

Минимальная и максимальная энергетическая эффективность цитратного цикла Ганса Кребса

Кузовников Алексей Евгеньевич, кандидат медицинских наук, ассистент
кафедры общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова
Медицинский институт федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»
Министерства науки и высшего образования РФ, г. Москва

Аннотация. Процесс полного биологического окисления субстратов энергетического метаболизма во всех эукариотах всегда осуществляется в матриксах их митохондрий, ограниченных внутренней митохондриальной мембраной, образующей глубокие кресты или внутренние складки, молекулярный состав которой резко отличается от молекулярного состава плазматической, наружной митохондриальной и других внутриклеточных мембран эукариотов. В силу особенностей своего молекулярного состава неповрежденная внутренняя митохондриальная мембрана практически и неспецифически непроницаема для всех катионов и анионов как межмембранного пространства, так и матрикса митохондрий, поэтому на её наружной и внутренней поверхностях сохраняется устойчивый трансмембранный потенциал, равный + 80 мВ на наружной поверхности внутренней митохондриальной мембраны и – 80 мВ на внутренней поверхности внутренней митохондриальной мембраны.

Ключевые слова: цитратный цикл или цикл трикарбоновых кислот или цикл олигокарбоновых кислот Ганса Адольфа Кребса, ацетил-КоА : сукцинат КоА-трансфераза, 3S-цитрил-КоА : сукцинат КоА-трансфераза, коэффициент полезного действия (КПД или κ) митохондрий клетки–эукариота.

Процесс полного биологического окисления субстратов энергетического метаболизма во всех эукариотах, то есть во всех собственно ядерных клетках одноклеточных и многоклеточных организмов, всегда осуществляется в матриксах их митохондрий, отграниченных от их межмембранного пространства внутренней митохондриальной мембраной, образующей глубокие дугообразные кресты или внутренние складки, позволяющие значительно увеличить эффективную площадь её наружной и внутренней поверхности.

В силу особенностей своего молекулярного состава неповрежденная внутренняя митохондриальная мембрана практически неспецифически непроницаема для всех катионов и анионов как межмембранного пространства, так и матрикса митохондрий, поэтому на её наружной и внутренней поверхностях сохраняется устойчивый трансмембранный потенциал, равный + 80 мВ на наружной поверхности внутренней митохондриальной мембраны и – 80 мВ на внутренней поверхности внутренней митохондриальной мембраны.

Строго избирательная проницаемость внутренней мембраны митохондрий создаёт в их матриксах особую биохимическую среду, отличную от биохимической среды в других внутриклеточных межмембранных пространствах клетки, в том числе и в межмембранном пространстве митохондрий. Поэтому изучение физико-химических процессов в митохондриальном матриксе имеет особое значение для понимания важнейших биохимических процессов энергетического метаболизма в эукариоте, то есть в собственно ядерной клетке в целом.

Ключевую роль во внутриклеточном катаболизме поглощаемых клеткой биорганических молекул играет так называемый цитратный цикл, впервые описанный в 1937 году немецким биохимиком Гансом Адольфом Кребсом, с 1933 года проживавшим и работавшим в Великобритании [2, с. 166–167]. В 1948 году биохимик Альберт Лестер Ленинджер

высказал предположение, затем подтверждённое в сериях экспериментов, что цитратный цикл биохимических реакций осуществляется в матриксе митохондрий [2, с. 178–179]. В основе этого предположения лежало представление о том, что внутриклеточные митохондрии являются потомками древнейших первобактерий, фагоцитированных несколько миллиардов лет назад древнейшими эукариотами, то есть ядерными клетками-организмами.

Наружная митохондриальная мембрана представляет собой мембрану первичной фагосомы до её слияния с первичной внутриклеточной лизосомой. Внутренняя митохондриальная мембрана, образующая многочисленные синусоидальные кресты или полулунные складки, представляет собой сильно извитую плазматическую мембрану древнейшего прокариота или бактерии с кольцевидной ДНК нуклеоида, содержащей 16569 пар нуклеотидов, кодирующих первичную структуру 2 рибосомных РНК, 22 транспортных РНК и 13 полипептидов–субъединиц четырёх энзимоккомплексов цепи переноса электронов, интегрально локализованных во внутренней мембране митохондрий.

Оставшиеся 66 полипептидов–субъединиц энзимоккомплексов цепи переноса электронов кодируются 66 структурными генами цитохромома, локализованного в хромосомах ядра данной собственно ядерной клетки. Поэтому кольцевидный геном митохондрий содержит только 15 % структурных генов, кодирующих первичную структуру белков, необходимых для её полноценного функционирования. Поэтому митохондрия представляет собой внутриклеточную бактерию без клеточной стенки и с малоили недостаточным кольцевидным геномом в 15 % от необходимого, дополняемым структурными генами в хромосомах ядерного генома самой клетки. Размножение митохондрий осуществляется простым бинарным делением, как у всех прокариотов.

Поступающим в цикл Ганса Адольфа Кребса универсальным субстратом энергетического метабо-

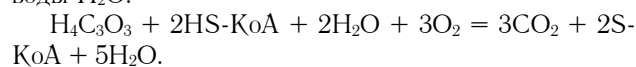
лизма является сложный эфир ацетата с коэнзимом ацилирования или, сокращённо, ацетил-КоА, образующийся как путём окислительного декарбокси-гидрирования пирувата, так и путём β -окисления природных жирных кислот с чётным числом атомов углерода в молекуле. Пируват является предконечным продуктом анаэробного гликолиза, аналогичного молочнокислому брожению у факультативно анаэробных прокариот, образующимся из 2-фосфоенолпирувата в предпоследней, девятой реакции анаэробного катаболизма глюкозы, катализируемой пируват-2-киназой, сопровождающейся субстратным рефосфорилированием аденозиндифосфата в аденозинтрифосфат. Пируватдекарбокси-гидрогеназный энзимоконкомплекс, локализованный в матриксе митохондрий с внутренней стороны их внутренней мембраны, катализирующий десятую, последнюю реакцию анаэробного гликолиза у эукариот, акцептирует с карбоксигидроксильной группы молекулы пирувата два электрона и один протон, освобождая в процессе декарбоксилирования пирувата молекулу углекислого газа CO_2 в водный раствор, и передавая затем электроны в цепь их переноса во внутренней мембране митохондрий, за счёт которой затем совершается окислительное мембранное рефосфорилирование от двух до трёх молекул аденозиндифосфата до аденозинтрифосфата.

Бета (β)-окисление жирных кислот осуществляется в матриксе митохондрий путём «нарезания» метаболически активированных коэнзимом ацилирования (КоА) молекул природных жирных кислот с чётным числом атомов углерода в молекулах на двухуглеродные ацетильные фрагменты, в форме ацетил-КоА направляемые, в зависимости от метаболической ситуации в данной клетке, либо в цитратный цикл, либо на синтез кетоновых тел ацетоацетата и 3 β -гидроксибутирата, осуществляемый в матриксе митохондрий, либо на обратный β -окислению процесс синтеза жирных кислот, осуществляемый в эукариотоплазме [1, с. 775–776]. Направление молекул ацетил-КоА, получаемых в процессе β -окисления природных чётных жирных кислот в матриксе митохондрий, в цитратный цикл Ганса Адольфа Кребса осуществляется только в условиях относительного избытка в матриксе митохондрий молекул оксалоацетата, который у гетеротрофных эукариот может образоваться только из пирувата путём его карбодоксилирования, то есть присоединения CO_2 , либо из 2S-малата путём его дегидрирования в цитратном цикле Ганса Адольфа Кребса.

У гетеротрофных эукариот отсутствует энзим 2S-малатсинтаза, синтезирующий 2S-малат из глиоксилата и ацетил-КоА, поэтому у них, в том числе и у человека, жирные кислоты не могут использоваться для синтеза глюкозы и других моносахаридов через образование 2S-малата из ацетил-КоА. Возможен только обратный процесс образования из глюкозы ацетил-КоА через пируват. Поэтому у гетеротрофных эукариот «жиры сгорают только в пламени углеводов», то есть источником оксалоацетата у них может быть только пируват, а не ацетил-КоА из чётноуглеродных жирных кислот. При дефиците глюкозы и других моносахаридов включение

синтезированных из жирных кислот молекул ацетил-КоА в цитратный цикл становится практически невозможным из-за дефицита оксалоацетата. В этих условиях образованные из жирных кислот молекулы ацетил-КоА используются преимущественно для синтеза кетоновых тел ацетоацетата и 3 β -гидроксибутирата, как это бывает в гепатоцитах в условиях нарастающего дефицита секреции инсулина островками Лангерганса поджелудочной железы при развитии первичного абсолютного инсулинопенического инсулинодефицитного синдрома сахарного мочеизнурения или диабета.

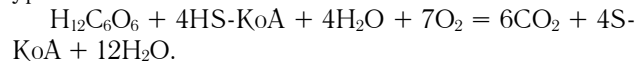
Таким образом, в основе полного биологического окисления всех субстратов энергетического метаболизма лежат девять последовательных биохимических реакций цитратного цикла Ганса Адольфа Кребса, превращающих каждый поступающий в цикл ацетильный остаток, то есть ацетальдегид или этаналь $\text{H}_4\text{C}_2\text{O}$, образующийся из декарбоксилируемого пирувата $\text{H}_4\text{C}_3\text{O}_3$, метаболически активируемый сложно-эфирной связью с молекулой коэнзима ацилирования HS-КоА, затем альдольно конденсирующийся с молекулой оксалоацетата $\text{H}_4\text{C}_4\text{O}_5$, превращаясь в молекулу 3S-цитрил-КоА, в 3 молекулы CO_2 и в 10 атомов водорода H, распадающихся на 10 протонов H^+ и на 10 электронов, транспортируемых по цепи их переноса во внутренней мембране митохондрий на конечный приёмник или акцептор атомов водорода – молекулярный кислород O_2 , с образованием из него 5 молекул метаболической воды H_2O :



Дыхательный коэффициент (ДК) полного биологического окисления одной молекулы пирувата $\text{H}_4\text{C}_3\text{O}_3$ равен:

$$\text{ДК} = 3\text{CO}_2 / 3\text{O}_2 = 1,0.$$

Соответственно, полное биологическое окисление целой молекулы глюкозы $\text{H}_{12}\text{C}_6\text{O}_6$ в эукариотоплазме и, затем, в матриксе митохондрий с переносом через внутреннюю мембрану митохондрий 2 молекул пирувата $\text{H}_4\text{C}_3\text{O}_3$, с участием 4 восстановленных молекул коэнзима ацилирования HS-КоА и 4 молекул воды H_2O совершается по химическому уравнению:



Дыхательный коэффициент (ДК) полного биологического окисления одной молекулы глюкозы $\text{H}_{12}\text{C}_6\text{O}_6$ равен:

$$\text{ДК} = 6\text{CO}_2 / 7\text{O}_2 = 0,857142,$$

то есть несколько ниже 1,0, примерно равняясь дыхательному коэффициенту (ДК) полного биологического окисления более восстановленных молекул насыщенных и умеренно ненасыщенных жирных кислот, что обусловлено дополнительным включением в процесс полного биологического окисления одной молекулы глюкозы $\text{H}_{12}\text{C}_6\text{O}_6$ ещё 12 атомов водорода H от 4 восстановленных молекул коэнзима ацилирования HS-КоА и 4 молекул воды H_2O [1, с. 778].

Процесс полного биологического окисления одной молекулы глюкозы $\text{H}_{12}\text{C}_6\text{O}_6$ включает 20 последовательных биохимических реакций, начиная с первой,

катализируемой инсулинозависимой гексо-6-киназой или инсулинонезависимой глюко-6-киназой, запирающей глюкозу, превращаемую энзимами в глюкозо-6-фосфат, внутри данной клетки, и заканчивая двадцатой, катализируемой 2S-малатдегидрогеназой, биохимической реакцией, превращающей 2S-малат в оксалоацетат, готовый к следующей альдольной конденсации с новой молекулой ацетил-КоА, образованной либо в результате десятой биохимической реакции окислительного декарбоксилирования пирувата $H_4C_3O_3$ либо в результате последовательного β -окисления природных насыщенных жирных кислот с их нарезкой на двухуглеродные ацетильные фрагменты H_3C_2O , которые, в зависимости от конкретной внутриклеточной ситуации, чаще поступают в цитратный цикл Ганса Адольфа Кребса при дефиците внутренней секреции инсулина островками Лангерганса поджелудочной железы, когда поглощение глюкозы инсулинозависимыми клетками значительно уменьшается, и в цитратный цикл начинает поступать ацетил-КоА из внутриклеточных жирных кислот.

При этом в гепатоцитах печени дефицитом инсулина и избытком глюкогона стимулируется интенсивное использование ацетил-КоА из жирных кислот для синтеза кетоновых тел ацетоацетата и 3R-гидроксипутирата, которые самими гепатоцитами не потребляются, и секреторируются в кровь вместе с молекулами глюкозы для снабжения субстратами энергетического метаболизма, то есть кетоновыми телами, инсулинозависимых и молекулами глюкозы инсулинонезависимых тканей организма. Если концентрация инсулина в циркулирующей крови достаточна для интенсивного поглощения глюкозы инсулинозависимыми клетками и тканями организма, тогда поглощаемая ими глюкоза используется как для синтеза полимера гликогена, так и для синтеза внутриклеточных жирных кислот и липидов из избытков ацетил-КоА, образующегося в результате окислительного декарбоксилирования пирувата, а не в результате β -окисления жирных кислот. Гепатоциты печени, как главные инсулинозависимые клетки организма, в этих условиях активно поглощают глюкозу и другие питательные вещества из смешанной, оттекающей от непарных органов брюшной полости, в том числе и от тонкого кишечника и поджелудочной железы, венозно-артериальной крови синусоидных капилляров печёночных долек, синтезируя запасной гликоген для его последующего расхода в постабсорбтивном или «послепослепослепительном» периоде возможного длительного голодания.

До настоящего времени энергетическая эффективность полного биологического окисления глюкозы рассчитывалась, исходя из следующих пунктов.

1. Окислительное мембранное рефосфорилирование дифосфатов нуклеотидов.

1.1. (5 реакция) Глицераль-3-фосфат-1-дегидрокиназа ($2/2=4$ атома Н и 4-6 молекул АТФ).

1.2. (10 реакция) Пируватдекарбоксидегидрогеназный энзимоконкомплекс ($2/2=4$ атома Н и 4-6 молекул АТФ).

1.3. (16 реакция) 2-оксоглутаратдекарбоксидегидрогеназный энзимоконкомплекс ($2/2=4$ атома Н и 4-6 молекул АТФ).

1.4. (14 реакция) 2R,3S-изоцитратдегидрогеназа (4 атома Н и 4-6 молекул АТФ).

1.5. (18 реакция) Сукцинатдегидрогеназа (4 атома Н и 4 молекулы АТФ).

1.6. (20 реакция) 2S-малатдегидрогеназа (4 атома Н и 4-6 молекул АТФ).

Всего от одной молекулы глюкозы, в результате её полного биологического окисления шестью ферментами (энзимами), и их комплексами, забирается дегидрогеназами 12 атомов Н, а также ещё 12 атомов Н забирается дегидрогеназами от 4 молекул H_2O и от 4 молекул восстановленного коэнзима ацилирования HS-КоА. Поэтому всего в результате полного биологического окисления одной молекулы глюкозы образуется 12 молекул метаболической воды H_2O .

Молекулы АТФ-синтазы во внутренней мембране митохондрий в результате суммарного переноса 24 электронов по четырём последовательным комплексам I, II, III и IV во внутренней мембране митохондрий рефосфорилируют минимум 24 (коэффициент $P/O=2,0$) и максимум 34 (коэффициент $P/O=3,0$), а в среднем 29 молекул (коэффициент $P/O=2,5$) аденозинодифосфата (АДФ) в аденозинотрифосфат (АТФ).

2. Расход АТФ для метаболической активации глюкозы.

2.1. (1 реакция) Инсулинозависимая гексо-6-киназа во всех клетках организма и инсулинонезависимая глюко-6-киназа в гепатоцитах (затрата 1 молекулы АТФ).

2.2. (3 реакция) 6-фосфофрукто-1-киназа (затрата 1 молекулы АТФ).

3. Субстратное рефосфорилирование дифосфатов нуклеотидов.

3.1. (6 реакция) 3-фосфоглицерат-1-киназа (рефосфорилирование 2 молекул АДФ).

3.2. (9 реакция) пируват-2-киназа (рефосфорилирование 2 молекул АДФ).

3.3. (17 реакция) сукцинат-1-тиокиназа (рефосфорилирование 2 молекул ГДФ).

Среди биохимических реакций пути полного биологического окисления глюкозы 12 биохимическая реакция до настоящего времени оставалась неизвестной. Она катализируется внутримитохондриальным энзимом 3S-цитрил-КоА:сукцинат КоА трансферазой, по групповой субстратной специфичности близким к уже описанному и классифицированному энзиму бактерий и гидроносом эукариотов ЕС 2.8.3.18 ацетил-КоА : сукцинат КоА трансферазе.

3S-цитрил-КоА:сукцинат КоА трансфераза катализирует реакцию обмена открытым Фрицем Альбертом Липманом в 1948 году коэнзимом ацилирования КоА [2, с. 190] между молекулами 3S-цитрил-КоА и сукцината, образующегося в 17 реакции субстратного рефосфорилирования дифосфата гуанозина (ГДФ), катализируемой внутримитохондриальным энзимом сукцинат-1-тиокиназой. В результате совершения 12 биохимической трансферазной реакции образуются молекулы сукцинил-КоА и цитрата (лимонной кислоты), вступающие затем снова в 17 и в 13 биохимические реакции, катализируемые сукцинат-1-тиокиназой и цис-аконитатгидратазой, соответственно. Таким образом, в пункт 3 реакций суб-

стратного рефосфорилирования дифосфатов нуклеотидов (в данном случае гуанозина) можно добавить подпункт 3.4:

3.4. (17 реакция) сукцинат-1-тиокиназа (рефосфорилирование 2 молекул ГДФ).

В итоге, суммарно для метаболической активации глюкозы используются в 1 и 3 реакциях 2 молекулы АТФ, а затем, в результате субстратного рефосфорилирования в 6, 9, 17 и, опять же, в 17 биохимических реакциях образуется не 6 (шесть), а 8 (восемь) молекул АТФ. Итоговый баланс субстратного рефосфорилирования АДФ и начальных затрат 2 молекул АТФ, таким образом, составляет не 4 (четыре), а 6 (шесть) молекул АТФ.

Тепловой эффект полного биологического окисления глюкозы составляет $\text{H}_{12}\text{C}_6\text{O}_6 + 6\text{O}_2 = 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + 2886 \text{ кДж/моль}$. Макроэргохимическая связь $-\text{O} \square \square \text{P}-$ в молекуле АТФ имеет потенциальную энергию в 50 кДж/моль.

Суммируя полученные цифры с цифрами окислительного мембранного рефосфорилирования дифосфатов нуклеотидов, получаем, что:

Литература:

1. **Krebs** H.A. The citric acid cycle and the Szent-Gyurgyi cycle in pigeon breast muscle // *Biochemical Journal*.— 1940. — Vol. 34. — № 5. — P. 775–779.
2. **Krebs** H.A. The tricarboxylic acid // *Harvey Lect.* 1948–1949. — Ser.44: 165–199.

1. Минимальная энергетическая эффективность цитратного цикла Кребса с минимальным коэффициентом $\text{P/O} = 2,0$ составляет $6 + 24 = 30$ молекул АТФ, давая его минимальный коэффициент полезного действия (КПД), равный:

$$\kappa = 30 \text{ Ч } 50 \text{ кДж} / 2886 \text{ кДж} = 1500 / 2886 = 0,519750 \text{ или } 51,975051 \%$$

2. Средняя энергетическая эффективность цитратного цикла Кребса со средним коэффициентом $\text{P/O} = 2,5$ составляет $6 + 29 = 35$ молекул АТФ, давая его средний коэффициент полезного действия (КПД), равный

$$\kappa = 35 \text{ Ч } 50 \text{ кДж} / 2886 \text{ кДж} = 1750 / 2886 = 0,606375 \text{ или } 60,637560 \%$$

3. Максимальная энергетическая эффективность цитратного цикла Кребса с максимальным коэффициентом $\text{P/O} = 3,0$ составляет $6 + 34 = 40$ молекул АТФ, давая его максимальный коэффициент полезного действия (КПД), равный

$$\kappa = 40 \text{ Ч } 50 \text{ кДж} / 2886 \text{ кДж} = 2000 / 2886 = 0,693000 \text{ или } 69,300069 \%$$