

# ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

Κ. Σέκερης

## A ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στόχος του κεφαλαίου αυτού είναι να προσφέρει στον Κλινικό Ιατρό μια συνοπτική εικόνα της βιοχημικής σκοπιάς των κυρίων μεταβολικών δρόμων, καταβολικών και αναβολικών, καθώς και των γενικών αρχών της ρύθμισης του μεταβολισμού. Η παρουσίαση γίνεται κατά τρόπο που θα διευκολύνει τον Ιατρό να φέρει πάλι στη μνήμη του θαυμάσιες βιοχημικές γνώσεις, οι οποίες θα του είναι χρήσιμες για τη, σε βάθος, μελέτη κυρίως των κεφαλαίων εκείνων της “Παθολογίας”, που πραγματεύονται σχετικά θέματα (όπως “Νοσήματα Μεταβολισμού και Νοσήματα Ενδοκρινικού Συστήματος”). Στα εν λόγω κεφάλαια αναφέρονται, με περισσότερες λεπτομέρειες, ειδικοί μεταβολικοί δρόμοι και ορμονικές ρυθμίσεις. Η κατανόηση ορισμένων εδαφίων απαιτεί γνώσεις Μοριακής Βιολογίας, για τις οποίες γίνεται παραπομπή στο κεφάλαιο “Μοριακή Βιολογία και η Συμβολή της στην Εσωτερική Παθολογία”.

Κύριος τελικός σκοπός του πολυσύνθετου βιοχημικού εργαστηρίου που παριστάνει ο ανθρώπινος οργανισμός είναι η πραγματοποίηση των απαραίτητων για τον κύκλο

της ζωής του διεργασιών, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των κυττάρων, εμβρυογένεση, μετεμβρυϊκή ανάπτυξη, ενηλικίωση και γήρανση. Κινητήριος δύναμη των διεργασιών αυτών είναι η προσλαμβανόμενη τροφή, η οποία με την επακόλουθη διάσπασή της προσφέρει τόσο την απαιτούμενη ενέργεια, όσο και τις πρώτες ύλες για τις συνθετικές διεργασίες.

Κάθε κύτταρο είναι εργαστήριο παραγωγής ενέργειας χρησιμοποιώντας, ανάλογα με το είδος του, διαφορετικές πρώτες ύλες και είναι σε θέση να συνθέσει βιολογικά μακρομόρια, κοινά για όλα τα είδη κυττάρων, αλλά και τέτοια που χαρακτηρίζουν τις συγκεκριμένες λειτουργίες του.

Σημαντικό στοιχείο και κύριο χαρακτηριστικό του ζωτανού κυττάρου είναι η συνεχής σύνθεση και αποικοδόμηση των επί μέρους συστατικών του, αυτό που ο διάσημος βιοχημικός Franz Knoop εξέφρασε με τη φράση “η ζωή χαρακτηρίζεται από συνεχή χημική κίνηση”. Όπως αποδείχθηκε με την εισαγωγή των ισοτόπων στη βιοχημεία, όλα τα κυτταρικά στοιχεία ανακυκλώνονται, με διαφορετική ταχύτητα, από λίγα λεπτά μέχρι πολλές ημέρες.

Παραγωγή ενέργειας και βιοσύνθεση σε κάθε κύτταρο υπόκεινται σε αυστηρή πολυπαραγοντική ρύθμιση.

Ομοίως, οι λειτουργίες των διαφόρων ιστών και οργάνων βρίσκονται σε συντονισμό και αλληλεπίδραση μέσω πληθώρας ρυθμιστικών μηχανισμών.

Διαταραχές, είτε στους βασικούς βιοχημικούς μηχανισμούς, είτε στους ρυθμιστικούς παράγοντες τους εκδηλώνονται ως νόσοι.

## Τοποχημεία του ευκαρυωτικού κυττάρου

Το 1940, ο γνωστός βιοχημικός David Green έγραψε: “το κύτταρο είναι ένας σάκος γεμάτος ένζυμα”. Σήμερα, χάρις στην πρόοδο της μεθοδολογίας της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, της υπερψυγοκέντρησης και της υποκυτταρικής κλασμάτωσης, γνωρίζουμε ότι ο σάκος αυτός έχει μια περίπλοκη λεπτή δομή, που εξασφαλίζει, αφ’ ενός επιφάνειες και μεσοφάσεις στις οποίες τελούνται με καθορισμένη διαδοχή οι βιοχημικές αντιδράσεις, αφ’ ετέρου συγκεκριμένους χώρους για συγκεκριμένες βιοχημικές αντιδράσεις. Σημαντικός σκοπός αυτής της διαμερισματοποίησης είναι οι βιοσυνθετικές αντιδράσεις και οι αντιδράσεις αποικοδόμησης των διαφόρων μεταβολιτών να προχωρούν κατά τρόπο συντονισμένο και όχι αλληλοεξουδετερούμενο, υποκείμενες σε πολλαπλές ρυθμίσεις, μια από τις οποίες είναι η μεταφορά και πρόσβαση των μεταβολιτών στα διάφορα διαμερίσματα. Λόγω της σημασίας της διαμερισματοποίησης μεταβολικών δομών, αναφέρονται συνοπτικά τα κυριότερα κυτταρικά διαμερίσματα και οι βιοχημικές αντιδράσεις που τελούνται σε αυτά.

- **Πυρίνας**
  - Βιοσύνθεση DNA – αντιγραφή
  - Επιδιόρθωση DNA
  - Βιοσύνθεση RNA – μεταγραφή ριβοσωμικού [rRNA], μεταφορικού [tRNA], αγγελιοφόρου [mRNA] Ωρίμανση RNA – διαδικασία ματίσματος [splicing].
- **Μιτοχόνδρια**
  - Κύκλος κιτρικού οξέος (κύκλος Krebs) Αναπνευστική αλυσίδα (οξειδωτική φωσφορυλίωση – παραγωγή ATP) β-οξειδωση λιπαρών οξέων Κετονογένεση (κύκλος Lypen) Κύκλος ουρίας (και στο κυτοσόλιο) Σύνθεση αίμης (και στο κυτοσόλιο) Ρύθμιση επιπέδων ασβεστίου κυττάρου Τα μιτοχόνδρια έχουν δικό τους DNA και ίδιο σύστημα μεταγραφής και μετάφρασης του μιτοχονδριακού mRNA.
- **Λυσοσώματα**
  - Πρωτεολυτικά ένζυμα (καθεψίνες, καρβοξυπεπτιδάσες) Εστεράσες (φωσφολιπάσες, τριακυλογλυκερινική λιπάση, όξινης φωσφατάση) Γλυκοζιπάσες (λυσοζύμη, α- και β-γλυκοζιπάση, νευραμινιδάση)
- **Ενδοπλασματικό δίκτυο**
  - *Αδρό:* Βιοσύνθεση πρωτεϊνών, *Λεπό:* Σύνθεση λιπιδίων
  - Μεταβολισμός φαρμάκων
- **Κυτοσόλιο (διαλυτό κυταρόπλασμα)**
  - Γλυκόλυση

- Δρόμος φωσφορικών πεντοζών Νεογλυκογένεση (και ενδοπλασματικό δίκτυο) Σύνθεση λιπαρών οξέων (πολυενζυμικό σύστημα) Σύνθεση αίμης (και μιτοχόνδρια) Κύκλος ουρίας (και μιτοχόνδρια) Βιοσύνθεση χοληστερόλης (και ενδοπλασματικό δίκτυο)

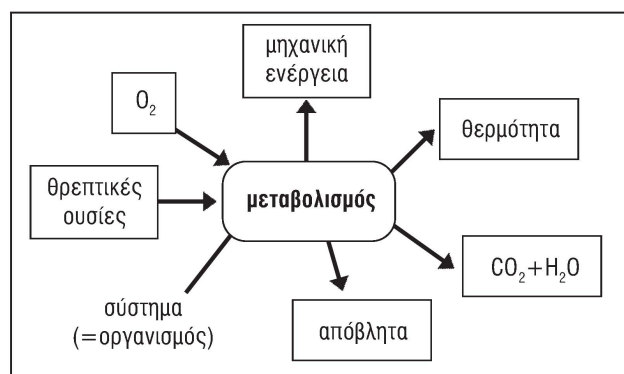
- **Κυταροπλασματική μεμβράνη**
  - Μεταφορά ουσιών
  - Υποδοχείς ορμονών, αυξητικών παραγόντων
  - Πινοκυττάρωση
  - Εξωκυττάρωση
- **Σύστημα Golgi**
  - Μετατροπή και “πακετάρισμα” πρωτεϊνών για έκκριση ή για μεταφορά σε άλλα οργανίδια
- **Υπεροξειδισώματα**
  - Οξειδωτικά ένζυμα - Παραγωγή και αποδομή  $H_2O_2$
- Πρωτεόσωμα
  - Αποικοδόμηση πρωτεϊνών

## B ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

Όλες οι βιοσυνθετικές αντιδράσεις (αναβολικές) του κυττάρου απαιτούν ενέργεια. Ο συνεχής μεταβολισμός είναι δυνατός, όταν ο οργανισμός προσλαμβάνει τροφές, που με τη διάσπασή τους (καταβολισμός) αποδίδουν την αναγκαία ενέργεια.

Σύνθεση και διάσπαση διατηρούν το κύτταρο σε κατάσταση “δυναμικής ισορροπίας”, δηλ. σε κατάσταση συνεχών χημικών αντιδράσεων, χωρίς μεταβολή του όλου συστήματος, όπου η κυτταρική δομή παραμένει αναλλοίωτη (Εικ. 1.1).

Οι αντιδράσεις που παράγουν ενέργεια είναι οι οξειδωτικές, όπου με τη βοήθεια διαδοχικών, ενζυμικά καταλυόμενων, βημάτων συνθέεται **ATP**. Η διάσπαση του ATP προς



**ΕΙΚΟΝΑ 1-1** Σχηματική παράσταση της “δυναμικής ισορροπίας”. Το σύστημα (ο οργανισμός) είναι “ανοικτό” παραλαμβάνει συνεχώς τροφή και οξυγόνο από το περιβάλλον, οι θρεπτικές ουσίες εισέρχονται συνεχώς στο μεταβολισμό, αποδίδεται δε  $CO_2$ , προϊόντα απέκκρισης και έργο (μηχανική ενέργεια, θερμότητα κ.λπ.). Η κατάσταση του συνόλου συστήματος παραμένει σταθερή λόγω γης συνεχούς προσφοράς ενέργειας. (Πηγή: Βιοχημεία, P. Karlson).

**ADP** και φωσφορικό οξύ απελευθερώνει ενέργεια (εξώθερμος αντίδραση), που χρειάζεται για να προχωρήσουν αντιδράσεις που καταναλώνουν ενέργεια (ενδόθερμες αντιδράσεις). Η ελεύθερη ενέργεια μιας βιοχημικής αντίδρασης χαρακτηρίζεται ως **ΔG** (διαφορά τελικής κατάστασης από την αρχική) και εκφράζεται σε διεθνείς μονάδες Joule (1 Joule = 4,18 Kcal). “Όταν η ΔG έχει αρνητική τιμή, η αντίδραση προχωρεί αυθόρμητα, σε μηδενική τιμή έχει επέλθει ισορροπία. Η υδρόλυση του ATP, ως ισχυρά εξώθερμη, χαρακτηρίζεται από υψηλή αρνητική τιμή του ΔG ( $\Delta G^\circ = 30 \text{ KJ} = 7,2 \text{ Kcal}$ ), οπότε η ελεύθερη ενέργεια της υδρόλυσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προχωρήσει μια ενδόθερμη αντίδραση (αλληλοσύνδεση ενεργητική).

## Κύριες πηγές ενέργειας -Καταβολικές αντιδράσεις του κυττάρου

Το μεγαλύτερο ποσοστό ενέργειας (ATP) του οργανισμού προέρχεται από τη διάσπαση της γλυκόζης και των λιπαρών οξέων κυρίως, αλλά και των αμινοξέων, μέσω πληθώρας ενδιάμεσων αντιδράσεων, πολλαπλώς ρυθμιζομένων, που καταλήγουν στο σχηματισμό  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  και  $\text{NH}_3$  (Εικ. 1.2).

Οι καταβολικές αντιδράσεις και για τις τρεις αυτές κατηγορίες ουσιών συγκλίνουν στον κεντρικό κύκλο (κύκλο του Krebs) (Εικ. 1.3, 1.4), η δε τελική οξείδωση επιτελείται στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων, όπου παράγεται το μεγαλύτερο ποσό του ATP (Εικ. 1.5).

Στον κύκλο του Krebs, το ενεργοποιημένο οξικό οξύ (ακετυλο CoA) υφίσταται παραπέρα αποικοδόμηση μέσω μιας σειράς αντιδράσεων, κατά τις οποίες αποσπάται  $\text{CO}_2$  ή  $\text{H}$ , που δεσμεύεται σε συνένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας. Συγχρόνως, ο κύκλος του Krebs αποτελεί μια μεγάλη δεξαμενή ενδιάμεσων προϊόντων, που χρησιμεύουν για βιοσυνθετικές ανάγκες του κυττάρου (Εικ. 1.4). Έτσι, από τον κύκλο αυτό μπορεί να συντεθούν εκ νέου γλυκόζη, καθώς και αμινοξέα από τρανσαμίνωση οξυοξέων, ενώ μέσω του κεντρικού οξέος, ως μεταφορικού μεταβολίτη και του απ’ αυτό παραγομένου ακετυλο-CoA, συνθέτονται λιπαρά οξέα.

Στην αναπνευστική αλυσίδα, το δεσμευμένο σε συνένζυμα υδρογόνο συνδέεται με το οξυγόνο για να παραχθεί  $\text{H}_2\text{O}$ , σε μια έντονα εξώθερμη αντίδραση που συνδυάζεται με την ισχυρά ενδόθερμη αντίδραση σύνθεσης ATP από ADP και φωσφορικό οξύ. Στην πολύπλοκη αυτή αντίδραση συμμετέχουν ενζυμικά συμπλέγματα και βοηθητικά υποστρώματα (Εικ. 1.5). Δημιουργείται μια ηλεκτροχημική βαθμίδωση πρωτονίων, που αξιοποιείται μέσω του συστήματος της ATP σύνθεσης στο σχηματισμό του ATP.

Ο κύριος καταβολικός δρόμος της γλυκόζης είναι η γλυκόλυση (Εικ. 1.6), η οποία προχωρεί μέσω πυροσταφυλικού οξέος και οξειδωτικής αποκαρβοξυλίωσής του (σε συνθήκες επαρκούς οξυγόνωσης) στο σχηματισμό ακετυλο CoA, εν συνεχεία στην είσοδο του μεταβολίτη αυτού στον κύκλο του Krebs και στην τελική οξείδωση. Η πλήρης

διάσπαση της γλυκόζης σε  $\text{CO}_2$  και  $\text{H}_2\text{O}$  δίνει 36 mol ATP.

Ο κύριος καταβολικός δρόμος των λιπαρών οξέων, που παράγονται από την υδρόλυση των ουδετέρων λιπών, είναι η β-οξείδωση (Εικ. 1.7), διεργασία που οδηγεί επίσης στο σχηματισμό ακετυλο CoA, που εισέρχεται στον κεντρικό κύκλο και την τελική οξείδωση. Από την πλήρη οξείδωση ενός λιπαρού οξέος με 16 άτομα άνθρακα, παράγονται 129 mol ATP.

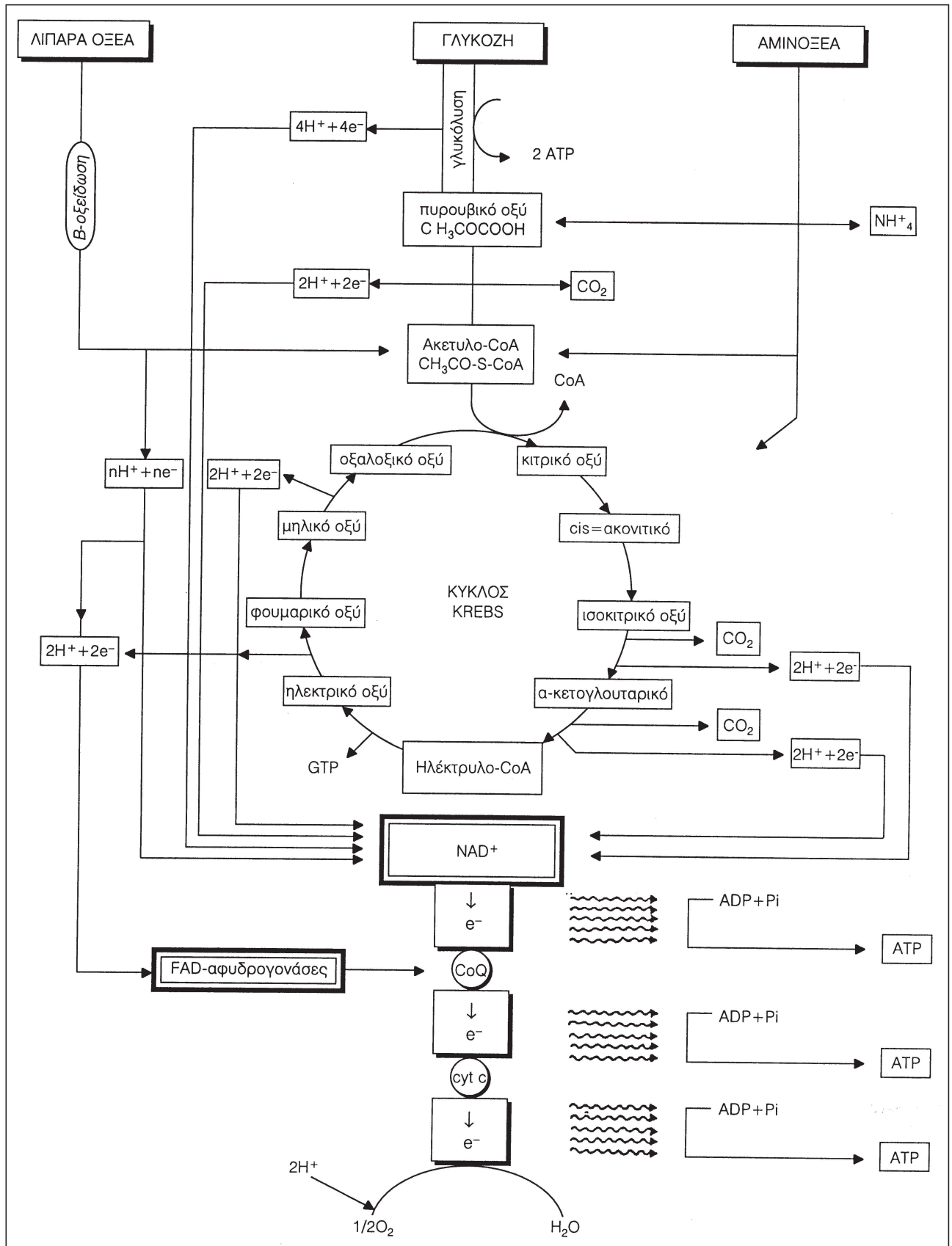
Ο καταβολικός δρόμος των αμινοξέων αρχίζει από τέσσερις διαφορετικές γενικές αντιδράσεις. Είναι δυνατό να μετατραπεί η πλάγια αλυσίδα του αμινοξέος με διατήρηση της α-αμινοκαρβοξυλικής ομάδας, να αποκαρβοξυλιωθεί προς την αντίστοιχη αμίνη ή να μετατραπεί σε οξυοξύ (είτε με τρανσαμίνωση, είτε με οξειδωτική απαμίνωση). Οι τελευταίες δύο αντιδράσεις έχουν ιδιαίτερη σημασία για την αποικοδόμηση των αμινοξέων. Η περαιτέρω αποικοδόμηση των οξυοξέων ή άλλων μεταβολιτών των αμινοξέων οδηγεί σε διάφορα προϊόντα, που μπορούν να εισέλθουν στον κύκλο του Krebs σε διαφορετικά σημεία του (Εικ. 1.4), υφιστάμενα εν συνεχεία πλήρη οξείδωση στην αναπνευστική αλυσίδα. Αναφέρεται ενδεικτικά ότι η ισολευκίνη, η λευκίνη, η λυσίνη και η τρυπτοφάνη μεταβολίζονται σε ακετυλο CoA, ενώ η μεθειονίνη, η βαλίνη και η λευκίνη σε ηλεκτρικό CoA. Κατά την αποικοδόμηση των αμινοξέων, η παραγόμενη τοξική αμμωνία μετατρέπεται στον κύκλο της ουρίας στη μη τοξική ουρία. Οι αντιδράσεις του κύκλου της ουρίας επιτελούνται εν μέρει στα μιτοχόνδρια, εν μέρει στο κυτοσόλιο.

## Πρωτεόσωμα

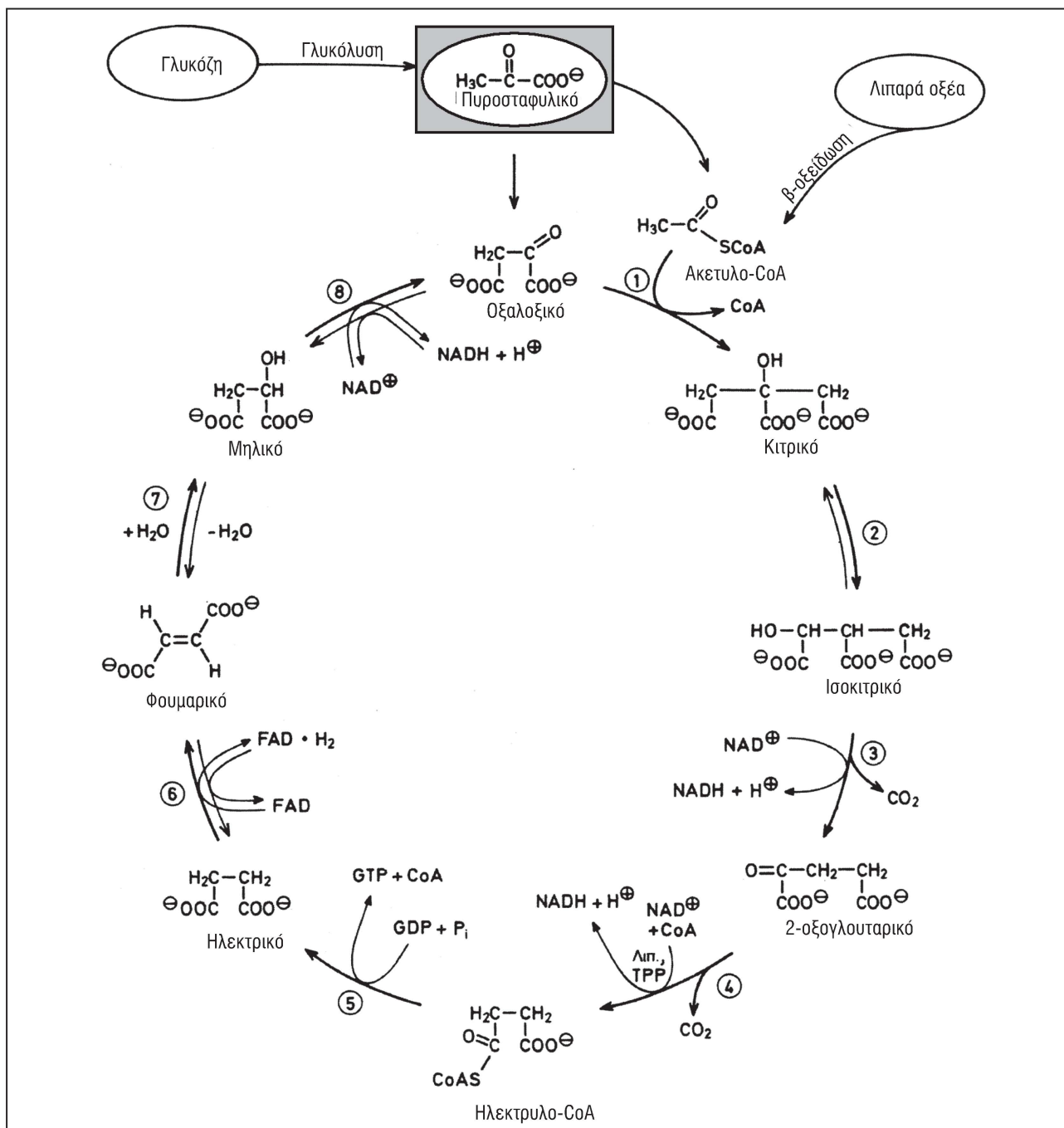
Η ενδοκυτταρική αποικοδόμηση των πρωτεϊνών, είτε φυσιολογικών, στα πλαίσια της μεταβολικής ρυθμίσεως ή μετουσιωμένων και αλλοιωμένων (π.χ. οξειδωμένων), επιτελείται στο πρωτεόσωμα. Πρόκειται για μόρφωμα μεγέθους 700 kDa, αποτελούμενο από 28 υπομονάδες, διαταγμένων σε τέσσερις επταμερείς δακτύλιους, υπό μορφή βαρελιού. Το πρωτεόσωμα διαθέτει πολλαπλές ενεργότητες ενδοπεπτιδάσεων και παρουσιάζει πυρηνική και κυταροπλασματική εντόπιση. Παρουσιάζεται και σε μεγαλύτερη μορφή, συνδεδεμένο με ρυθμιστικά μόρια, υπεύθυνο για την ATP-εξαρτώμενη αποικοδόμηση πρωτεϊνών συνδεδεμένων με ουβικιμόνη.

## Γ ΒΙΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

Η βιοσύνθεση των διαφόρων κατηγοριών μορίων αρχίζει, είτε με δομικούς λίθους που εισάγονται με τις τροφές, είτε με μεταβολικά προϊόντα της διάσπασης κυτταρικών στοιχείων. Η βιοσύνθεση αυτή σκοπό έχει, είτε την αντικατάσταση κυτταρικών δομικών στοιχείων στο πλαίσιο της ανακύκλωσής τους, είτε τη σύνθεση συγκεκριμένων λειτουργικών πρωτεϊνών (όπως της αιμοσφαιρίνης, προκειμένου για δικτυοερυθροκύτταρα) ή τη σύνθεση ουσιών που παίζουν ρόλο αποθηκών ενέργειας (ουδέτερο λίπος, γλυκογόνο).



**ΕΙΚΟΝΑ 1-2** Κύριες θέσεις παραγωγής ATP κατά τον καταβολισμό. (Πηγή: Εισαγωγή στη Βιοχημεία, Γ. Διαμαντίδης).



**ΕΙΚΟΝΑ 1-3** Κιτρικός κύκλος. Τα διάφορα βήματα είναι αριθμημένα. Στο βήμα 1 συζεύγνυται το ακετυλο-CoA και το οξαλικό σε κιτρικό, χάρη στο ένζυμο κιτρική συνθετάση. Στο βήμα 2 το κιτρικό ισομερίζεται σε ισοκιτρικό με την υδρατάση του ακονιτικού (το *cis*-ακονιτικό είναι παραπροϊόν, που βρίσκεται σε ισορροπία με το κιτρικό και το ισοκιτρικό). Το βήμα 3 είναι μια αφυδρογόνωση: η ισοκιτρική αφυδρογόνωση οξειδώνει τη δευτεροταγή αλκοολική ομάδα σε καρβονύλιο και μεταφέρει το υδρογόνο στο συνένζυμο NAD<sup>+</sup>, συγχρόνως γίνεται αποκαρβοξυλίωση. Τα προϊόντα της αντίδρασης είναι CO<sub>2</sub>, NADH και ηλεκτρυλο-CoA, που στο βήμα 5 μεταβάλλεται σε ηλεκτρικό (με σχηματισμό GTP και ανόργανο φωσφορικό (P<sub>i</sub>) σε βάρος της ενέργειας του θειοεστερικού δεσμού). Με τη φλαβοπρωτεΐνη ηλεκτρική αφυδρογόνωση ανάγεται στο βήμα 6 το ηλεκτρικό, που στο βήμα 7 ενυδατώνεται με τη μηλική υδρατάση σε μηλικό. Το μηλικό αφυδρογονώνεται σε οξαλικό με τη μηλική αφυδρογόνωση (NAD<sup>+</sup>). Το οξαλικό μπορεί να ξαναμπεί στον κύκλο. Πλάγιοι δρόμοι οδηγούν σε γλουταμινικό (με τρανσαμίνωση του 2-οξογλουταρικού) και με καρβοξυλίωση του ηλεκτρικού σε οξαλικό οξύ μπορεί να τροφοδοτηθεί πάλι ο κύκλος. Όπως δείχνεται στο πάνω μέρος, το ακετυλοCoA μπορεί να προέρχεται από πολλές πηγές: από τη γλυκόλυση μέσω πυροσταφυλικού ή από τη β-οξείδωση των λιπαρών οξέων. Επίσης η αποικοδόμηση του ανθρακικού σκελετού των αμινοξέων οδηγεί σε διάφορες θέσεις του κιτρικού κύκλου. (Πηγή: Κλινική Παθολογική Βιοχημεία, P. Karlson et al).