■ I etapă:

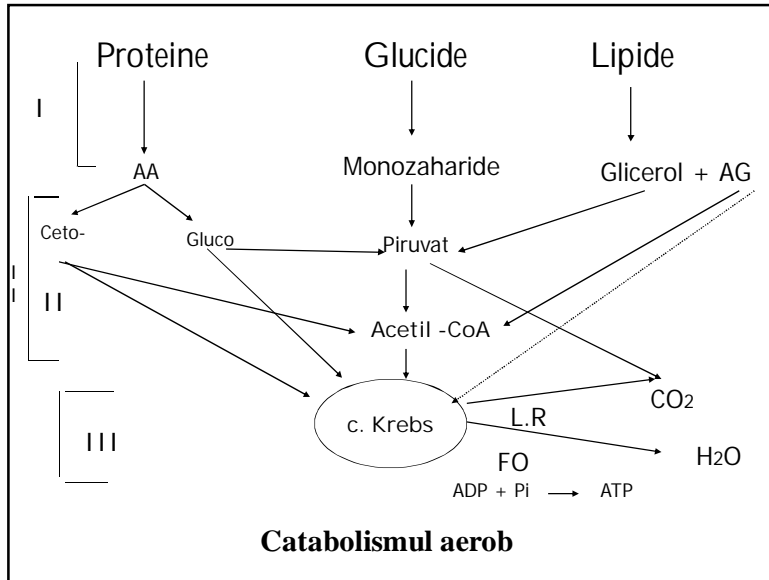
- . *decurge în tractul gastro-intestinal fără eliminare de E;*
- . *se încheie cu formarea monomerilor universali (AA, AG, Monozaharide, Glicerol);*

■ II etapă:

- . *toți monomerii se transformă întrun precursor comun Acetil- CoA;*

■ III etapă:

- . *este ciclul Krebs și fosforilarea oxidativă;*
- . *are loc generare de E.*



REGLAREA METABOLISMULUI

Se realizează la diferite nivele:

1. **la nivelul proprietăților specifice enzimelor** (cantitatea de E și S, prezența coenzimelor, pH, t°, etc.);
2. **la nivelul E reglatoare alosterice;**
3. majoritatea reacțiilor sunt reglate de **starea energetică a celulei:**

$$SE = \frac{[ATP]+1/2[ADP]}{[ATP]+[ADP]+[AMP]} = 0,8-0,95$$

$$PF = [ATP]/[ADP] * [Pa] = 500$$

4. **la nivel de inducție și represie enzimatică determinată de modificările în sistemul neuro-hormonal;**
5. **influența medicamentelor de diferită origine.**

Substanțe macroergice

Compuși supramacroergici ΔG^0 (kJ/mol) kcal/mol

| | | |
|-----------------------|------|--------|
| Fosfoenolpiruvat | 61,7 | -14,8 |
| 1,3 – difosfoglicerat | 49,2 | -11,8 |
| Creatinfosfat | 42,5 | - 10,3 |

Compuși macroergici

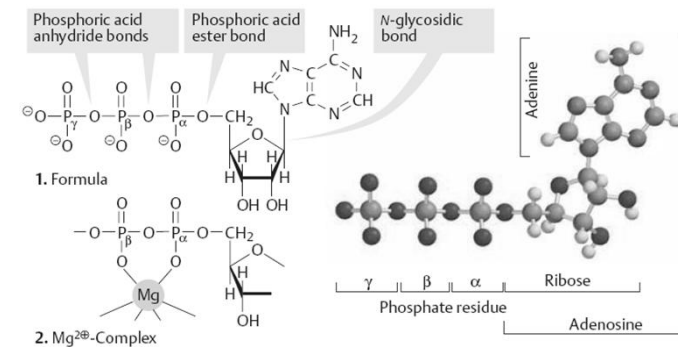
| | | |
|--|------|------|
| ATP → ADP + H ₃ PO ₄ | 30,4 | -7,3 |
| ADP → AMP + H ₃ PO ₄ | 28,4 | |
| H ₄ P ₂ O ₇ → 2H ₃ PO ₄ | 28,4 | |

Compuși submacroergici

| | |
|------------------|-------|
| Glucozo -1- P | -5,0 |
| Fructozo - 6 - P | - 3,8 |
| Glucozo - 6- P | - 3,3 |

Ciclul ATP

- **ATP- transportor universal al energiei**
- **X-P+ADP → X+ATP**
- **ATP + Y → ADP+ Y-P**

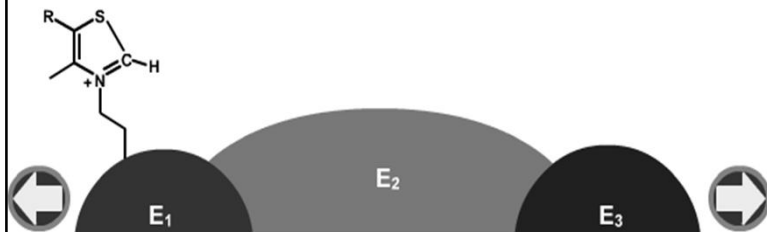


- Metabolismul celular este bazat pe o economie maximă și este determinat de necesitățile în ATP și NADPH + H⁺ reacționând fin la modificările și necesitățile în energie;

- Toate celulele plantelor și animalelor în condiții normale sunt aerobe și combustibilul organic este oxidat până la CO₂ și H₂O;
- Energia accesibilă este eliminată numai în cazul în care toți atomii de H legați de atomii de C vor fi substituiți de O;
- Cantitatea de energie liberă e aproximativ proporțională cu raportul dintre numărul atomilor de H legați de C la numărul atomilor de C - CO₂ (0), CH₂ (2), CH₄ (4).

In order to generate acetyl-CoA, the PDC first converts pyruvate to an immobilized activated acetaldehyde group through one of its many pyruvate decarboxylase (E₁) subunits.

E₁ has a bound coenzyme thiamine pyrophosphate (TPP), which readily forms a strongly nucleophilic carbanion.



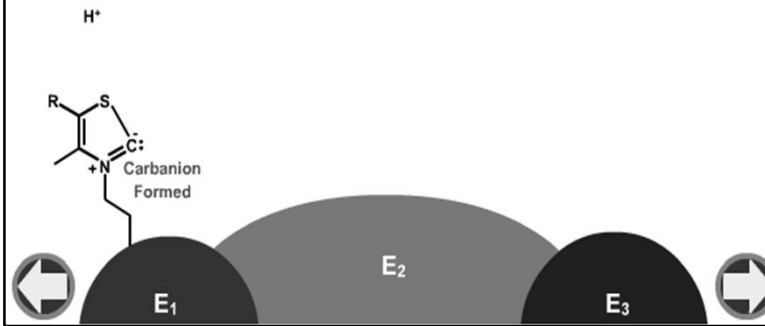
In order to generate acetyl-CoA, the PDC first converts pyruvate to an immobilized activated acetaldehyde group through one of its many pyruvate decarboxylase (E₁) subunits.

E₁ has a bound coenzyme thiamine pyrophosphate (TPP), which readily forms a strongly nucleophilic carbanion.



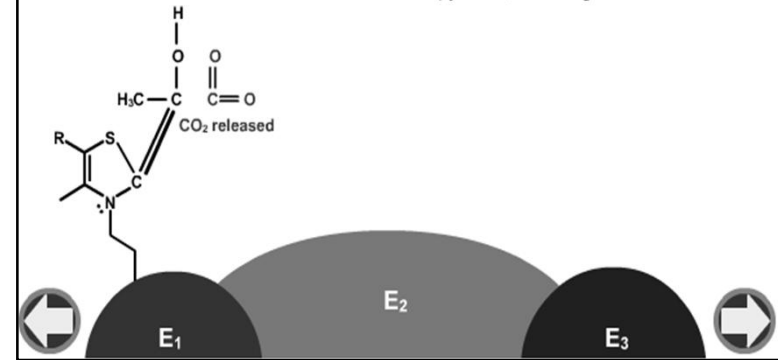
In order to generate acetyl-CoA, th PDC first converts pyruvate to an immobilized activated acetaldehyde group through one of its many pyruvate decarboxylase (E₁) subunits.

The carbanion formed on the coenzyme TPP then performs a nucleophilic attack on the 2-carbonyl carbon of pyruvate, releasing a CO₂ molecule.



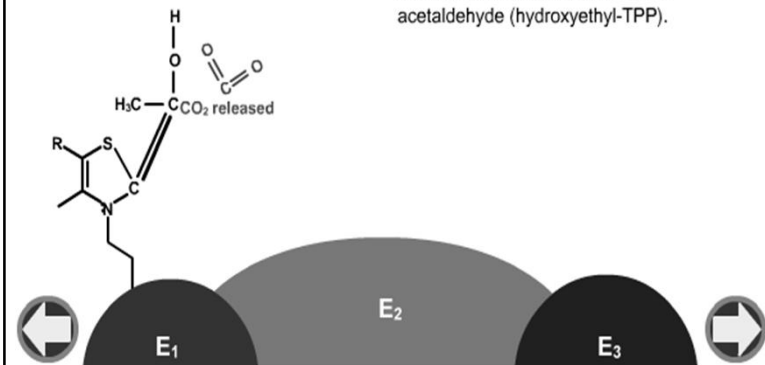
In order to generate acetyl-CoA, th PDC first converts pyruvate to an immobilized activated acetaldehyde group through one of its many pyruvate decarboxylase (E₁) subunits.

The carbanion formed on the coenzyme TPP then performs a nucleophilic attack on the 2-carbonyl carbon of pyruvate, releasing a CO₂ molecule.



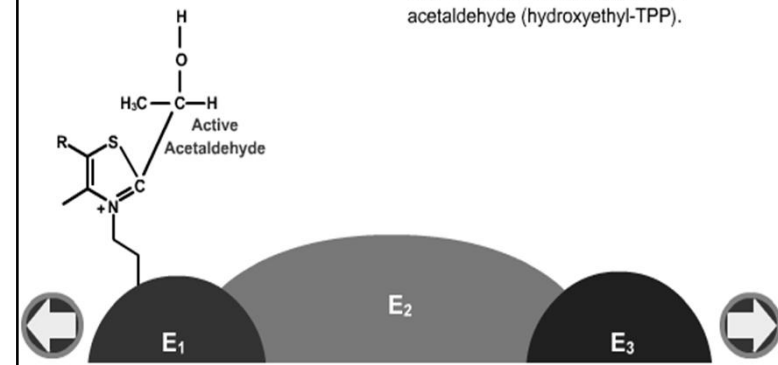
In order to generate acetyl-CoA, th PDC first converts pyruvate to an immobilized activated acetaldehyde group through one of its many pyruvate decarboxylase (E₁) subunits.

After the carbon dioxide is released, the immobilized molecule and TPP rearrange their bonds to form a bound active acetaldehyde (hydroxyethyl-TPP).



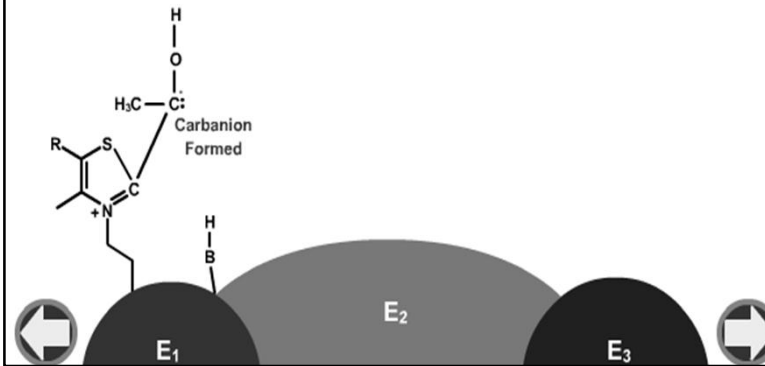
In order to generate acetyl-CoA, th PDC first converts pyruvate to an immobilized activated acetaldehyde group through one of its many pyruvate decarboxylase (E₁) subunits.

After the carbon dioxide is released, the immobilized molecule and TPP rearrange their bonds to form a bound active acetaldehyde (hydroxyethyl-TPP).



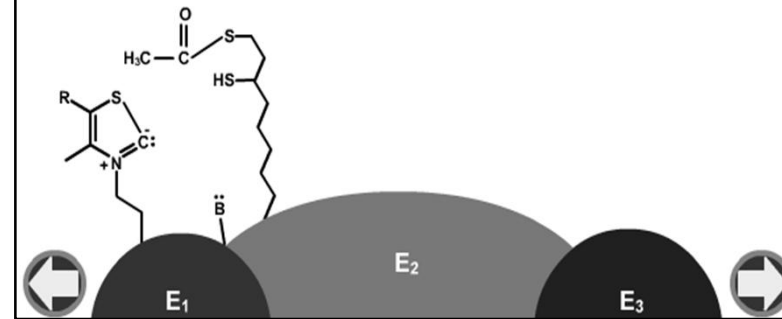
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipoic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

In this step, most likely another carbanion is created by a basic amino acid present on PDC.



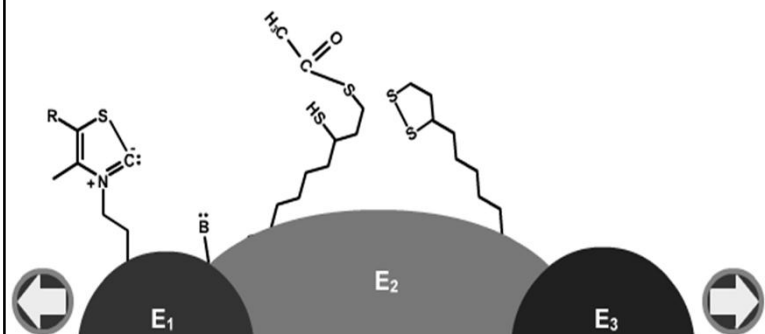
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipoic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

Then the carbanion's electrons form a bond with a lipoic acid "arm" on E₂.



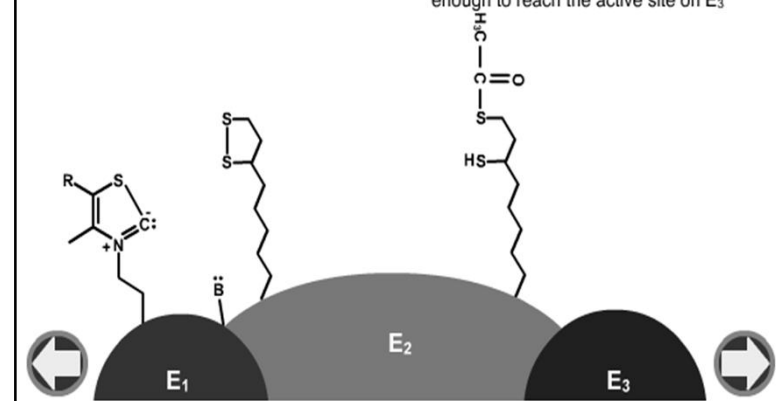
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipoic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

Now the acetyl group is passed to a second lipoic acid arm, for the first arm is not long enough to reach the active site on E₃



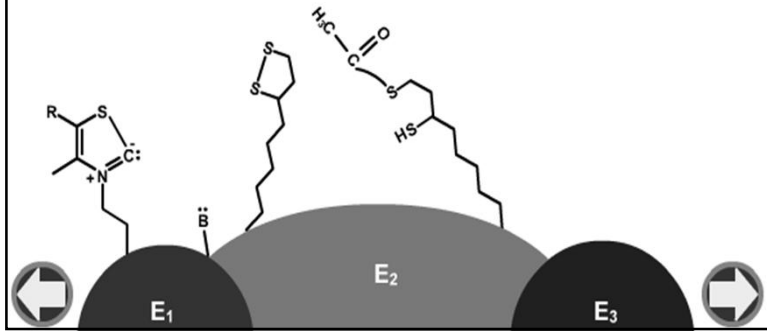
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipoic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

Now the acetyl group is passed to a second lipoic acid arm, for the first arm is not long enough to reach the active site on E₃



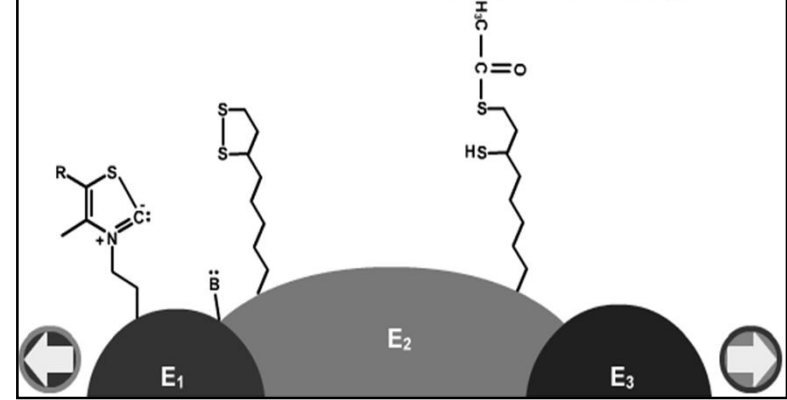
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipolic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

Now the acetyl group is passed to a second lipolic acid arm, for the first arm is not long enough to reach the active site on E₃



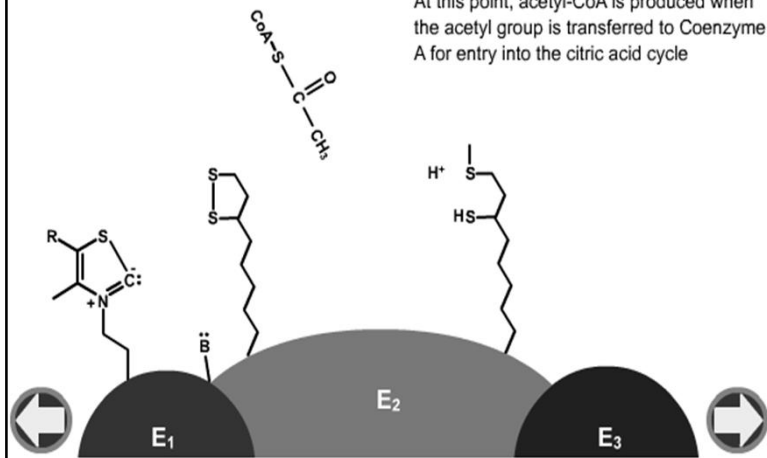
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipolic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

At this point, acetyl-CoA is produced when the acetyl group is transferred to Coenzyme A for entry into the citric acid cycle



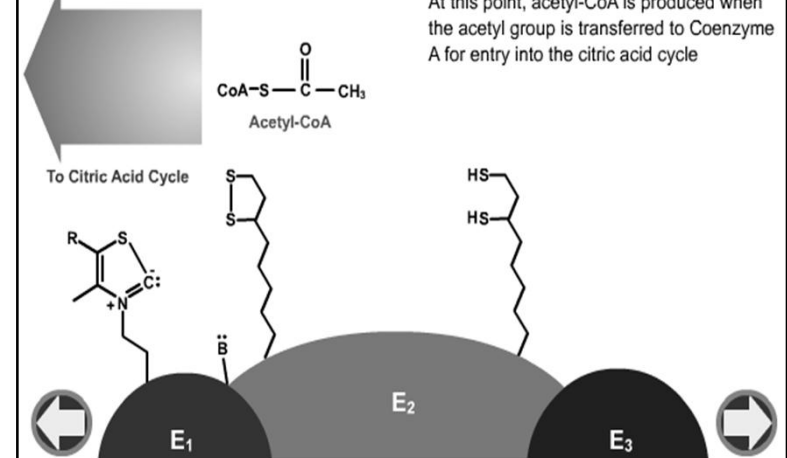
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipolic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

At this point, acetyl-CoA is produced when the acetyl group is transferred to Coenzyme A for entry into the citric acid cycle



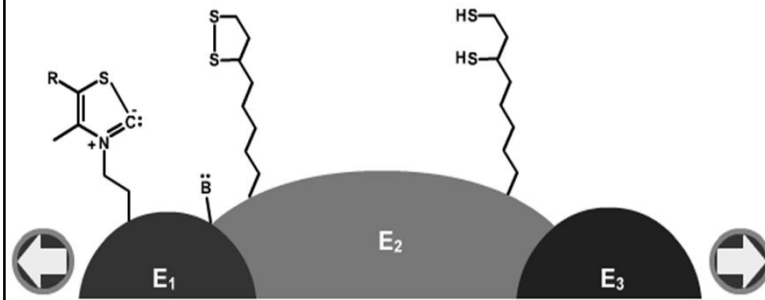
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipolic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E₂)

At this point, acetyl-CoA is produced when the acetyl group is transferred to Coenzyme A for entry into the citric acid cycle



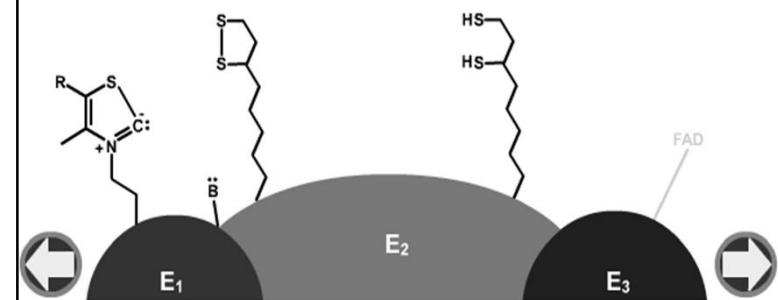
Next, the 2-carbon molecule is transferred to Coenzyme A (CoA), forming the important citric acid cycle metabolite acetyl-CoA via a lipoic acid coenzyme bound to dihydrolipoamide transacetylase (E_2)

At this point, acetyl-CoA is produced when the acetyl group is transferred to Coenzyme A for entry into the citric acid cycle



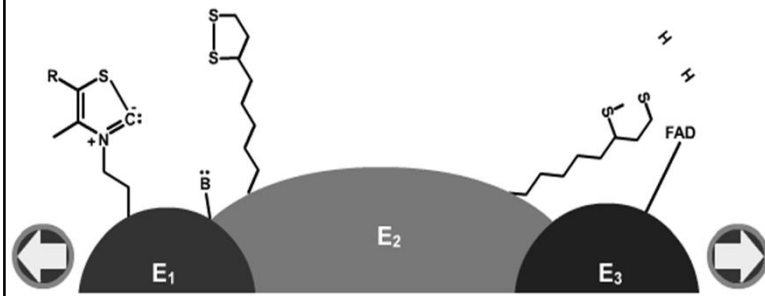
Finally, NADH is produced, which can be used to generate ATP in the mitochondria

The sulfhydryl groups on the reduced lipoic acid arm are used to reduce the FAD on E_3 to $FADH_2$, with the concomitant regeneration of the lipoic acid disulfide bond



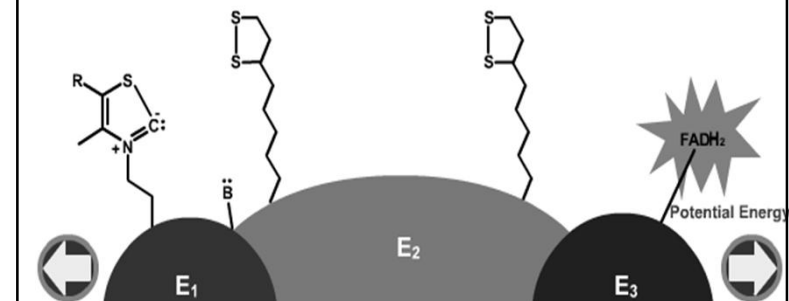
Finally, NADH is produced, which can be used to generate ATP in the mitochondria

The sulfhydryl groups on the reduced lipoic acid arm are used to reduce the FAD on E_3 to $FADH_2$, with the concomitant regeneration of the lipoic acid disulfide bond



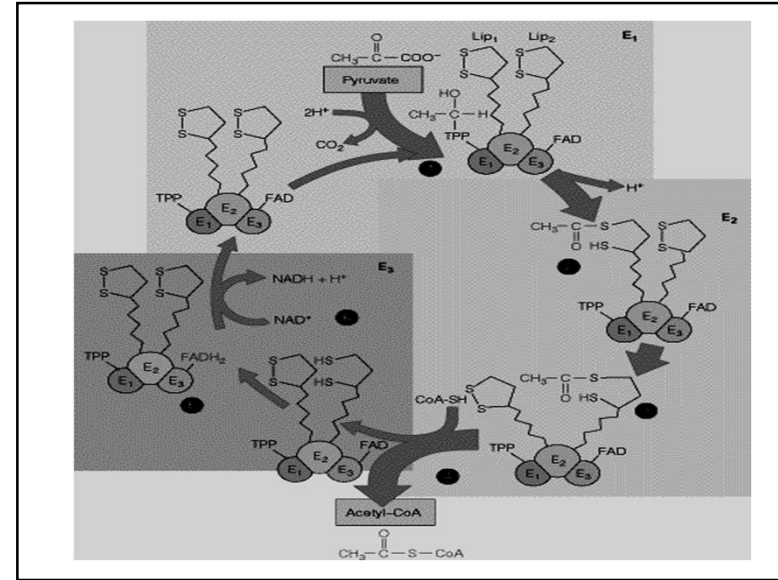
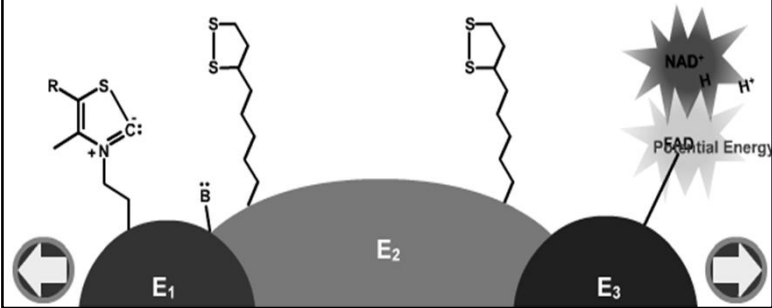
Finally, NADH is produced, which can be used to generate ATP in the mitochondria

Finally, the potential energy from the reduced electron carrier $FADH_2$ is used to reduce NAD^+ to $NADH$, and this electron carrier is then transported to the mitochondria to make ATP in the electron transport chain

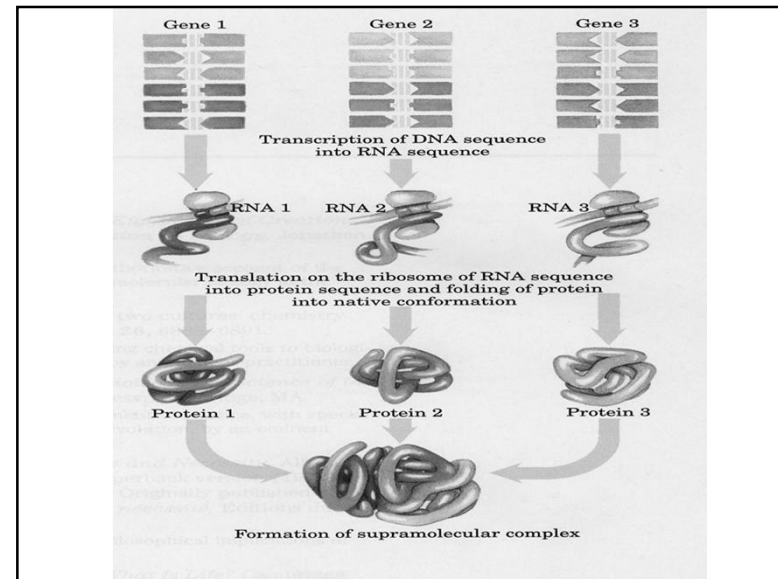


Finally, NADH is produced, which can be used to generate ATP in the mitochondria

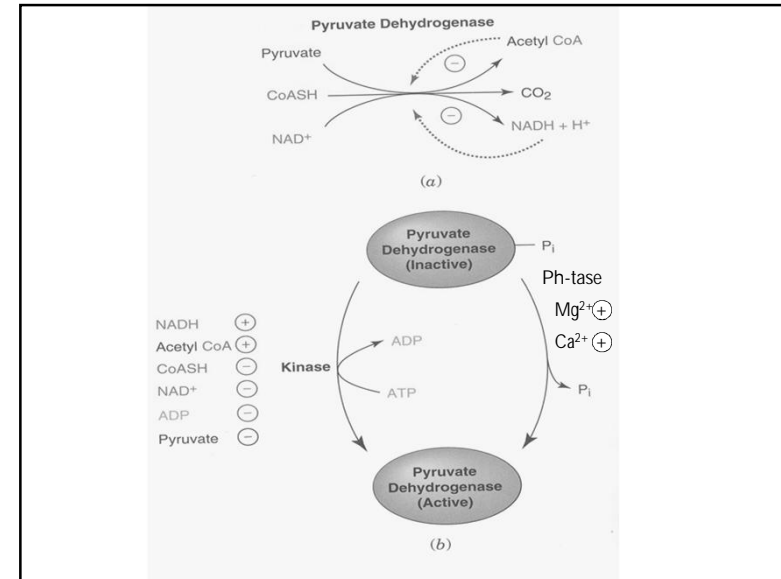
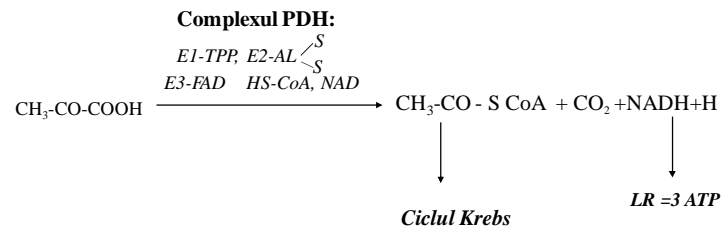
Finally, the potential energy from the reduced electron carrier FADH_2 is used to reduce NAD^+ to NADH , and this electron carrier is then transported to the mitochondria to make ATP in the electron transport chain



- Complexul nativ enzimatic se formează prin autoasamblare. Recent sa constatat că la un complex structural stabil revin 60 componente E2, 20-30 molecule E1, 6 molecule E3, 12 proteina X, 3+15 molecule K și mai mult de 3 molecule F;
- Proteina X e un component lipoil auxiliar, ce participă la transferul electronilor;



Reacția sumară:

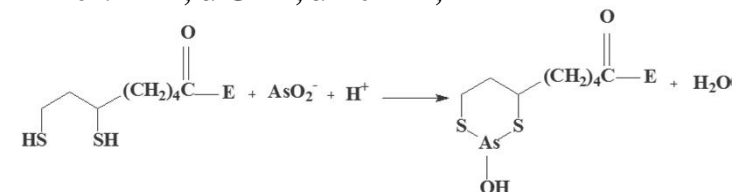


Deficitul piruvat carboxilazei sau al uneia din subunitățile PDH:

- Reducerea semnificativă a funcționării ciclului Krebs;
- Deficit energetic și acumulare de acizi: lactic, piruvic, α -cetoglutarat;
- Niveluri înalte de alanină și acizi ramificați în sânge, ca rezultat al blocării catabolismului lor, în condițiile reducerii fluxului intermediatorilor în ciclul Krebs;

Intoxicația cu arseniu:

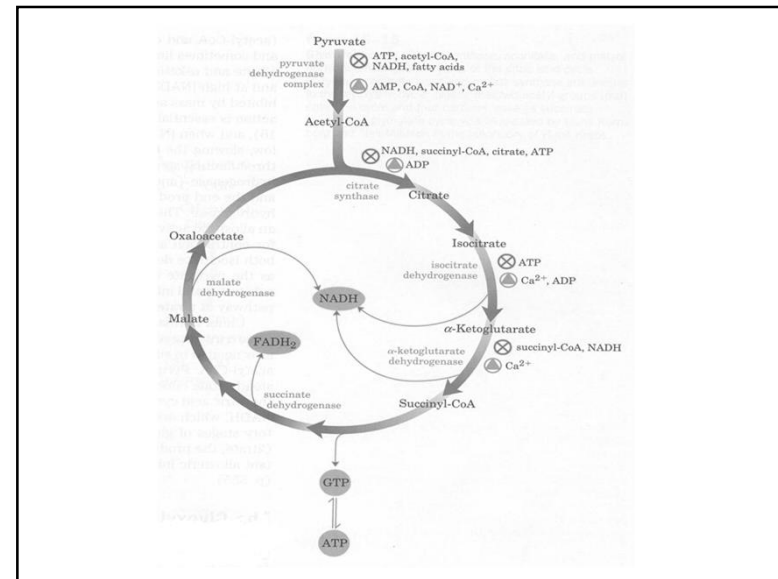
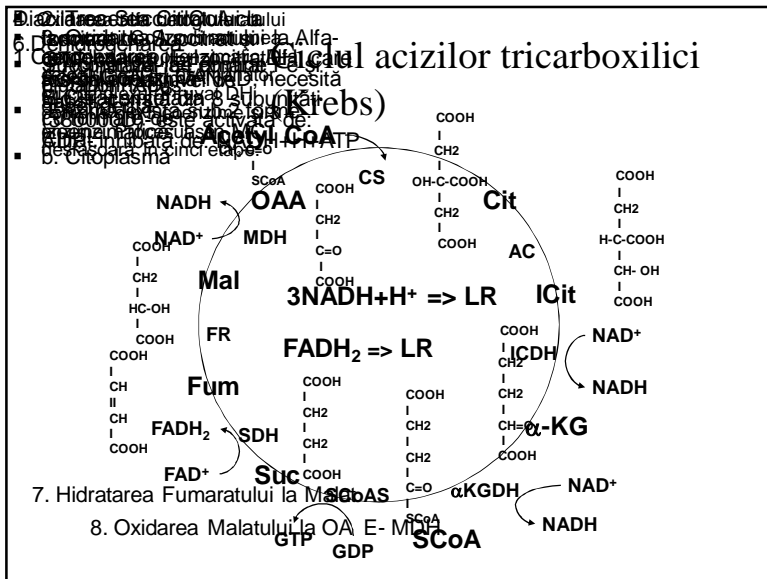
- Forma cea mai toxică este cea trivalentă (AsO_2^-);
- Sărurile de arseniu substituie fosfatul inorganic în reacțiile biologice, în enzime – formând esteri ai arsenatului (HAsO_4^{2-}) care sunt instabili;
- Arsenitul formează un complex stabil cu acidul lipoic în enzimele respective, inhibând activitatea lor: PDH, α -GDH, α -AcilDH;

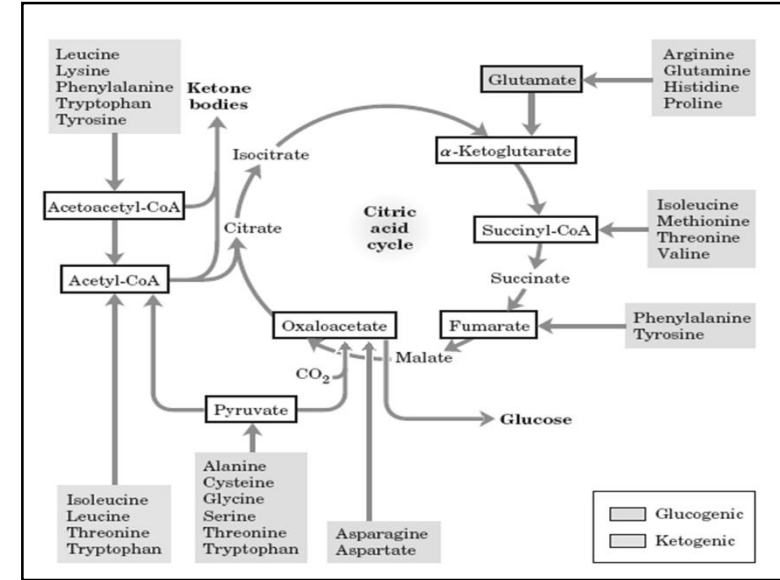
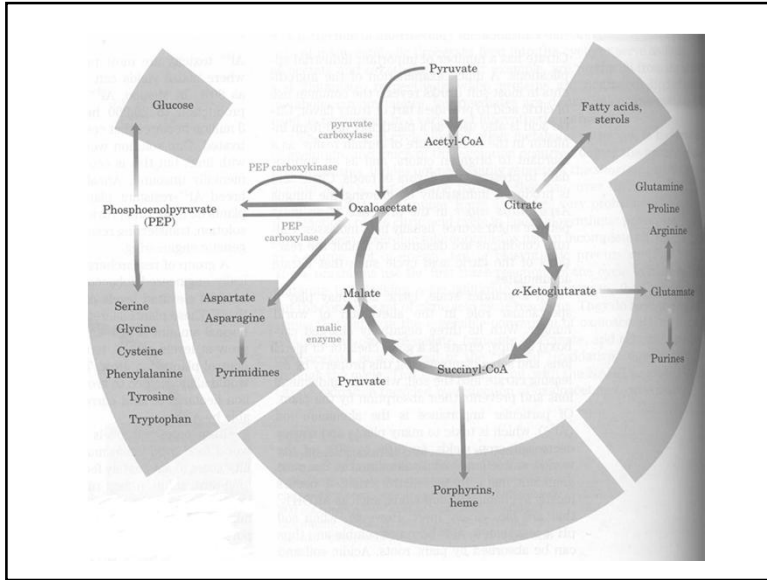


- Intoxicația cronică cu arseniu are loc la utilizarea apei contaminate cu pesticidele arsenice;
- Crima cu arsenit se identifică prin analiza părului și a unghiilor victimei, determinând concentrația de arseniu. Individul normal la 1 kg de păr conține 0,5 mg de As, în intoxicații concentrația crește de sute de ori;

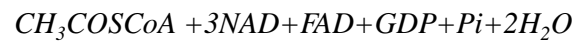
Ciclul Krebs

- Donor de protoni și electroni pentru LR;
- Integrativă;
- Amfibolică;
- Energetică.



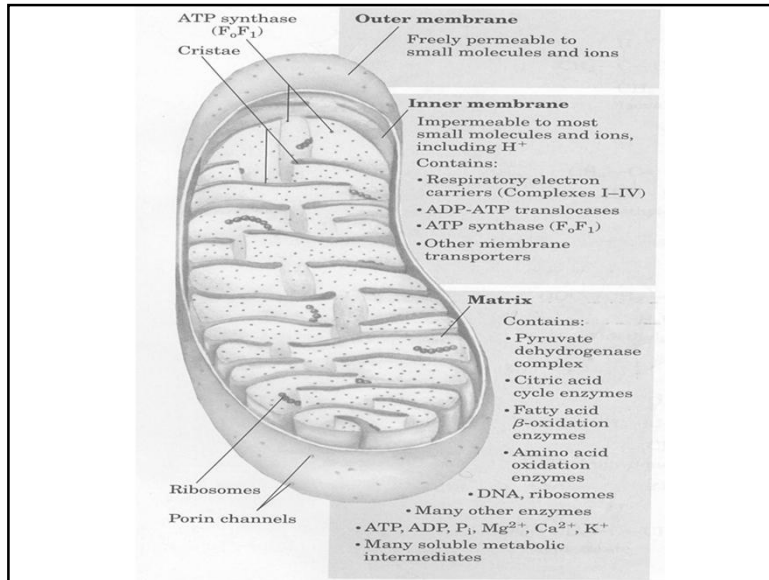


Reacția sumară



Deficitul enzimelor implicate în ciclul Krebs (fumaraza și α -ceto-GDH):

- Afecțiuni ereditare caracterizate prin acidoză lactică – acumularea piruvatului din glicoliză;
- Deficit energetic marcat – retard mintal, hipotonie, encefalopatii severe;
- Amplificarea excesivă a cetogenezei;
- Apar în perioada perinatală, afecțiunile sunt rare.



Membrana internă:

1. **Formează invaginări cunoscute ca criste;**
2. **Fosfolipidele constituie 30 – 35% din greutate totală care sunt distribuite asimetric;**
3. **Fosfatidiletanolamina predomină pe partea matricei, iar fosfatidilcolina pe partea citoplasmică;**

4. **Cardiolipina este prezentă numai pe partea matricială;**
5. **Ea este presăturată cu sfere atașate prin tulpini**
6. **Sferele sunt prezente pe partea M, dar lipsesc pe partea C;**

7. **Componentele ei conțin proteinele lanțului respirator, molecule transportatoare și ATP sintaze;**
8. **ATP-ADP translocazele și ATP sintazele prezintă $\frac{2}{3}$ din toate proteinele;**
9. **Moleculele mici sunt transferate prin sisteme de transport specific.**

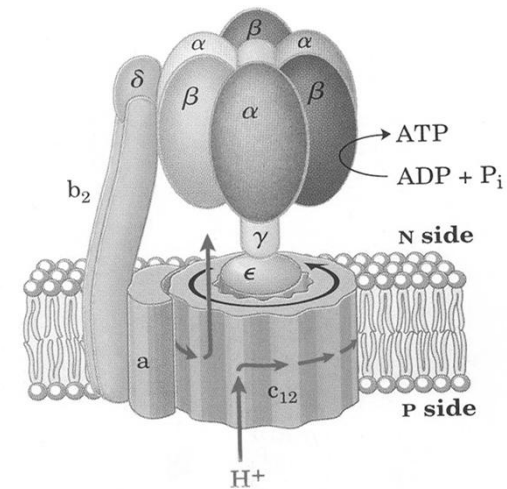
Membrana externă:

1. La fiecare unitate de proteină revin 2 sau mai multe fosfolipide;
2. În ea predomina colesterolul;
3. Permeabilitatea ei se datorează unor structuri proteice încadrate în stratul fosfolipidic, formând pori – porina, proteina identificată.

Mitocondriile sunt implicate în moartea celulară programată – apoptoza. Structura, mecanismul replicării DNA mitocondrial și procesele de transcripție și translație sunt unicele.

Particulele submitocondriale (SMPs):

1. Apar la dezintegrarea mitocondriilor în rezultatul șocului mecanic, osmotic, sonic;
2. Fragmentele membranei interne se transformă în vezicule;
3. Membranele SMPs sunt capabile de transportul de electroni și fosforilarea oxidativă;
4. Structurile care includ sfere (F1), tulpine și o subunitate proteică membranară (F0) pot sintetiza ATP; oligomicina – antibiotic ce puternic inhibă această subunitate.



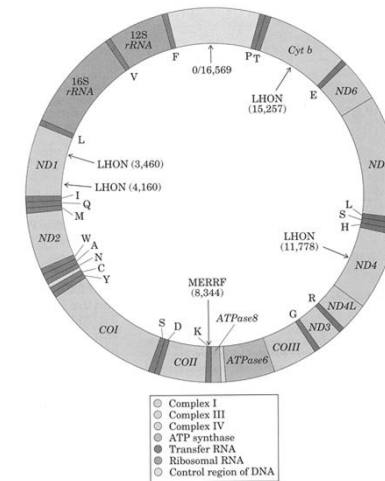
Genomul mitocondrial

Se deosebește de codul genetic universal, prin următoarele:

- Prezintă o moleculă circulară cu catenă dublă de DNA, foarte compactă, ce conține 16,569 perechi de baze;
- Genele mitocondriale umane nu sunt separate prin secvențe intercistronice;

- Deosebim o catenă cu densitate mare H și alta ușoară L și o regiune necodată D-inel – aici se află originea replicării și promotorii pentru transcripția ambelor catene.
- DNAm conține 37 de gene ce codifică proteinele lanțului respirator, restul genelor codifică RNAr (12S și 16S) și 22S RNAt;

- RNAm nu conține nici secvențe inițiale și nici secvențe de terminale, nu este poliadenilată;
- DNAn susține fosforilarea oxidativă a produselor genelor mitocondriale;
- Proteinele codificate de genele nucleare sunt sintetizate în ribozomii citoplasmici, importate și asamblate în mitocondrii.



Unele caracteristici ale DNAm:

1. Este transmis prin citoplasmă și moștenit matern;
2. În caz de mutație se crează o populație intracelulară mixtă de molecule provenite din mutații și originale, care întâmplător sunt distribuite în celule fiice;
3. Defectele severe reduc randamentul energetic celular;

4. Are o rată de mutații de 10-17 ori mai mare decât DNAn, care afectează ambele linii germinale și a țesutului somatic;
5. Mutațiile liniilor germinale rezultă în boli transmise pe lina maternă sau predispoziții la boli degenerative ce se manifestă întârziat;
6. Mutațiile somatice se acumulează în țesuturi și intensifică defectele fosforilării oxidative moștenite.

Mutațiile apar datorită concentrației înalte a radicalilor oxigenului, lipsa mecanismelor insuficiente de reparare a DNAm, cât și/sau lipsa histonelor.

Cu vârsta capacitatea de generare a ATP-ului scade, ce este asociată cu creșterea lezărilor DNAm somatic.

Biogeneza mitocondrială încorporează următoarele procese distincte:

- Sinteza membranelor mitocondriale strâns legate de ciclul celular;
- Diferențierea organelor ce necesită un control coordonat a genelor nucleare și mitocondriale, care sunt independente de creșterea și diviziunea celulară;

- Formarea complexului funcțional enzimatic care are loc grație asamblării succesive de subunități;
- Unele secvențe proteice importante conțin aminoacizi bazici și hidroxilați în cantități majore și lipsa aminoacizilor acizi și ramificați cu secvență hidrofobă.

Mutațiile în regiunile cu secvențe importante provoacă lipsa unor proteine transportatoare de: metil-malonil-CoA-mutaza, alanil-glioxilat-aminotransferaza;

Transportul proteinelor în MT este facilitat de proteina de inserție generală (GIP). După traversarea precursorului polipeptidelor, el este convertit în proteine mature prin acțiunea enzimelor proteolitice.

Expresia DNAm:

- Pe lângă locurile limitate inițierii transcrierii și prezența structurilor suprapuse posedă și alte trăsături distincte, incluzând un codon de repartizare ce diferă de cel al DNAn;
- UGA este folosit ca codon al Trp (în loc de codon STOP);

- Codonul AUA este codonul Met, dar nu a Ile;
- Codonii AUA și AUU sunt codoni de inițiere
- Nu sunt codonii AGA sau AGG (Arg), ei sunt utilizați ca codoni de terminare în genele DNAm, de asemenea nici RNAt nu este pentru acești codoni;

- Un singur RNAt Met specifică ambele RNAt Met și N-formil-Met, grație modificărilor secundare în transcriptul primar;
- MT necesită doar 22 molecule de RNAt pentru a citi codul genetic, comparativ cu cele 31 pentru sistemul citozolic;

- Unele RNAt sunt codate de genomul nuclear, altele mitocondrial;
- Codul genetic mitocondrial are varietăți la diferite organisme.

Controlul nuclear al expresiei lanțului respirator:

- Majoritatea genelor nucleare contribuie la funcționarea subunităților respiratorii – 80% din genele subunităților sunt localizate în nucleul celulei;
- Câteva gene nucleare sunt implicate în tulburări genetice mitocondriale. Unele anomalii ale DNAm_t sunt transmise ca trăsături Mendeliene cauzate de mutații în genele nucleare respective.

Unii factori nucleari sunt implicați în expresia lanțului respirator și joacă un rol important în controlul funcției mitocondriale:

- NRF1 (factor nuclear al respirației) se leagă de gene ce codifică proteinele lanțului respirator, participă în biosinteza enzimelor hemului și a componentelor transcripției și replicării DNAm_t;
- NRF2 este implicat în funcționarea subunității 4 și 5b a citocrom-oxidazei c;

- Integritatea expresie genelor nucleare și mitochondriale sunt determinate de două proteine reglatoare care acționează asupra unor gene nucleare suprapuse;
- Complexele 3,4,5 și citocromul **c** au cel puțin o subunitate expresia căreia se află sub controlul NRF;

- Procesul de legare este asociat cu o proteină de 34kDa. O mutație punctiformă în această regiune este asociată cu miopia, encefalomiopia mitochondrială, acidoza lactică.

- Funcția reglatoare în interacțiunile nucleu – mitocondrie îl are proteina reglatoare TFAMt, ce stimulează transcripția inițiată de RNA-polimeraza MT;
- O altă proteină reglatoare a DNAn joacă un rol deosebit în terminare transcripției MT. Acest factor TERF se leagă de genele 16S RNAr și RNAt-leucil bidirecțional.

Bolile mitochondriale:

- Cauza comună a bolilor degenerative sunt defectele bioenergetice;
- Lezarea interacțiunii nucleu-citosol este rezultatul mutațiilor autosomal – dominante;
- Bolile complexe sunt rezultatul epuizării DNAMt în țesuturi;

- Mutațiile DNAm sunt asociate cu un larg spectru de boli cronice degenerative cu o varietate de reprezentări clinice.

Mutațiile de substituție:

- Sunt fenotipuri clinice variate cu implicarea sistemului nervos;

- LHON (neuropatia optică ereditară Leber) se caracterizează prin o pierdere rapidă bilaterală a vederii centrale grație atrofiei nervului optic; boala e moștenită matern afectând bărbații tineri; maladia este asociată cu cel puțin 16 mutații diferite missens în DNAm. Mutațiile în genele – ND1, ND4 și ND6 sunt cauzele primare;

- Mutațiile missens în gena ATP-azei G duc la o slabiciune musculară neurogenică, ataxie și retinita pigmentoasă (NARP), în cele mai multe cazuri manifestarea este descrisă ca boala lui Leigh; Mutațiile deplasează restul de Leu finalizând cu pierderea producției de ATP.

- Familia bolilor LHON demonstrează că mutațiile puțin dăunătoare a DNAm se pot acumula pe un cromozom MT în timpul evoluției creând o predispoziție.
- Alți factori nocive vor declina (raportat la vârstă) producția insuficientă de energie cauzând boala.

- Mutațiile DNAm sunt asociate cu un atac întârziat al bolilor și pot predispuce la boala Alzheimer sau Parkinson.
- Bolile moștenite matern vor fi asociate cu mutațiile în RNAt – miopatii mitocondriale severe - fibre musculare scheletale “roșii aspre” și acumulare de anomalități structurale mitocondriale în mușchi;

- Indivizii cu mutații în RNAt pot să nu manifeste semne clinice până când proporția de DNAm mutant nu va depăși 80-90%;

- Epilisia mioclonică și boala fibrelor roșii (MERRF – o mutație în gena mitocondrială care codifica tRNA–Lys), encefalopatia mitocondrială și acidoza lactică (MELAS – mutație în gena mitocondrială pentru tRNA – Leu) la fel ca și miopatiile și cardiomiopatiile (MMC) moștenite matern sunt boli mitocondriale bine caracterizate;

- Indivizii cu genotip DNAm identic pot manifesta semne clinice diferite în dependență de vârstă – la 20 de ani cu 80% DNAm mutant pot fi asimptomatici, iar la 60 de ani suferă de boli neurologice multisistemice;
- Mutațiile în DNAm și RNAt afectează SNC și țesutul muscular scheletic sau cardiac, mutațiile missens în primul rând afectează țesutul nervos;

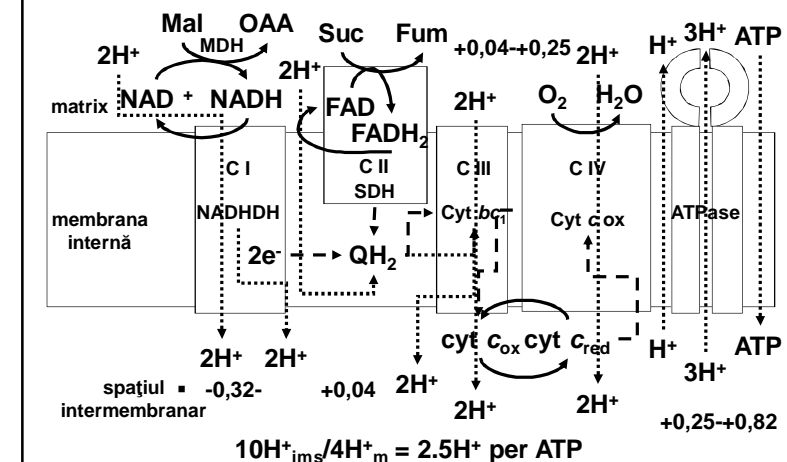
- Delețiile în DNAm_t pot provoca miopia oculară și Sindromul medular-pancreatic Pearson. Cel mai răspândit sindrom al miopatiilor este Sindromul Kerns-Sayre (KSS) – oftalmoplegie, retinită pigmentoasă atipică, miopatie mitocondrială, sindrom cerebral și anomalități în conductibilitatea cardiacă, sau descris peste 120 deleții diferite în DNAm_t;

- Duplicațiile DNAm_t sunt mai rare, mecanismul de apariție nu este cunoscut;
- Mitocondiopatiile asociate cu limitarea severă a metabolismului aerobic în astfel de organe ca ficat, rinichi, inimă și creier sunt probabil incompatibile cu viața;

Lanțul Respirator:

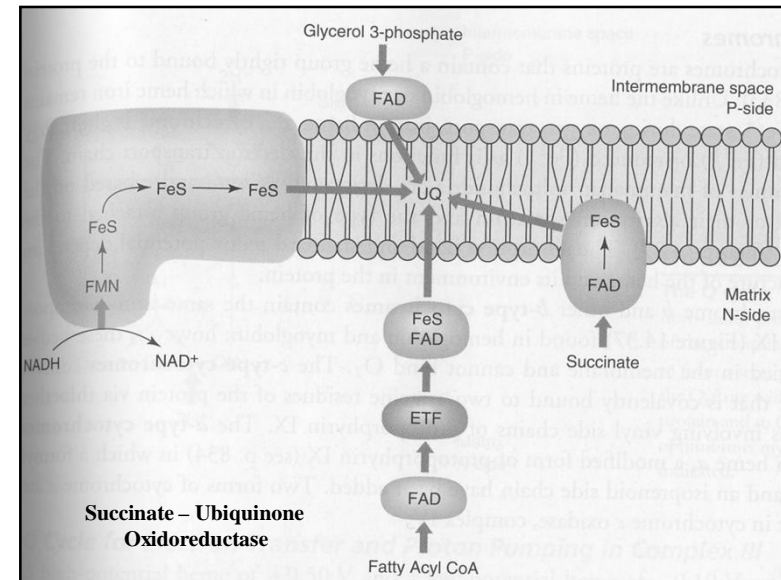
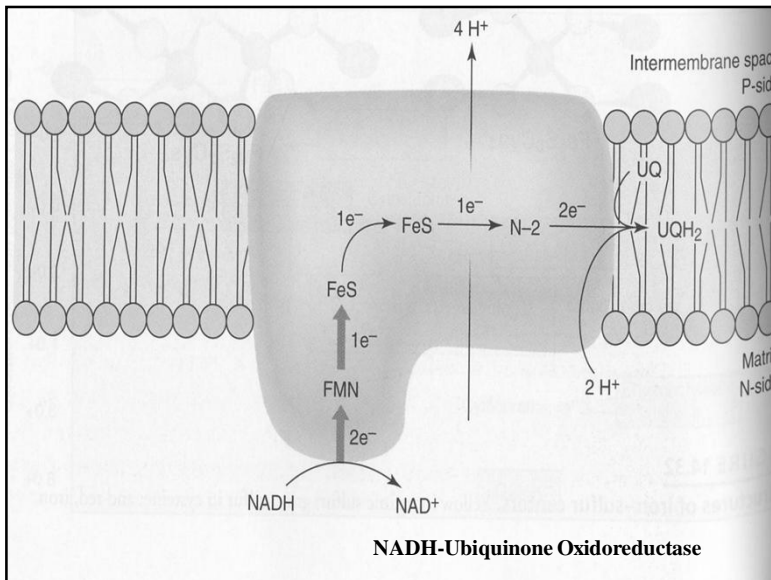
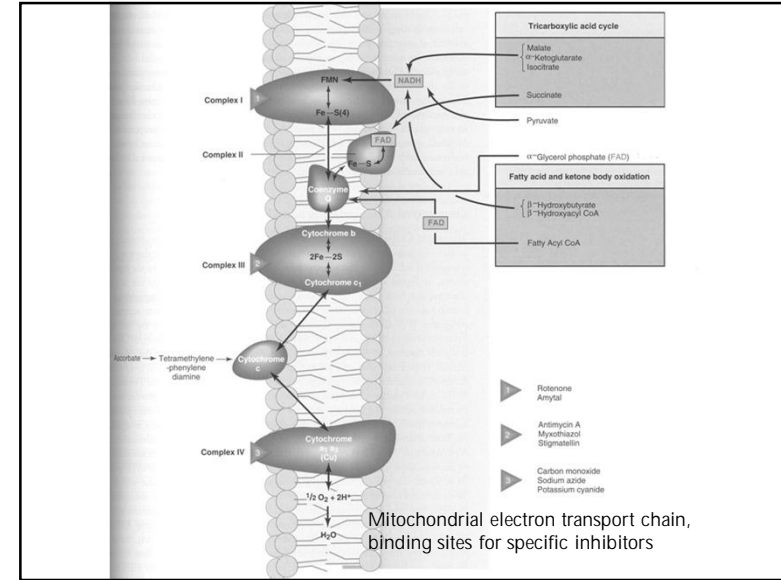
- ultima etapă a degradării aerobe;
- ansamblul sistemelor redox și enzimelor, care participă la transferul echivalenților redox (protoni și electroni) de la coenzimele reduse la oxigen.

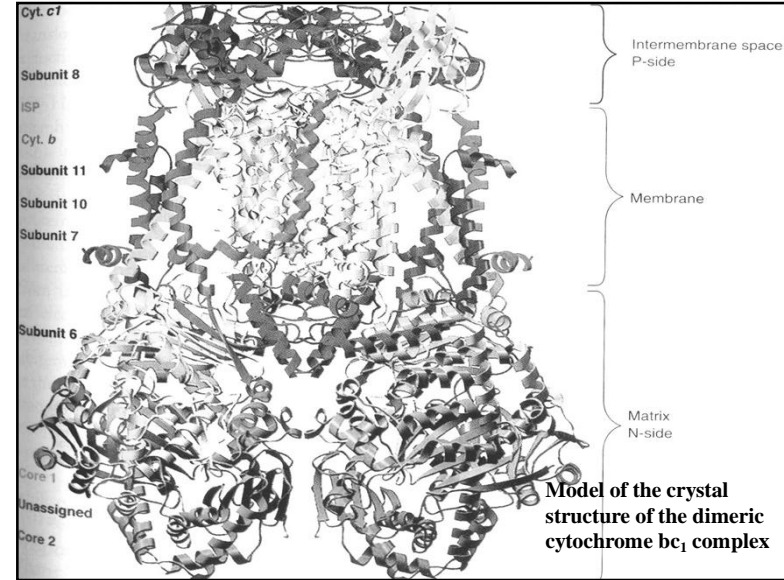
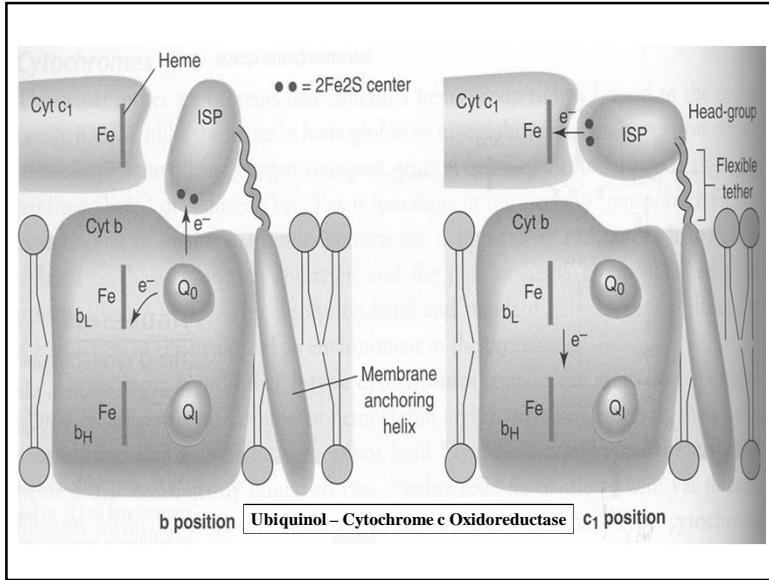
Lanțul respirator



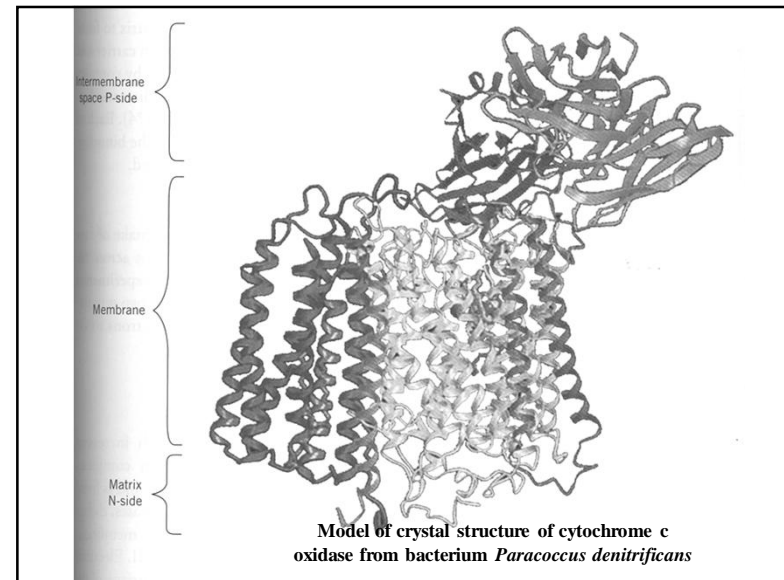
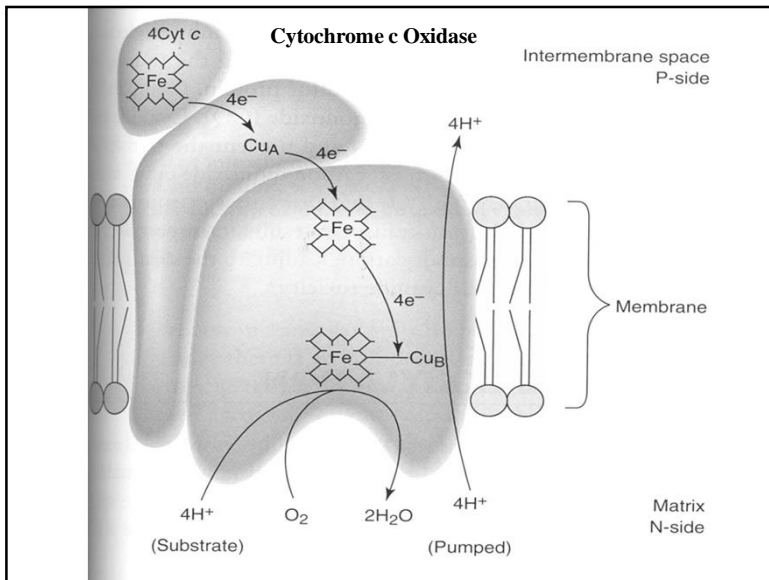
The Mitochondrial Genes Contributing to the Complexes of the Mitochondrial Oxidative Phosphorylation Machinery

| Complex | Total Subunits | Encoded by mtDNA |
|---|----------------|------------------|
| Complex I, NADH: CoQ reductase | 40 | 7 |
| Complex II, succinate dehydrogenase | 4 | 0 |
| Complex III, ubiquinone: cytochrome c reductase | 10 | 1 |
| Complex IV, cytochrome oxidase | 13 | 3 |
| Complex V, ATP synthase | 13 | 2 |

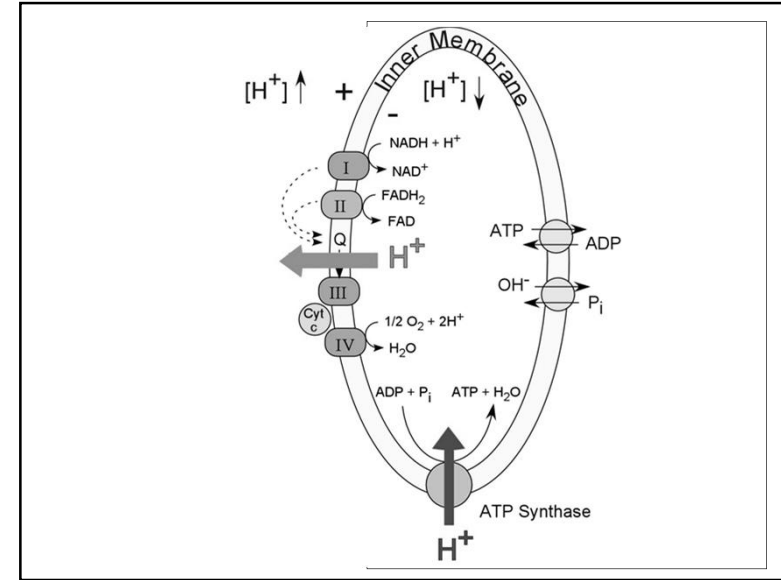
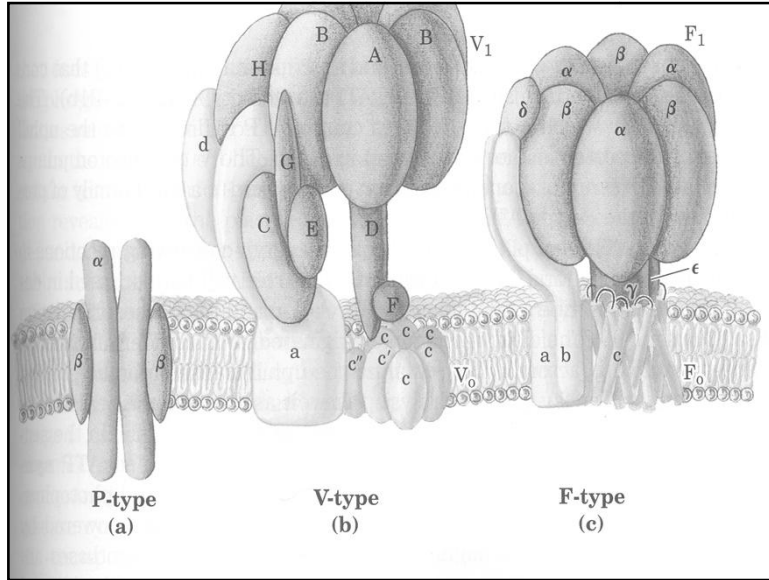




Model of the crystal structure of the dimeric cytochrome bc₁ complex

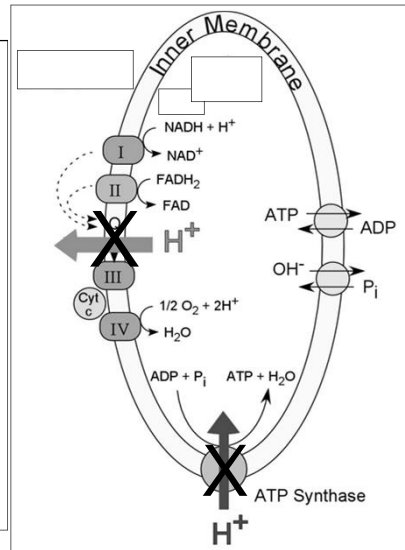


Model of crystal structure of cytochrome c oxidase from bacterium *Paracoccus denitrificans*



Inhibitorii Transportului de electroni

CO
CN⁻
N₃⁻
Rotenone ș.a



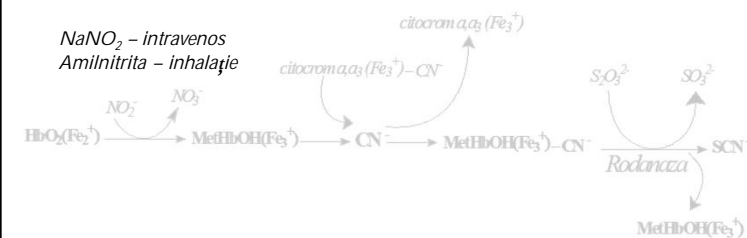
Intoxicația cu cianuri:

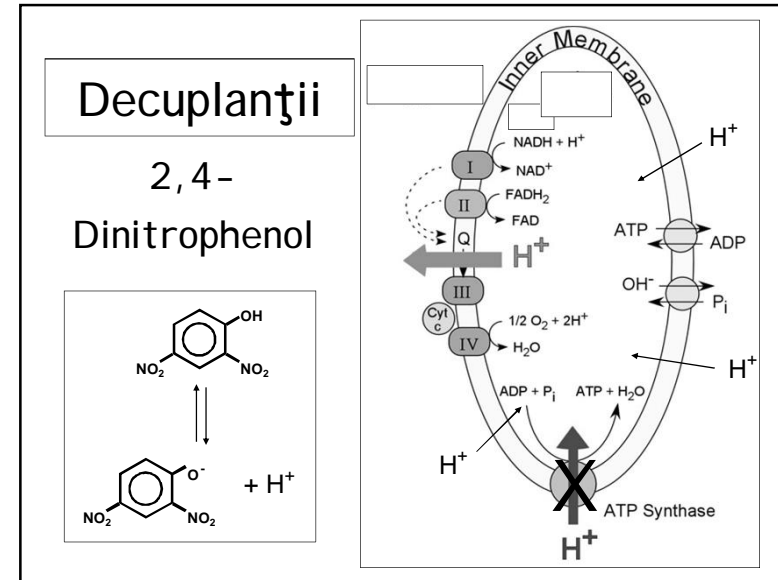
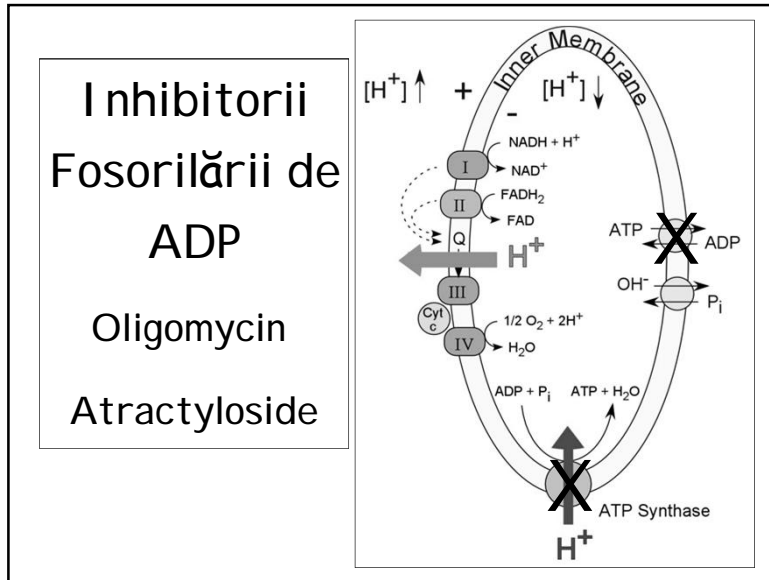
- Cianura este cea mai rapidă și puternică otrăvă, la inhalarea gazului cianurii de hidrogen, sau la ingerarea cianurii de potasiu – apare o rapidă și extinsă inhibiție a lanțului mitocondrial transportator de electroni la momentul oxidării citocromului;

- Cianura se fixează de Fe^{3+} în hemul citocromului a, a₃ și inhibă reacția dintre oxigen și citocromi; respirația mitocondrială și producerea de energie încetează – survine moartea rapidă a celulei, mai ales în sistemul nervos central.

- Ca surse nedietare de cianide poate fi *nitroprusidul de sodiu* (agent hipotensiv), *succinonitrilul* (agent antidepresant), *acrilonitrilul*, cât și fumul de țigară;
- Expoziția cronică se manifestă prin demielinizare, leziuni ale nervului optic, ataxia și depresia funcției glandei tiroide;

- Dacă otrăvirea nu e mortală, individului i se administrează diverși nitrați care transformă OHb în MetHb ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$);
- MetHb concurează cu citocromii pentru cianură formând un complex **MetHb – cianură**, administrarea de tiosulfat, grație enzimei rodanaza eliberează tiocianatul.

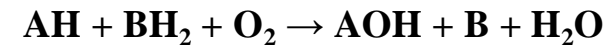




Oxigenazele. Citocromul P₄₅₀ și reacțiile de oxidoreducere

- Aproape 90% din O₂ este redus de complexul citocromoxidazic aa₃.
- Unele țesuturi conțin enzime ce catalizează reacții de oxido-reducere în care atomii de oxigen se includ nemijlocit în molecule și formează grupa OH sau carboxilică – COOH.
- Enzimele ce catalizează tipul dat de reacții se numesc *oxigenaze*.

- *Dioxigenazele* sunt enzime ce catalizează reacții care includ în molecula substratului organic ambii atomi de O₂, exp: pirocatehaza.
- *Monooxigenazele* reprezintă enzime ce catalizează reacții de includere a unui atom de O₂, celălalt fiind redus la H₂O.
- Aceste enzime necesită două substraturi – unul adăunează un atom, iar al doilea – cosubstratul este donator de H pentru reducerea atomului de O₂ la H₂O:



- Primul substrat se hidrolizează, de aceea enzimele sunt denumite și hidroxilaze; monooxigenazele se divizează în subclase în dependență de natura cosubstratului (FMN, FAD, NAD, NADP, α -cetoglutarat).

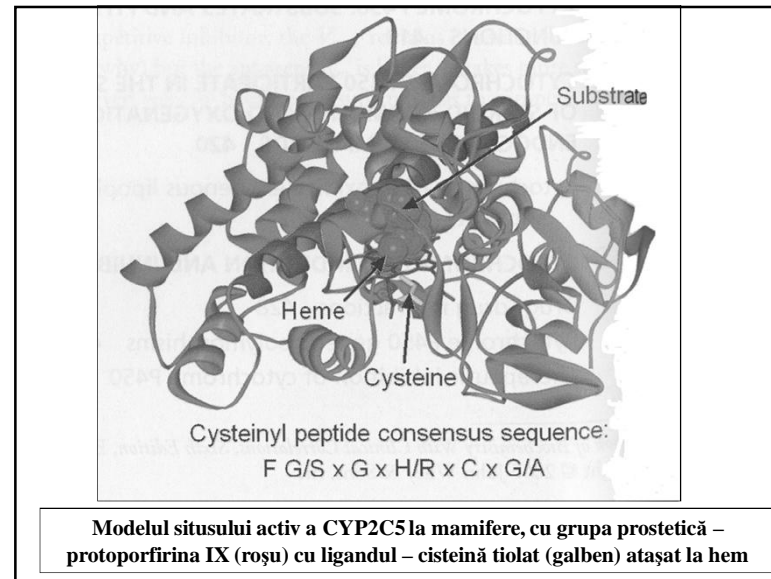
| CYP Family | Isoforms | Selected Substrate(s) | Selected Inhibitor(s) | Selected Inducer(s) |
|------------|----------|--|------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 1A1 | Benzo(a)pyrene, diclofenac | Ketoconazole | Benzo(a)pyrene |
| | 1A2 | Benzo(a)pyrene, warfarin | Ciprofloxin | St. John's wort |
| 2 | 1B1 | Benzo(a)pyrene, aflatoxin B1 | Tamoxifen | NC* |
| | 2A6 | Acetaminophen, nicotine | Cannabidol | Dexamethazone |
| | 2A7 | NC | NC | NC |
| | 2A13 | Hexamethylphosphoramide | NC | NC |
| | 2B6 | Diazepam, mephenytoin | Ketoconazole | Rifampicin |
| | 2C8 | Taxol, ibuprofen, verapamil | Quinine | Phenobarbital |
| | 2C9 | Amitriptyline, naproxen | Sulfaphenazole | Rifampicin |
| | 2C18 | Imipramine, methadone | NC | Rifampicin |
| | 2C19 | Diazepam, omeprazole | Isoniazid | Rifampicin |
| | 2D6 | Fluvastatin, codeine, risperidone | Quinidine | Dimethylsulfoxide |
| | 2E1 | Acetaminophen, halothane | Watercress | Isoniazid, ethanol |
| | 2F1 | Naphthalene, styrene | NC | NC |
| | 2J2 | Bufuralol | NC | NC |
| | 2R1, 2S1 | NC | NC | NC |
| | 2U1, 2W1 | NC | NC | NC |
| 3 | 3A4 | Erythromycin, nifedipine, codeine, warfarin, terfenadine | Troleandomycin, ketoconazole | Cortisol, rifampin, phenobarbital |
| | 3A5 | Verapamil, pravastatin | NC | Dexamethazone |
| | 3A7 | Retinoic acid, codeine, cortisol | DHEA | NC |
| | 3A43 | Testosterone | NC | NC |

* NC, not well-characterized.

Citocromii P₄₅₀ umani implicați în metabolismul exogen

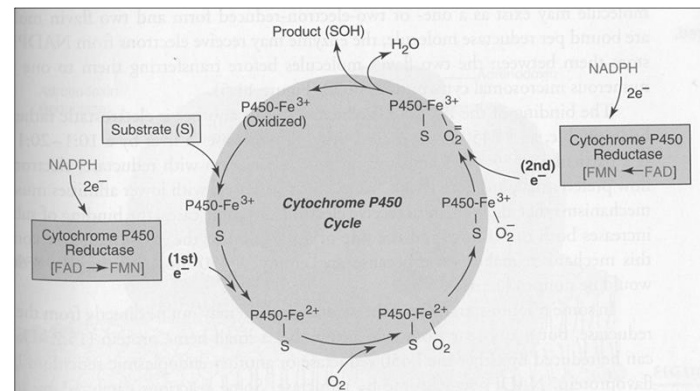
| CYP Family | Isoforms | Substrate(s) | Activity |
|------------|---------------------------------|--|------------------------------------|
| 4 | 4A11 | Fatty acids | ω -Hydroxylase |
| | 4B1 | Arachidonic acid | 12-Hydroxylase |
| | 4F2 | Arachidonic acid, leukotriene B ₄ | ω -Hydroxylase |
| | 4F3 | Leukotriene B ₄ | ω -Hydroxylase |
| | 4F8 | Arachidonic acid, prostaglandins | 18-Hydroxylase |
| | 4F12 | Arachidonic acid | ω -Hydroxylase |
| 5 | 4A22, 4F11, 4F22, 4V2, 4X1, 4Z1 | Unknown | Unknown |
| | 5A1 | Prostaglandin H ₂ | Thromboxin A ₂ synthase |
| 7 | 7A1 | Cholesterol | 7- α -Hydroxylase |
| | 7B1 | Pregnenolone, dehydroepiandrosterone (DHEA) | 7- α -Hydroxylase |
| 8 | 8A1 | Prostaglandin H ₂ | Prostaglycin synthase |
| | 8B1 | Sterols | 12- α -Hydroxylase |
| 11 | 11A1 | Cholesterol | Side-chain cleavage |
| | 11B1 | 11-Deoxycortisol, 11-deoxycorticosterone | 11- β -Hydroxylase |
| | 11B2 | Corticosterone | 18-Hydroxylase |
| 17 | 17A1 | Pregnenolone, progesterone | 17- α -Hydroxylase |
| | | 17-hydroxy pregnenolone, 17-hydroxy progesterone | 17-20 Lyase |
| 19 | 19A1 | Androstenedione, testosterone | Aromatase |
| | 20A1 | Unknown | Unknown |
| 21 | 21A2 | Progesterone, 17-hydroxy progesterone | 21-Hydroxylase |
| | 24A1 | 25-Hydroxy vitamin D3 | 24-Hydroxylase |
| 26 | 26A1 | Retinoic acid | 4-Hydroxylase |
| | 26B1 | Retinoic acid | Unknown |
| 27 | 26C1 | Unknown | Unknown |
| | 27A1 | Sterol | 27-Hydroxylase |
| 27B1 | | Vitamin D3 | 25-Hydroxylase |
| | | Vitamin D3 | 1- α -Hydroxylase |
| 39 | 27C1 | Unknown | Unknown |
| | 39A1 | 24-Hydroxy cholesterol | 7-Hydroxylase |
| 46 | 46A1 | Cholesterol | 24-Hydroxylase |
| | 51A1 | Lanosterol | 14- α -Demethylase |

Citocromii P₄₅₀ umani implicați în metabolismul endogen

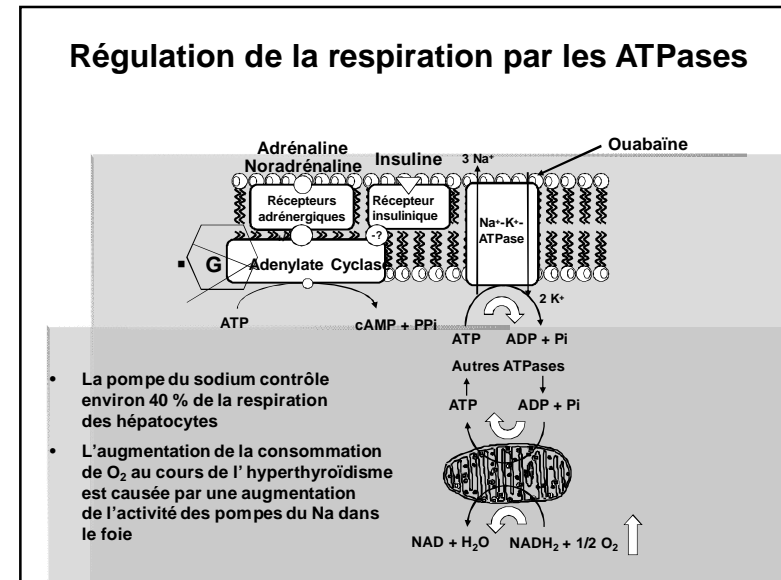
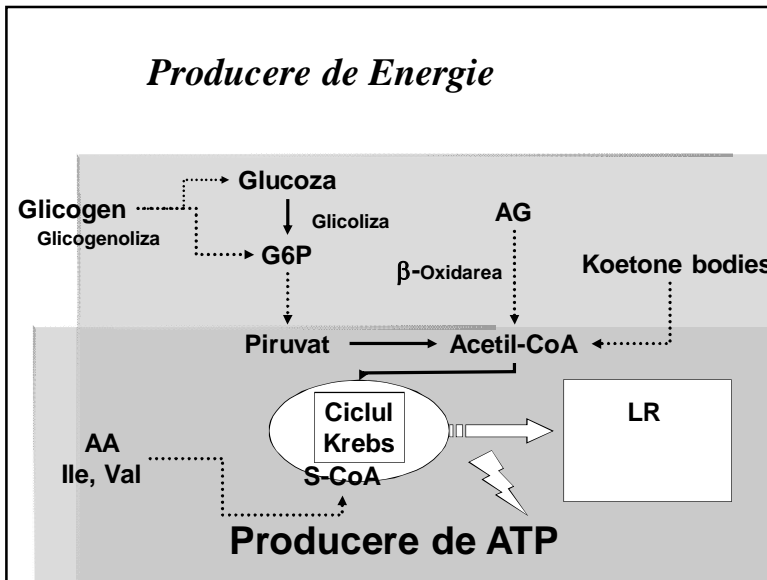
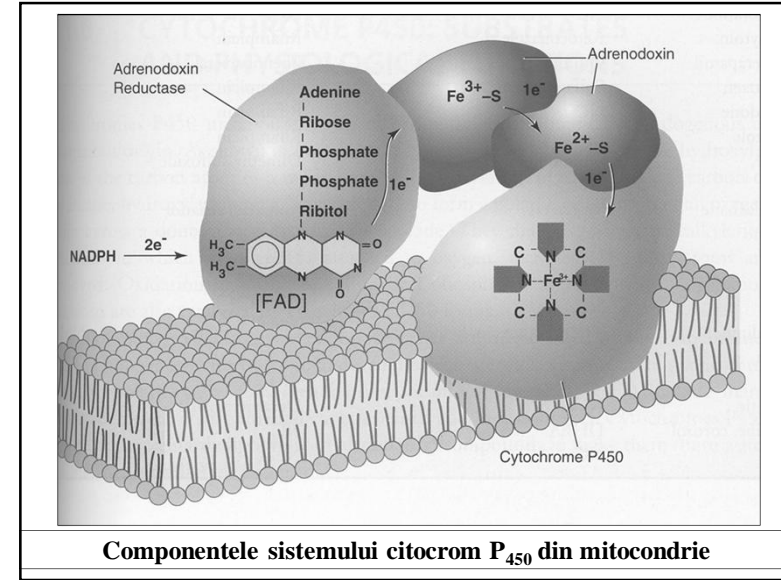
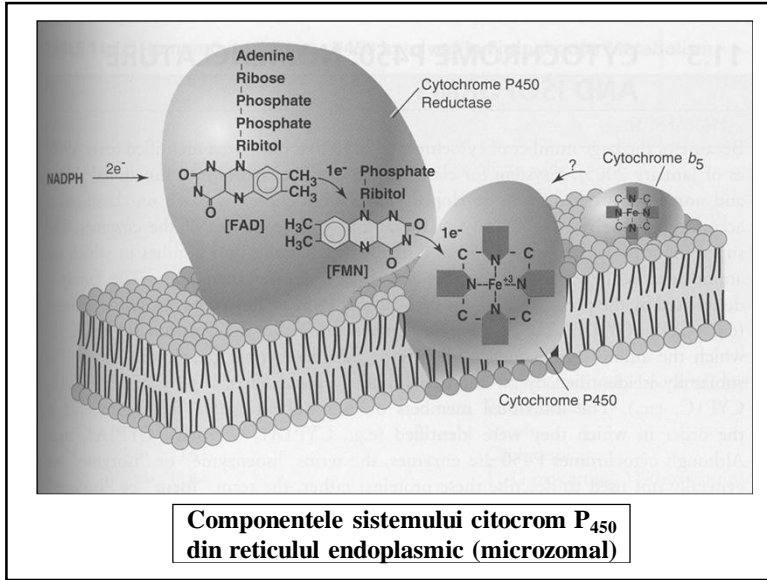


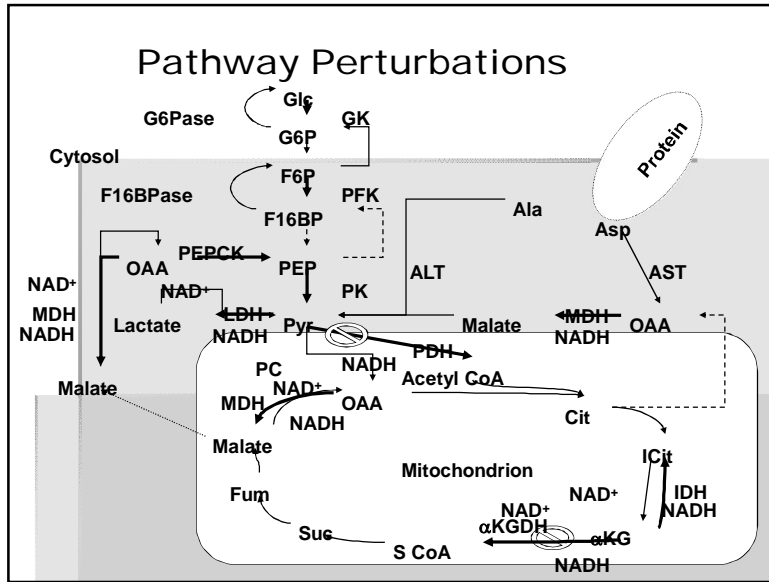
- Numeroase și complexe sunt reacțiile de oxido-reducere, cu participarea citocromului P₄₅₀ (prezent în reticulul endoplasmatic).
- Acest citocrom poate interacționa cu O₂ cu CO, formând cu ultimul un complex ce absoarbe lumina la 450 nm.

- Citocromul P450 catalizează reacțiile de hidroxilare a substratului (**RH** → **ROH**), iar celălalt se reduce la H₂O, adăunând echivalenți reduși ai NADH, NADPH sau proteine fiero-sulf.

Ciclul de reacții a citocromului P₄₅₀

- Participă la:
 - ❖ Hidroxilarea steroizilor;
 - ❖ Inactivarea substanțelor străine, mai ales puțin solubile în apă;
 - ❖ Hidroxilarea medicamentelor – hidroxilare ce amplifică solubilitatea lor, favorizând procesele de dezintoxicare și eliminare din organism.





Patologiile medicale

sunt caracterizate prin:

- acidoza lactică;
- deficit energetic marcat - retard mintal, insuficiență neuromotorie, hipotonie, encefalopatii severe;
- amplificarea cetogenezei.

- Sunt descrise diferite cazuri de deficiențe a proteinelor lanțului respirator. Administrarea de mediatori redox potriviți, acid ascorbic și alții pot ocoli deficiența factorilor și permite transportul de electroni spre oxigen. La acești indivizi necătând la scăderea producției de ATP cu 33% în mitocondrie se îmbunătățește fosforilarea și activitatea funcțională.

- Opțiunile de tratament sunt limitate; la două surori a fost descrisă o deficiență de NADH-CoQ reductază, ele manifestau intoleranța la exerciții fizice – oboseală rapidă; în perioada post-exerciții avea loc o restabilire ușoară a nivelului de fosfocreatină; la un alt pacient apariția unor slăbiciuni musculare progresive și acidoza lactică – deficitul era între CoQ și citocromul c.

- **Hipoxia** (insuficiență cardio-respiratorie, șoc);
- **Insuficiența vitaminelor B1, B2, PP, acidul lipoic, acidul pantoteic, deficitul de Fe;**
- **Acumularea de radicali liberi;**

Toate duc la deficit energetic important – **deficit de ATP.**

Deficitul ereditar al unui din complexele enzimice mitocondriale (mutații în DNA) au consecințe catastrofale pentru viața omului

- Encefalopatii, afecțiuni neurodegenerative;
- Patologia miocardului și mușchilor scheletici.

