

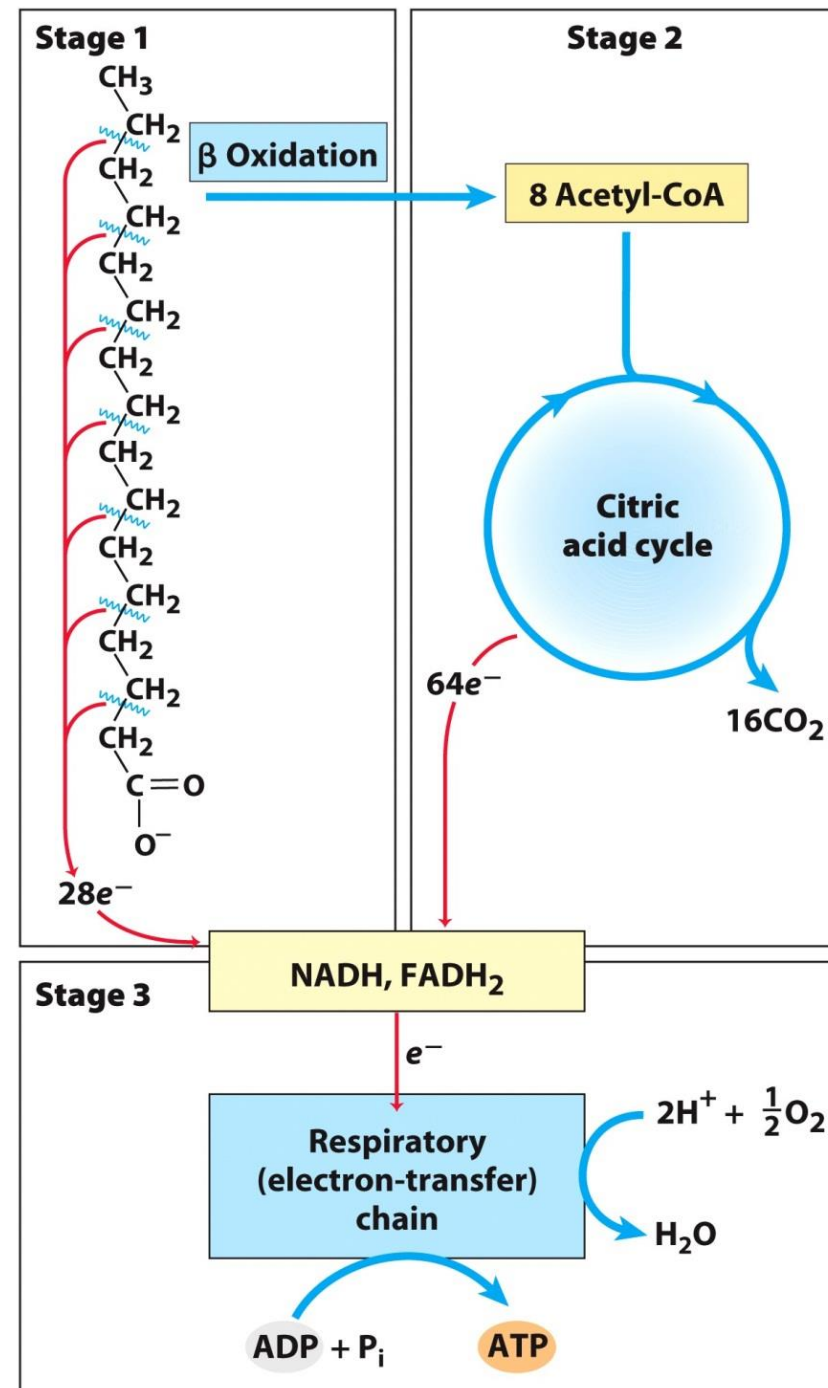
**Катаболизам на масни
киселини.**

**β -Оксидација на масните
киселини**

Доц.д-р Наташа Ристовска

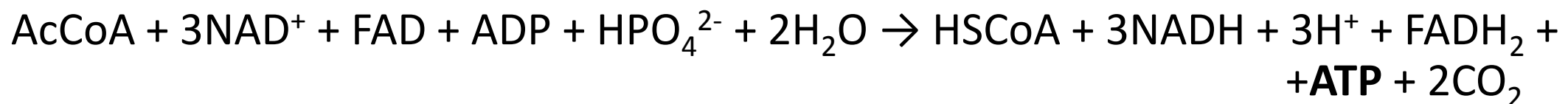
Фази на оксидација на масни киселини

- Три фази:
- Фаза 1: оксидација на долговерижната масна киселина до ацетилни остатоци во форма на ацетил-CoA. (β -оксидација)
- Фаза 2: ацетилните групи се оксидираат до CO_2 преку циклусот на лимонска киселина во митохондријалниот матрикс.
- Фаза 3: ослободените електрони од фаза 1 и 2 се пренесуваат до O_2 преку митохондријалната респираторна верига, со што се обезбедува енергија за синтеза на ATP преку оксидативна фосфорилација.



Што е заедничко за оксидацијата на масните киселини?

- β оксидацијата на масните киселини се одвива **во митохондриите**.
- Конверзијата на масните киселини до ацетил-КоА се одвива во **четири ензимско – катализирани чекори**, позната како β -оксидација.
- Целиот процес се нарекува β -оксидација, бидејќи конверзијата на масните киселини започнува со оксидација на β С-атомот (во однос на карбоксилниот).
- Се **отстранува ацетил групата** од крајот на низата на масната киселина.
- **Повторување на процесот** до целосно разложување на молекулата.
- Добиениот **АсСоА влегува во циклусот на лимонска киселина** (циклус на трикарбоксилни киселини или Кребсов циклус), при што вкупниот исход е:



*Активирање и транспорт на масните киселини во
митохондриите*

Активирање и транспорт на масните киселини

- **Ензимите за оксидација на масните киселини** во животинските клетки се лоцирани во митохондријалниот матрикс: (1948) Eugene P. Kennedy и Albert Lehninger.
- **Влез на масните киселини од цитосолот во митохондриите:**
 - Директно, без помош на мембрански транспортери (до 12 C-атоми)
 - Преку **три ензимски катализирани реакции од транспортниот систем на карнитин**. (Претходно активирање на масните киселини над 14 C-атоми)

1. Конверзија на масните киселини до масни киселини-CoA (естерификација).

Масна киселина + CoA + ATP $\rightleftharpoons$ ацил-CoA на масна киселина + AMP + PPi

- Вкупната реакција е силно егзергона $\Delta G'^{\circ} = -34\text{kJ/mol}$.
- Два чекори, ензимски катализирани: **ацил-CoA синтетаза (ацил-CoA лигаза или масна киселина тиокиназа)** и **неоргански пирофосфатази**.

Конверзија на масните киселини во ацил-CoA на масната киселина:

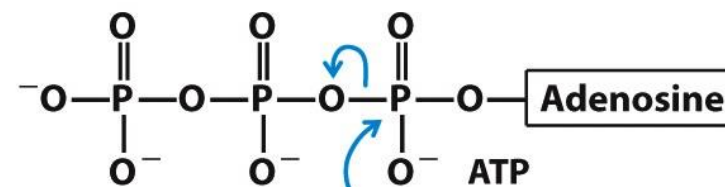
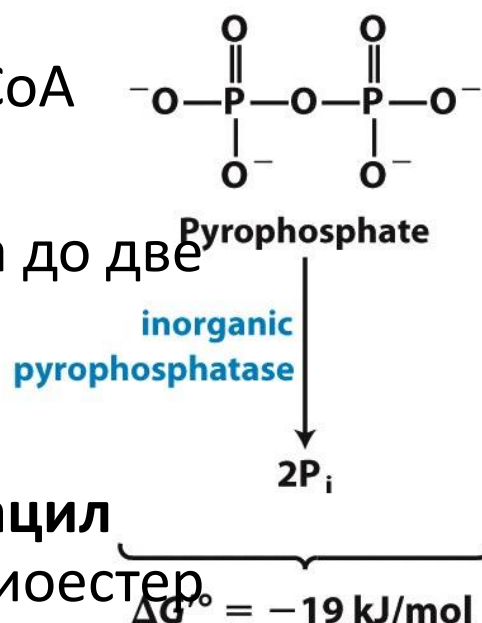
Прв чекор: Аденилирање на карбоксилатниот јон од страна на АТР, при што се добива ацил-аденилат и пирофосфат.

- Ензим: масна киселина-CoA синтетаза

Пирофосфатот хидролизира до две молекули фосфат.

- Ензим: пирофосфатаза.

Втор чекор: Нуклеофилна ацил супституција; се образува тиестер масна киселина-CoA.

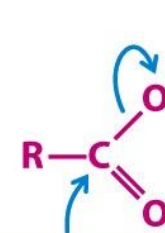


Fatty acid

The carboxylate ion is adenylated by ATP, to form a fatty acyl-adenylate and PP_i . The PP_i is immediately hydrolyzed to two molecules of P_i .

fatty acyl-CoA synthetase

①



Fatty acyl-adenylate (enzyme-bound)



fatty acyl-CoA synthetase

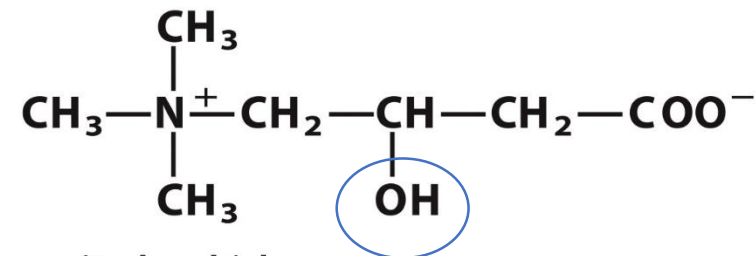
②



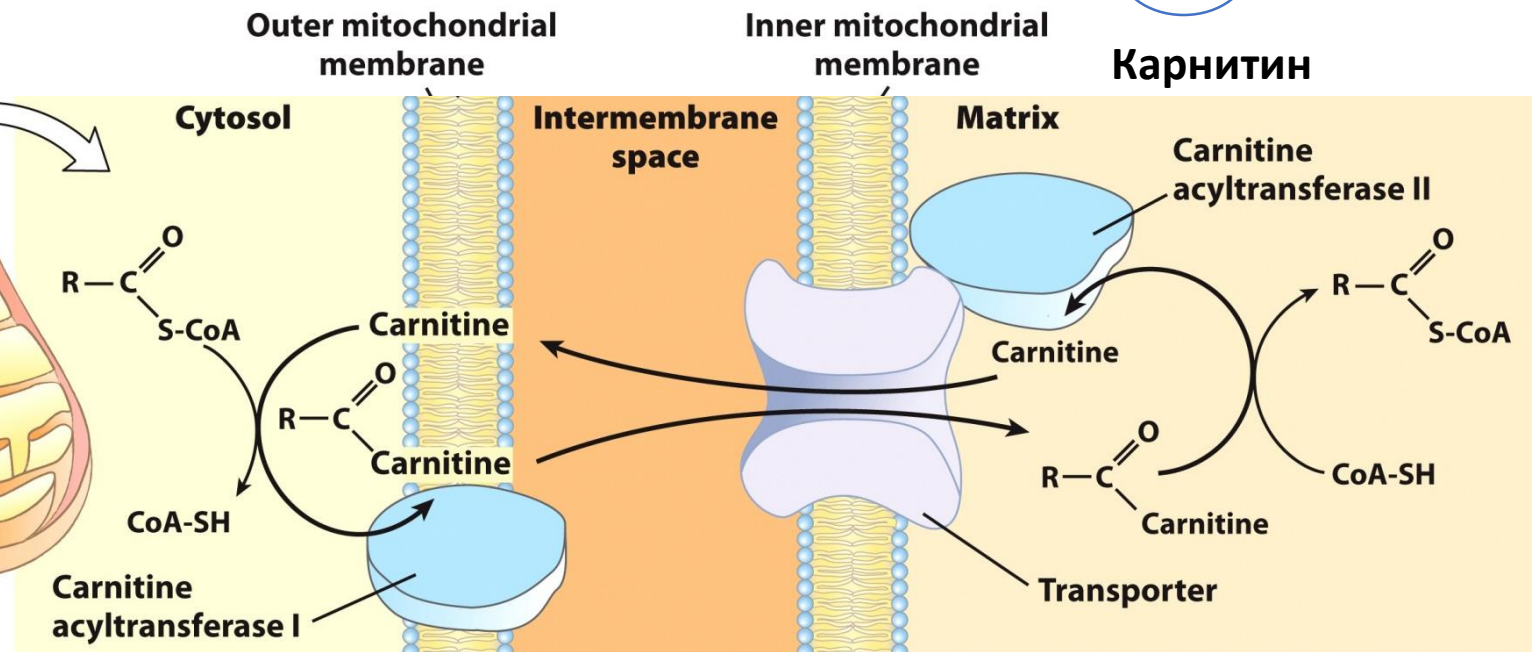
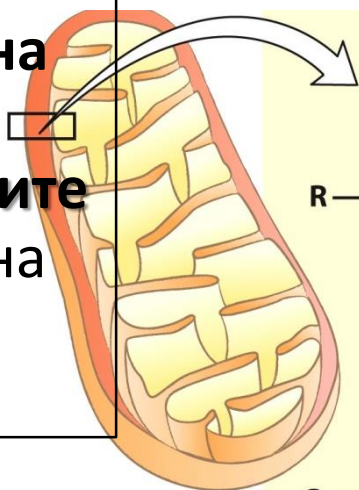
The thiol group of coenzyme A attacks the acyl-adenylate (a mixed anhydride), displacing AMP and forming the thioester fatty acyl-CoA.

$\Delta G'^{\circ} = -15 \text{ kJ/mol}$
(for the two-step process)

Транспортен систем на карнитин

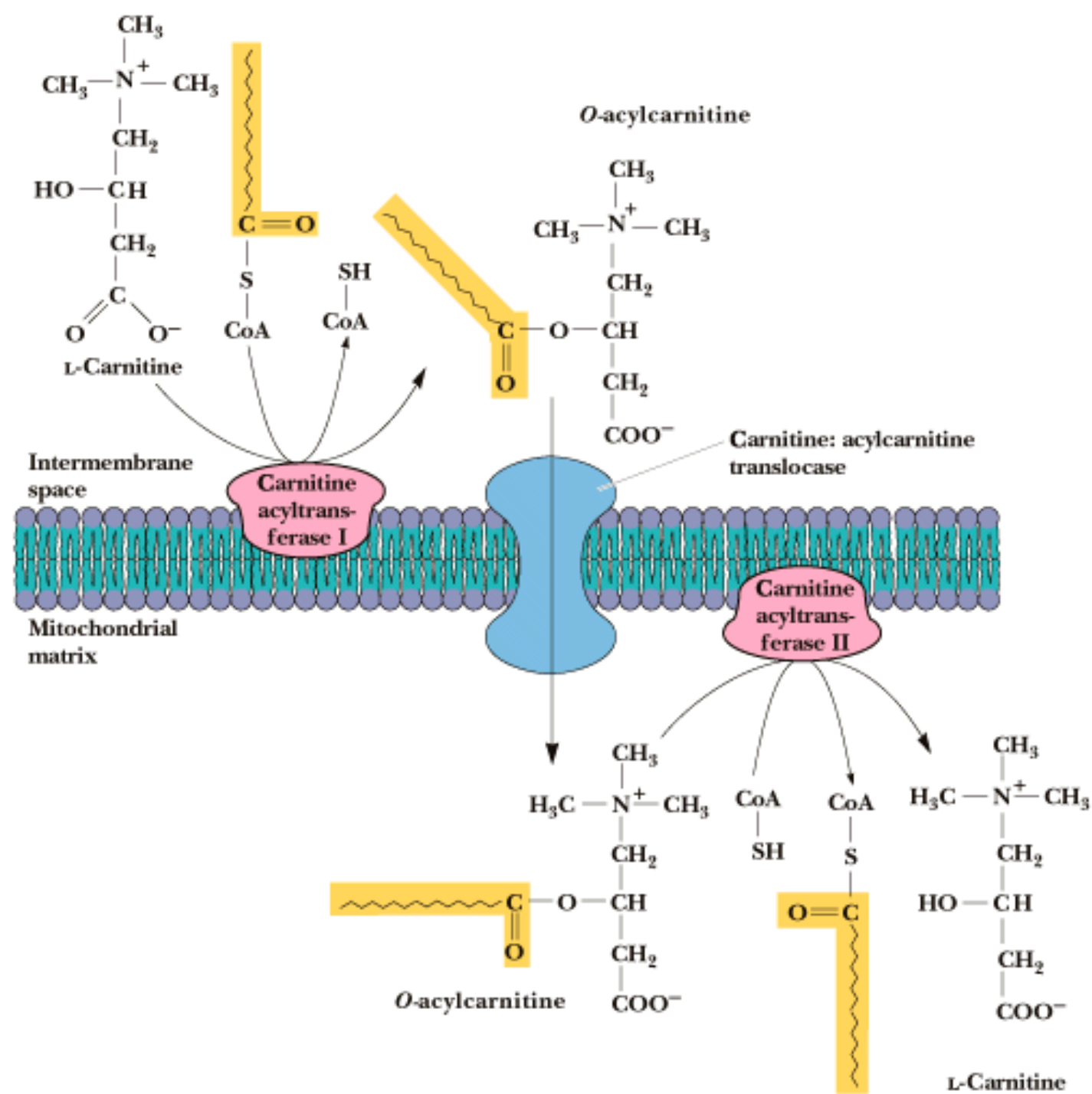


1 - Естерификација: во цитосолот на клетката создавање на **ацил-CoA** на **масните киселини**, потпомогнато од **ИЗОЗИМИТЕ** од надворешната мембрана на митохондријата.



2 - Трансестерификација: Ензимот **карнитин ацилтрансфераза I** го катализира формирањето на **О-ацил-карнитин**, во цитосолот од надворешната страна на митохондријалната мембрана.

3 - Транспорт и трансестерификација до ацил-CoA: Ацил-карнитинот навлегува во матрикот на митохондријата по пат на **дифузија преку транспортер (транслоказа - порин)** во внатрешната мембрана. Во матрикот, ацил групата се пренесува на митохондријалниот CoA-SH, со **карнитин ацилтрансфераза II**.



β-Оксидација на заситени масни киселини

Чекори на β -Оксидација на масните киселини

Оксидацијата на масните киселини до ацетил-КоА се одвива во четири чекори:

Чекор 1: Воведување на двојна врска, образување на незаситен α,β -ацил КоА

- Ензими: три изозими на ацил-КоА дехидрогенази со простетична група FAD.

Чекор 2: Конјугирана 1,4-адиција на вода кај α,β -незаситен ацил КоА и образување на β -хидроксиацил КоА.

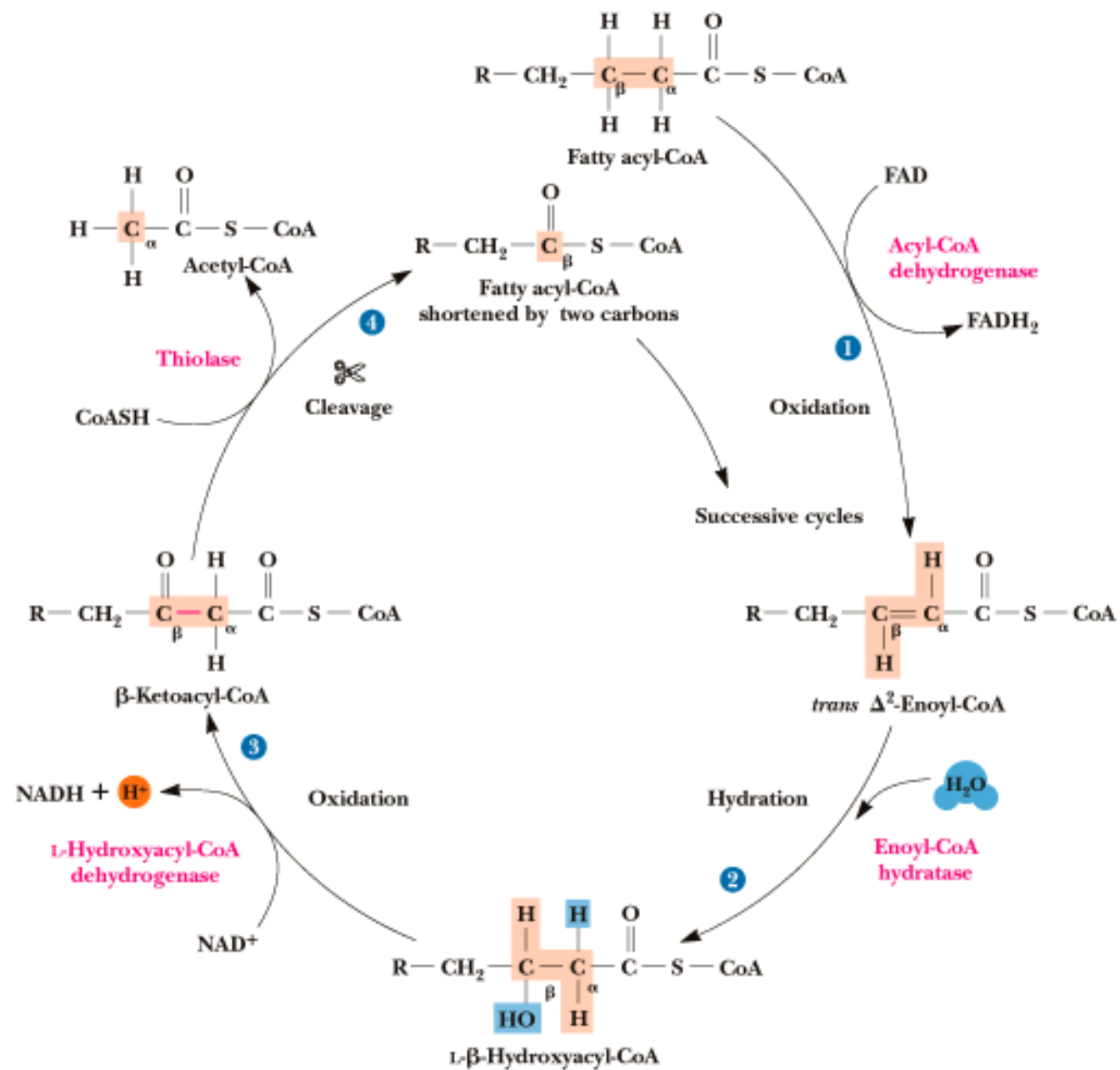
- Ензими: еноил-КоА хидратази

Чекор 3: Оксидација на β -хидроксиацил КоА до β -кетоацил КоА.

- Ензими: L- β -хидроксиацил-КоА дехидрогенази; Коензим: NAD^+

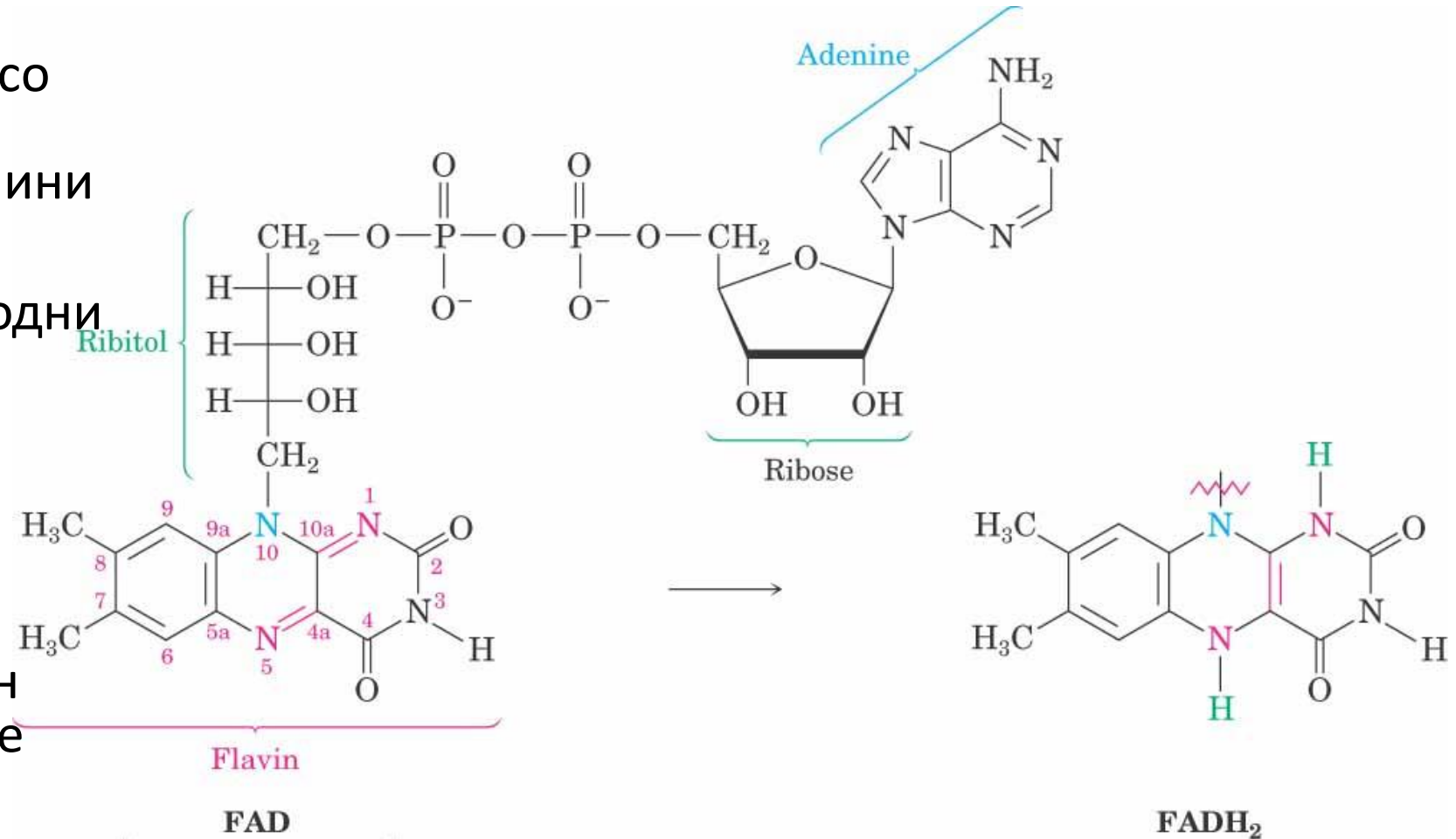
Чекор 4: Раскинување на низата и издвојување на АсКоА.

- Ензими: β -кетоацил-КоА тиолаза

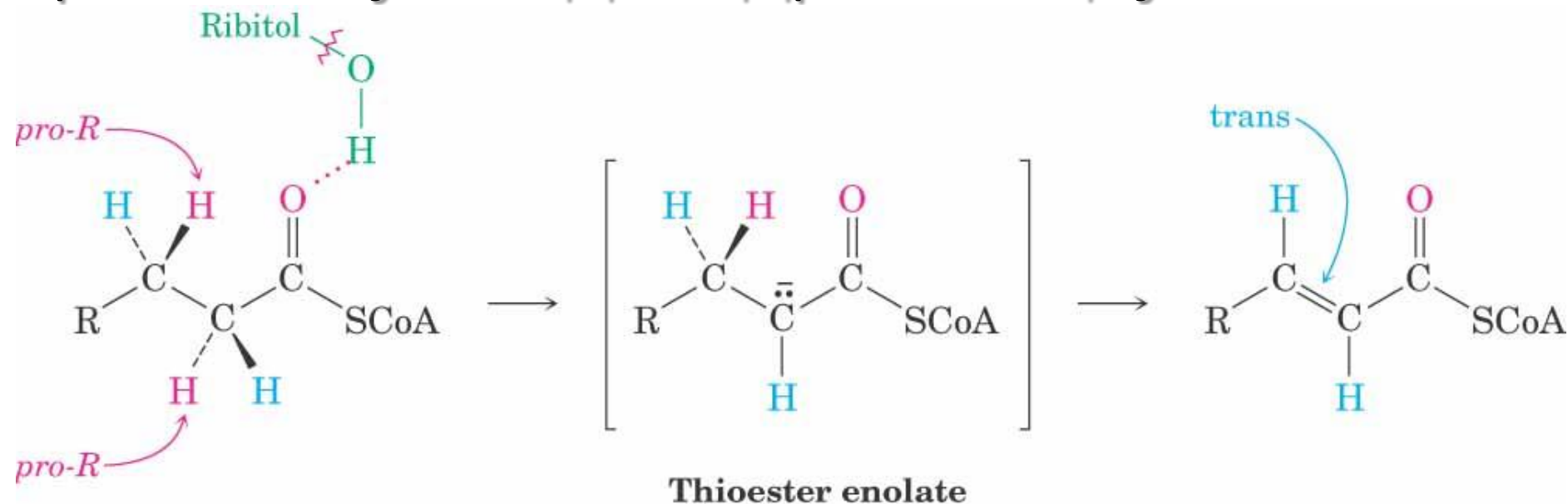


Прв чекор: Дехидрогенација – воведување на двојна врска

- Активирање на масните киселини: при реакција со АТР и СоА формираат (тиоестери) масни киселини ацил-СоА.
- Отстранување на водородни атоми од C2 и C3 (α и β положба);
- Ензими: ацил-СоА дехидрогенази (VLCAD, MCAD и SCAD).
- Коензим: флавин аденин динуклеотид (FAD), кој се редуцира до FADH_2 .

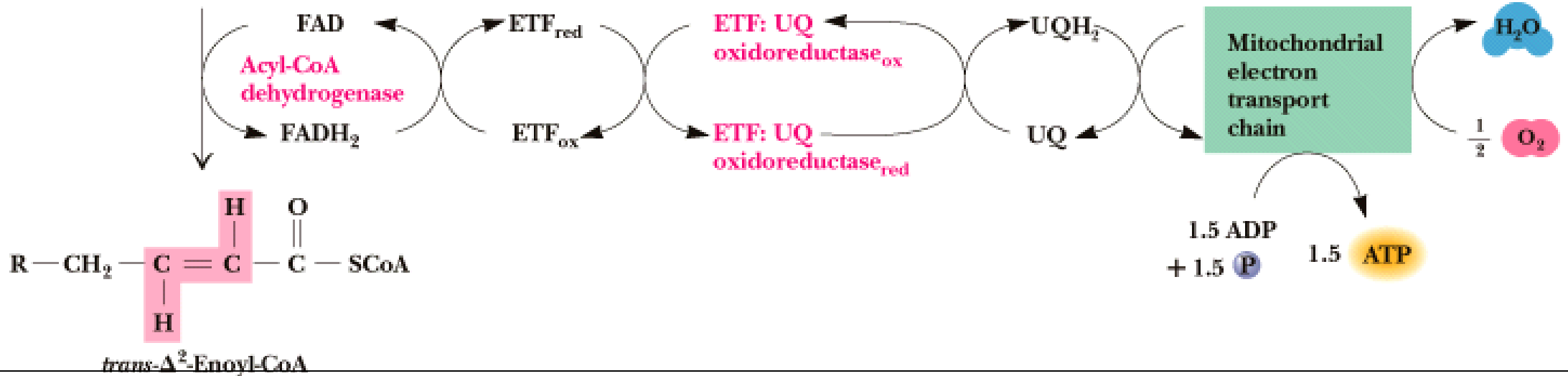
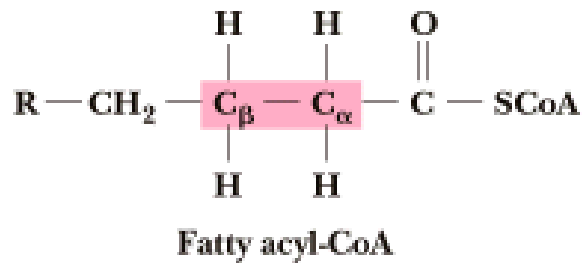


Стереохемија на дехидрогенацијата



1. Одземање на *pro-R* водороден атом од α-положба на ацил CoA (се пренесува на FAD) и формирање на енолатен јон на тиестерот:
 - Киселоста на α-H се зголемува како резултат на водородното сврзување меѓу карбонилниот O-атом на ацил групата и хидроксилната група од рибозата на FAD.
2. Стабилизирање на енолат анјонот со елиминација на *pro-R* водородниот атом од β-положба, кој се пренесува на FAD.
3. Двојната врска на добиениот α,β-незаситен ацил-CoA има trans изомерија.

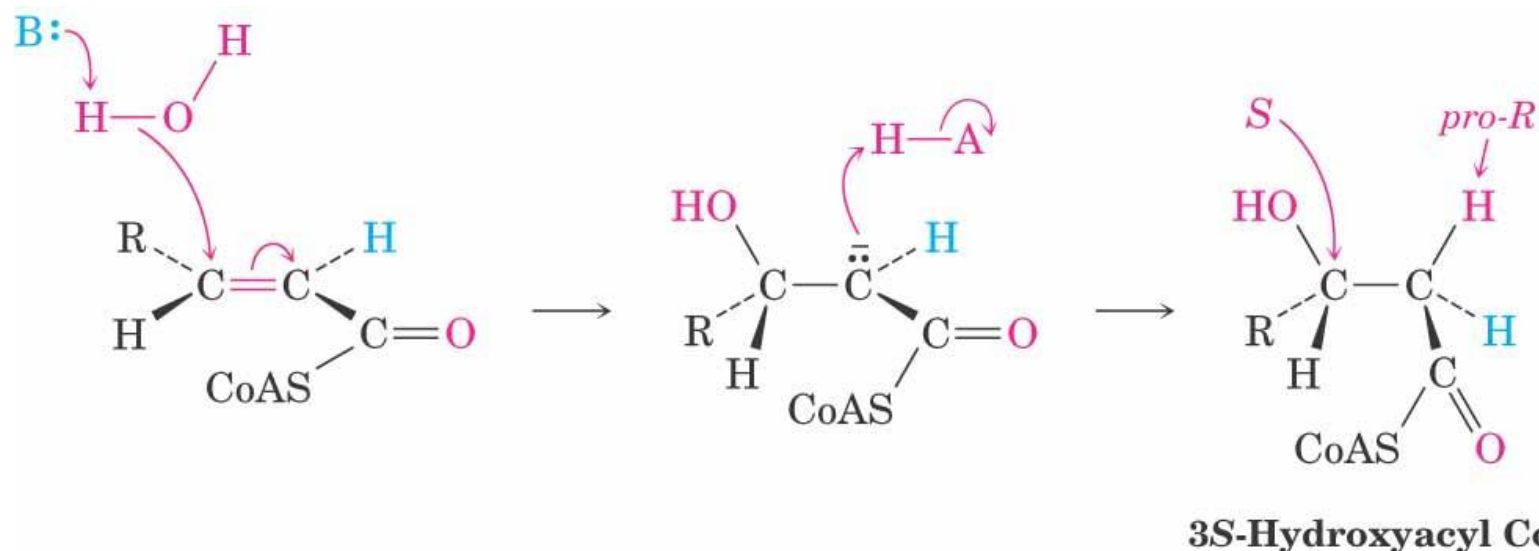
Дејство на ацил-СоА дехидрогеназите



- Акцептор на двата електрони ослободени при оксидацијата е FAD. Редуцираната форма на дехидрогеназата FADH₂ ги донира овие електрони на електронски носач на митохондријалната респираторна верига, **флавопротеин за транспорт на електрони (electron-transferring flavoprotein, ETF)**.

- Електроните од реакцијата влегуваат во респираторната верига и преминуваат на молекуларниот кислород. Истовремено се врши синтеза на околу 1,5 ATP молекули по еден електронски пар.

Втор чекор: Хидратација

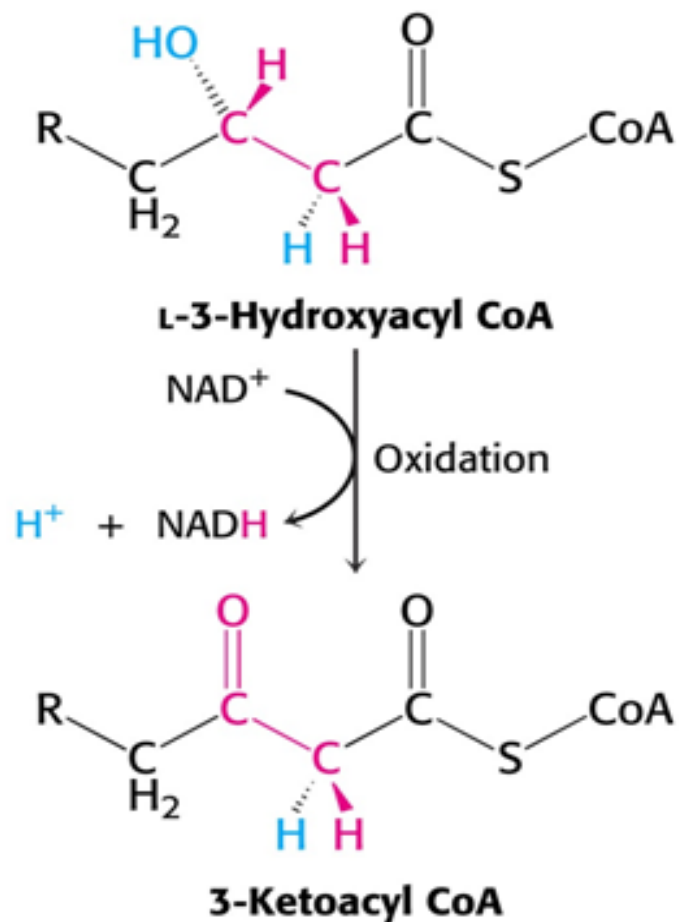


- Конјугираната α,β - незаситена врска во однос на карбонилната група е активирана за адиција на нуклеофил.
- 1. Водата како нуклеофил се адирала на β C-атомот од двојната врска на α,β - незаситениот ацил CoA, при што се добива енолат јон, како интермедијар.

Ензим: еноил - CoA хидратаза

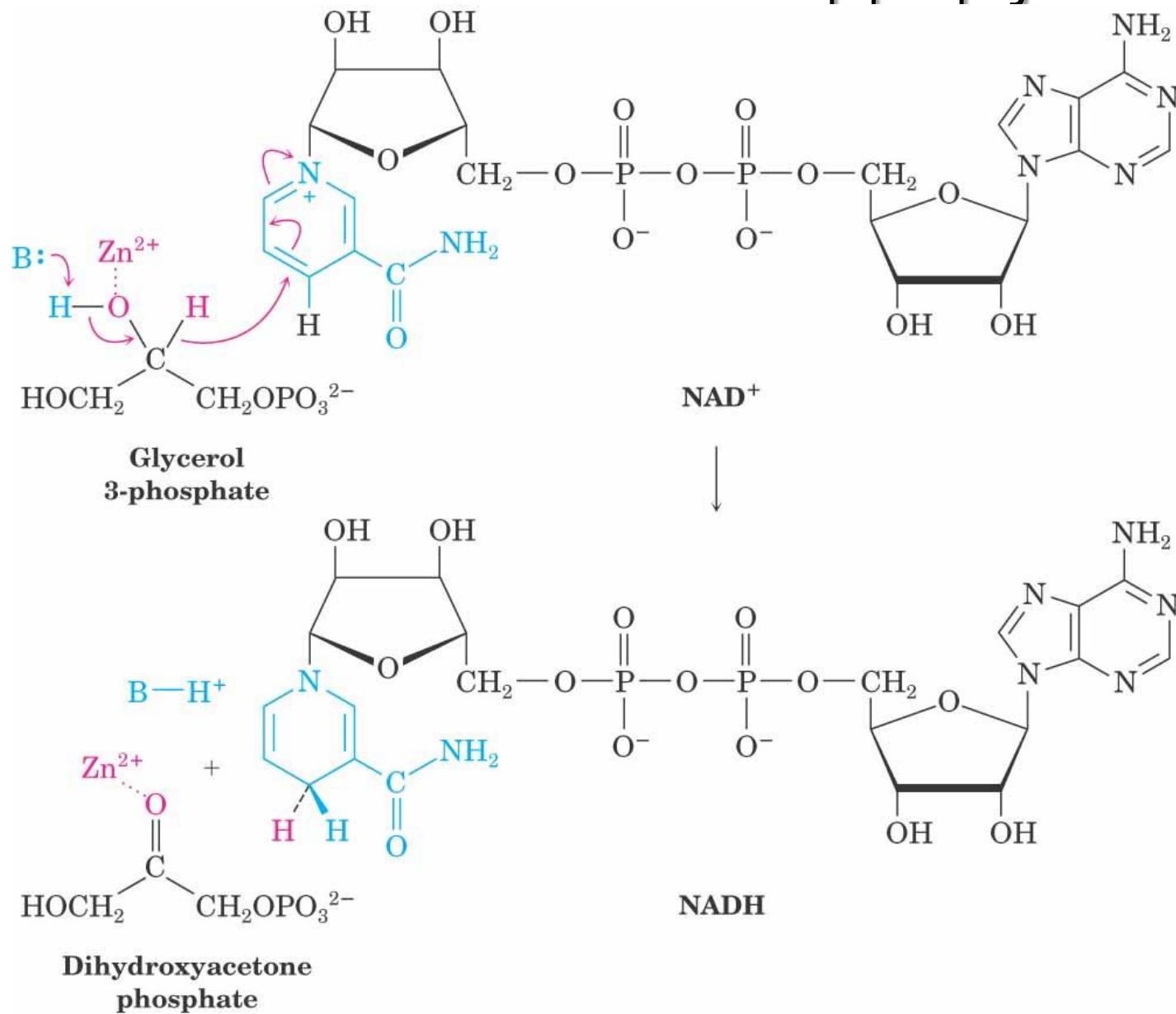
- 2. При протонирање на енолатот со адиција на *pro*-R водороден атом во α - положба се добива L стереоизомер на β -хидроксиацил CoA.
- Продуктот е резултат на *syn* хидратација.

Трет чекор: Оксидација



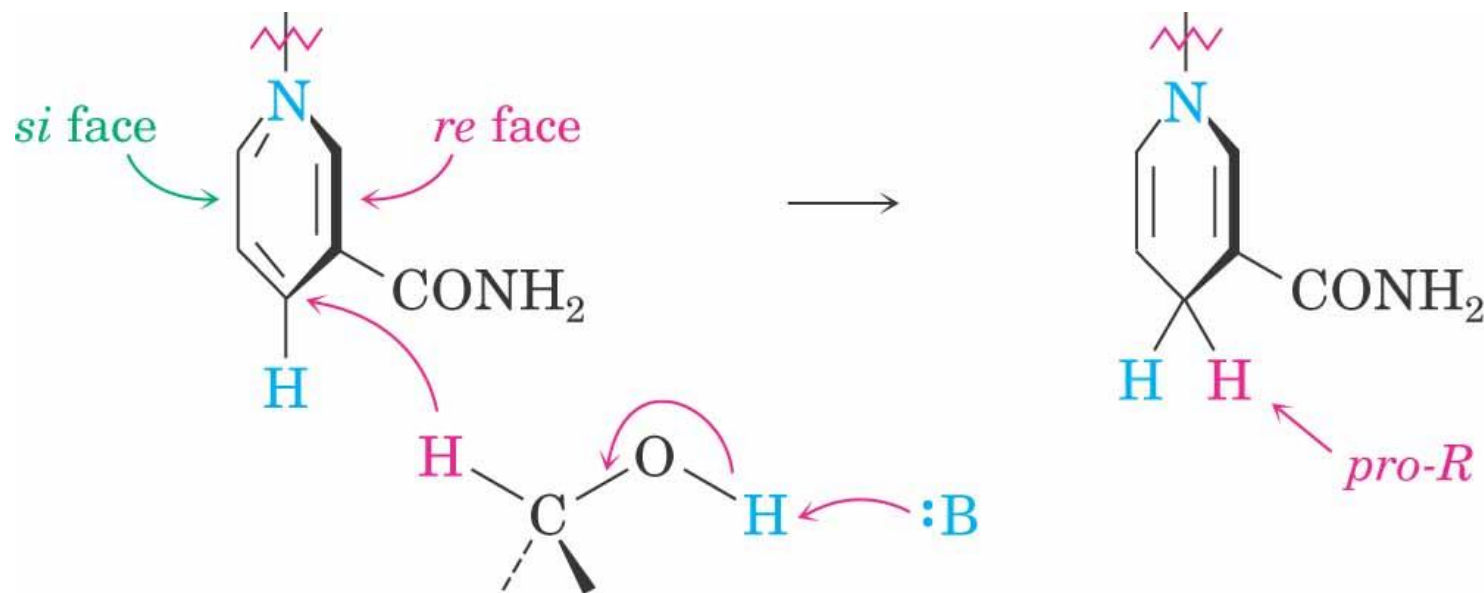
- Оксидација на β -хидроксиацил CoA до β -кетоацил CoA.
- Ензими: β -хидроксиацил CoA дехидрогенази, специфични кон супстратот во зависност од должината на ацил групата.
- Коензим: NAD^+
- NADH што се формира во текот на оваа реакција ги донира своите електрони на **NADH дехидрогеназа**, електронски носач на респираторната верига, при што електроните преминуваат на молекуларниот кислород и се формира ATP од ADP.
- Истовремено се врши синтеза на 2,5 ATP молекули по еден електронски пар.

Механизам на оксидација со NAD^+



- Кофакторот NAD^+ има улога на оксидациско средство, кој го прифаќа H атомот од C-H на алкохолот.
- Zn^{2+} е кофактор кој ја зголемува киселоста на водородниот атом од $-\text{OH}$ групата.
- Адицијата на хидридот врз NAD^+ е стереоспецифична (re-лице).
- Како спореден продукт се добива NADH и H^+ .

Стереохемија на адицијата на Н кон NAD^+

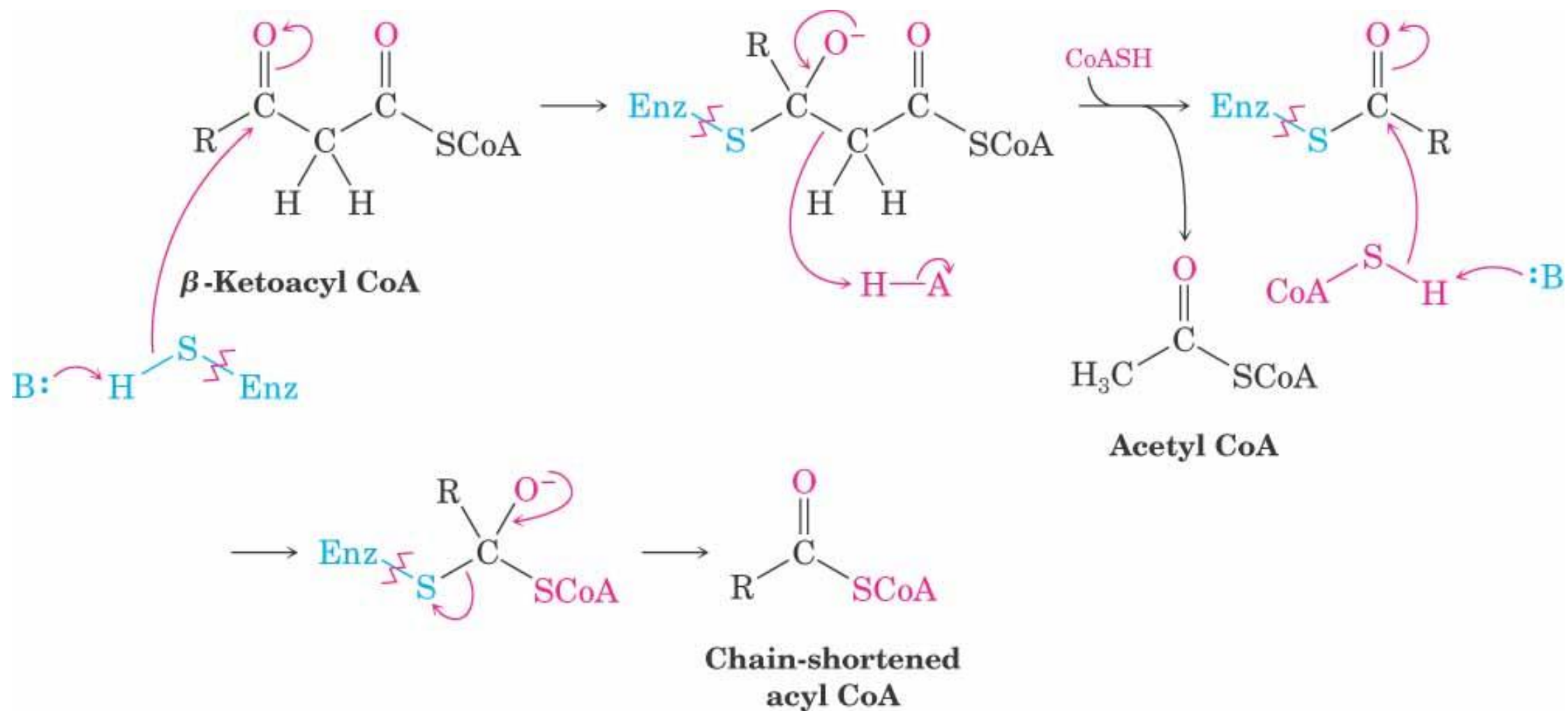


- Се добива само еден изомер на NADH како резултат на стереоспецифичната re-лице адисија на хидрид.
- C-атомот станува прохирален центар *pro*-R.
- Вториот водород се отстранува од оксидираниот супстрат и учествува во растворот како H⁺.

Четврт чекор: Раскинување на низата

- Ацетил CoA се издвојува од ацил низата.
- Ензим: ацил-CoA ацетилтрансфераза, позната како β -кетоацил CoA тиолаза
- Механизам: ретро-Claissen-ова реакција на кондензација:
 1. Нуклеофилна адиција на цистеинската $-SH$ група од ензимот на карбонилниот C-атом од β -кетоацил CoA.
 2. Протонирање на енолат јонот на ацил CoA и раскинување на C2-C3 врската, при што се добиваат два тиоестери (едниот ацетил CoA).
 3. Нуклеофилна ацил супституција на ацил групата сврзана за ензимот носач со молекула на CoA: се добива скратена низа од тиоестерот ацил CoA.

Механизам на ретро-Claissen-ова кондензација

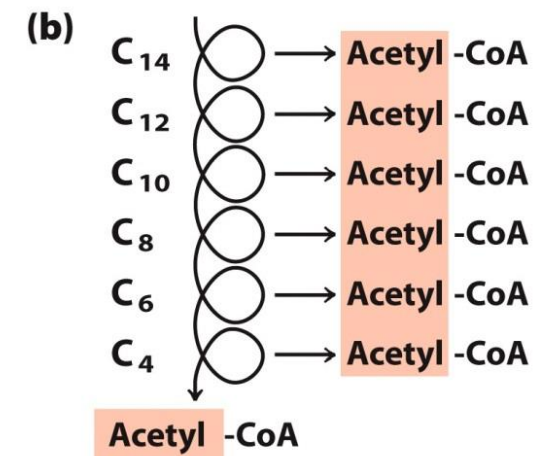
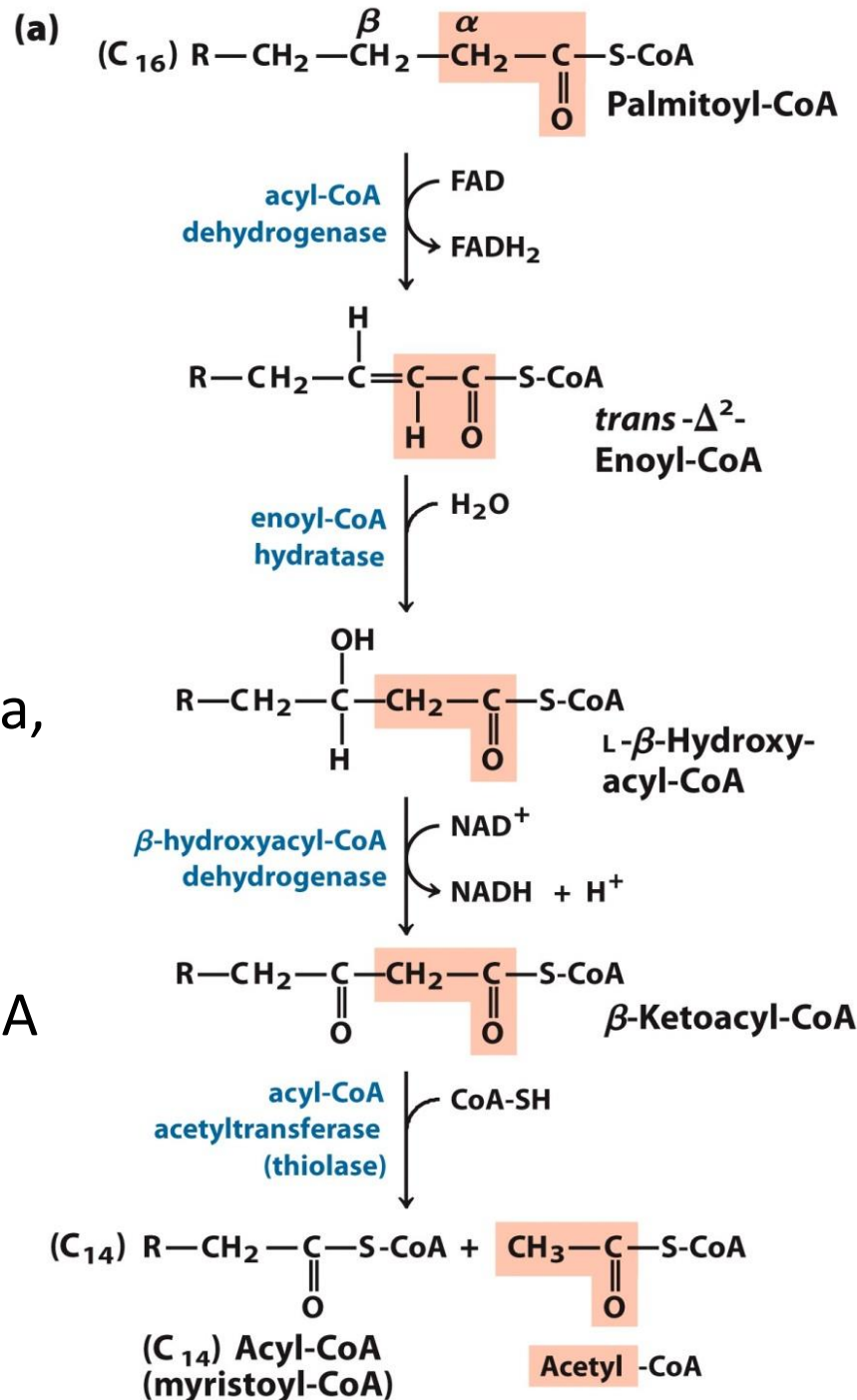


β -Оксидација на масни киселини

- Четирите чекори на β -оксидација се повторуваат.
- Со секоја β -оксидација во четири чекори се издвојува ацетил CoA.
- После секоја β -оксидација се добива масна киселина ацил CoA со два C-атоми помалку од претходната низа.
- За време на еден циклус на оксидација во кој се отстрануваат две јаглеродни единици се добиваат четири молекули на АТР и молекула вода.
- Краен продукт на масните киселини со парен број на C-атоми е ацетил CoA.
- За добивање на n молекули ацетил CoA потребни се n-1 β -оксидации.

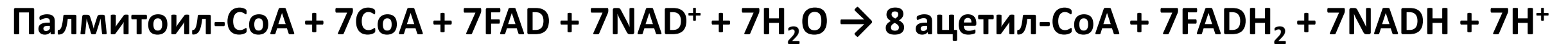
β-Оксидација на заситени масни киселини со парен број на C-атоми

- **Четири чекори:** оксидација (дехидрогенација), хидратација, оксидација и тиолиза
- **Ензими:** ацил-CoA дехидрогенази, еноил-CoA хидратази, β-хидроксиацил-CoA дехидрогенази и ацил-CoA ацилтрансферази (тиолази)
- Повторување на процесот
- Краен продукт: ацетил CoA

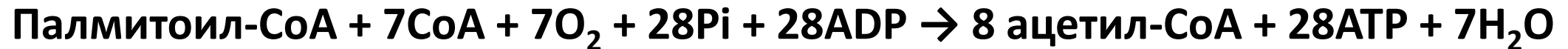


β-Оксидација на палмитоил-КоА

- За целосна оксидација на палмитоил-КоА до 8 ацетил-КоА потребни се 7 циклуси.
- Сумарната равенка на процесот е:



- Сумарната равенка за оксидација на палмитоил-КоА, која вклучува пренос на електрони и оксидативна фосфорилација е:



- Добиениот ацетил-КоА може понатаму да биде оксидиран до H_2O и CO_2 преку циклусот на лимонска киселина:



- Сумарната равенка за целосната оксидација на палмитоил-КоА до јаглерод диоксид и вода е:



TABLE 17–1 Yield of ATP during Oxidation of One Molecule of Palmitoyl-CoA to CO₂ and H₂O

Enzyme catalyzing the oxidation step	Number of NADH or FADH ₂ formed	Number of ATP ultimately formed*
Acyl-CoA dehydrogenase	7 FADH ₂	10.5
β -Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	7 NADH	17.5
Isocitrate dehydrogenase	8 NADH	20
α -Ketoglutarate dehydrogenase	8 NADH	20
Succinyl-CoA synthetase		8†
Succinate dehydrogenase	8 FADH ₂	12
Malate dehydrogenase	8 NADH	20
Total		108

*These calculations assume that mitochondrial oxidative phosphorylation produces 1.5 ATP per FADH₂ oxidized and 2.5 ATP per NADH oxidized.

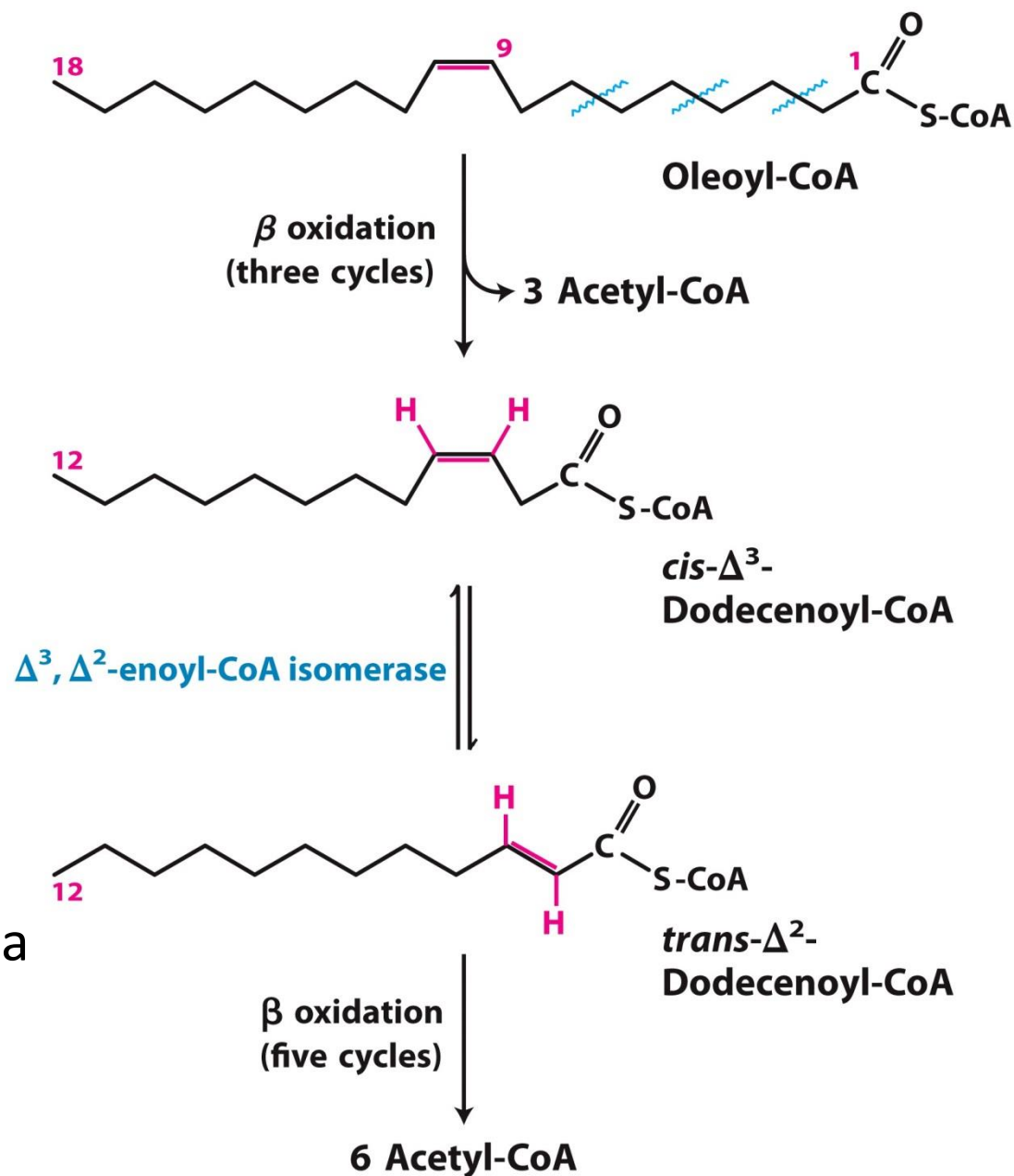
†GTP produced directly in this step yields ATP in the reaction catalyzed by nucleoside diphosphate kinase (p. 526).

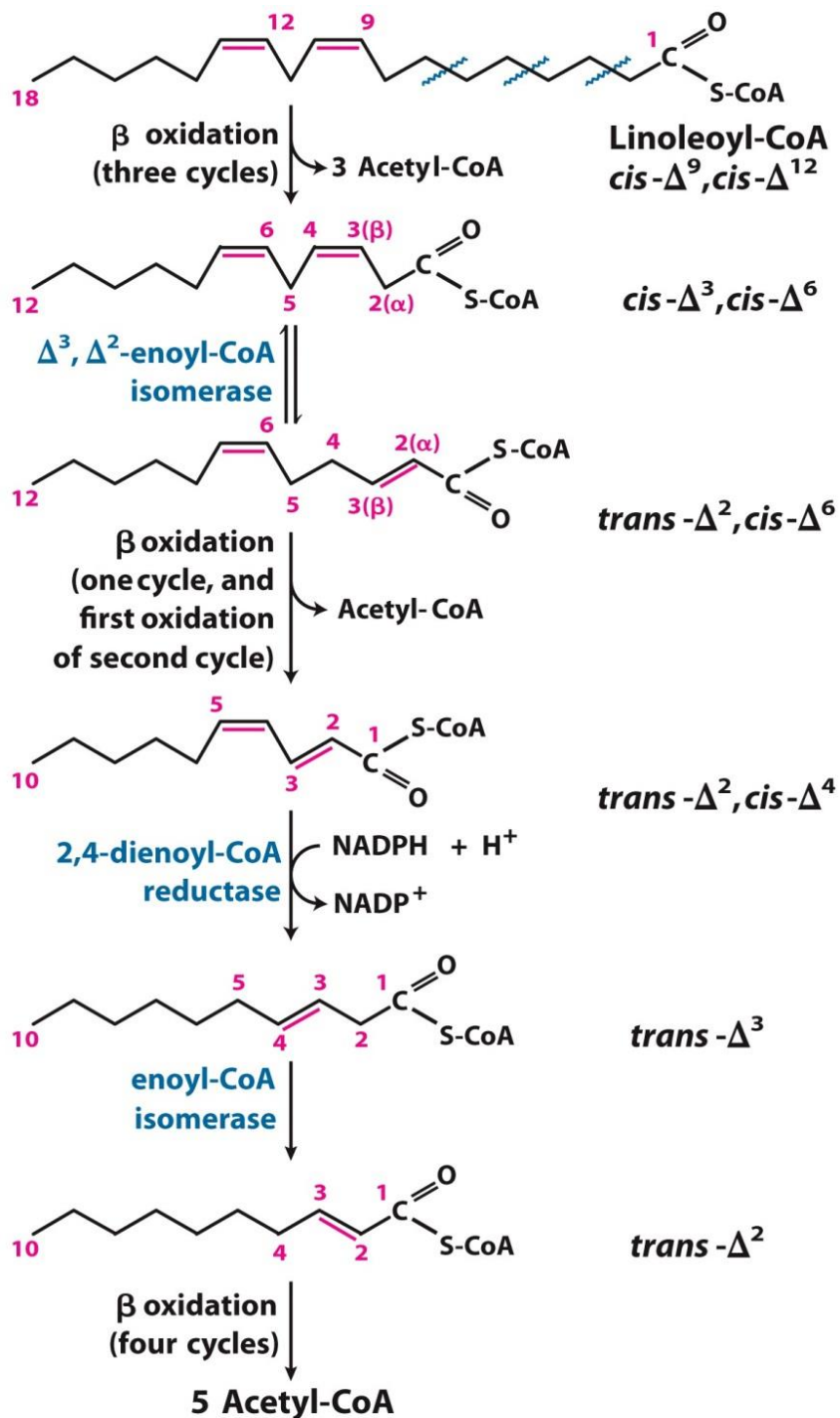
β-Оксидација на незаситени масни киселини

β -Оксидација на незаситени масни киселини со една двојна врска

β -Оксидација на олеат 18: Δ^9

- Дополнителен чекор во однос на оксидацијата кај заситените масни киселини (**која е причината?**)
- Изомеризација на *cis* Δ^3 -еноил-CoA масна киселина.
- Ензим: Δ^3, Δ^2 – еноил-CoA изомераза
- Промена на положбата и геометриската изомерија во однос на двојната врска.





β -Оксидација на полинезаситени масни киселини

β -Оксидација на линолеат $18:2\Delta^{9,12}$

- Потребни се дополнителни чекори:

1. Изомеризација на *cis* двојната врска во положба C9

- Ензим: Δ^3, Δ^2 – еноил-CoA изомераза

2. Редукција на ацил-CoA со две конјугирани двојни врски: $trans-\Delta^2$ и $cis-\Delta^4$.

Ензим: 2,4-диеноил-CoA редуктаза

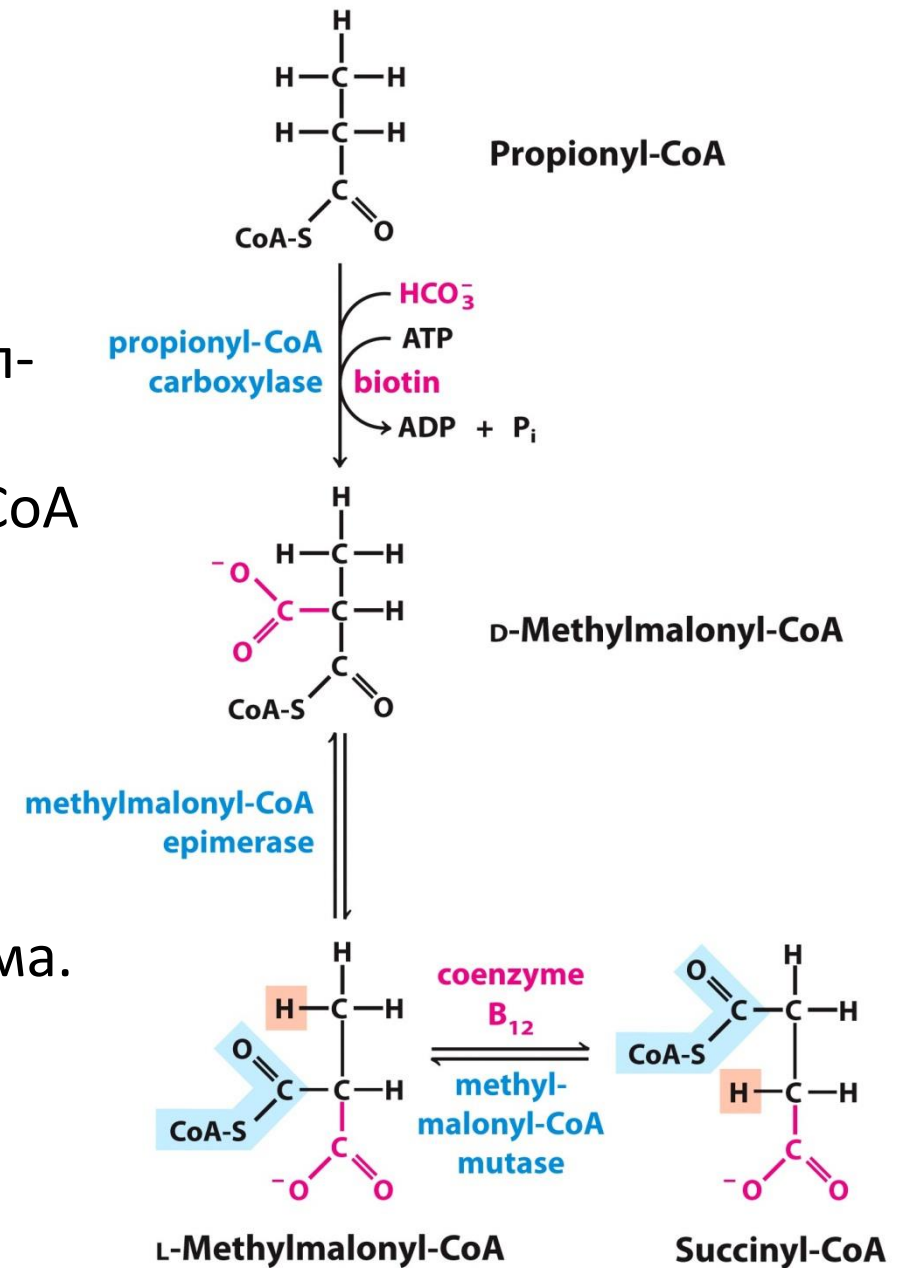
3. Изомеризација на $trans-\Delta^3$ двојната врска до $trans-\Delta^2$

Продолжување на чекорите на β -оксидација.

β-Оксидација на заситени масни киселини со непарен број на C атоми

β-Оксидација на заситени масни киселини со непарен број на C атоми

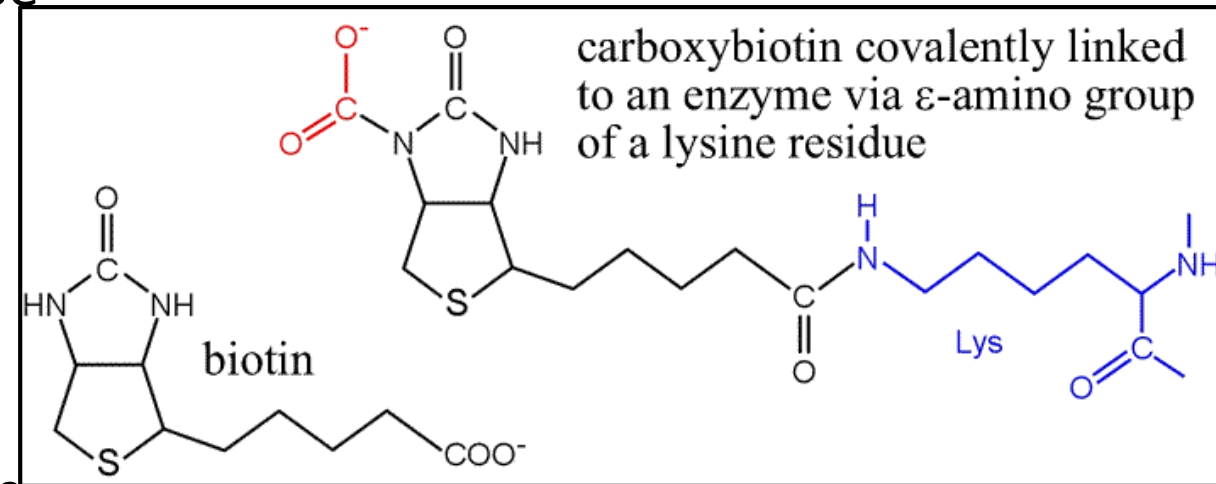
- Вообичаена β-оксидација со издвојување на ацетил-CoA, се до добивањето на пропионил-CoA.
- За да се вклучи во Кребсовиот циклус, пропионил-CoA конвертира до сукцинил-CoA во три чекори:
 1. Карбоксилирање на пропионил-CoA до D-метилмалонил-CoA
 2. Епимеризација на D-метилмалонил-CoA во L форма.
 3. Интрамолекуларно преуредување на L-метилмалонил-CoA до сукцинил-CoA
- Ензим: пропионил-CoA карбоксилаза, кофактор: биотин
- Ензим: метилмалонил-CoA епимераза
- Ензим: метилмалонил-CoA мутаза со коензим B₁₂.



Улога на биотин во процесите на карбоксилација

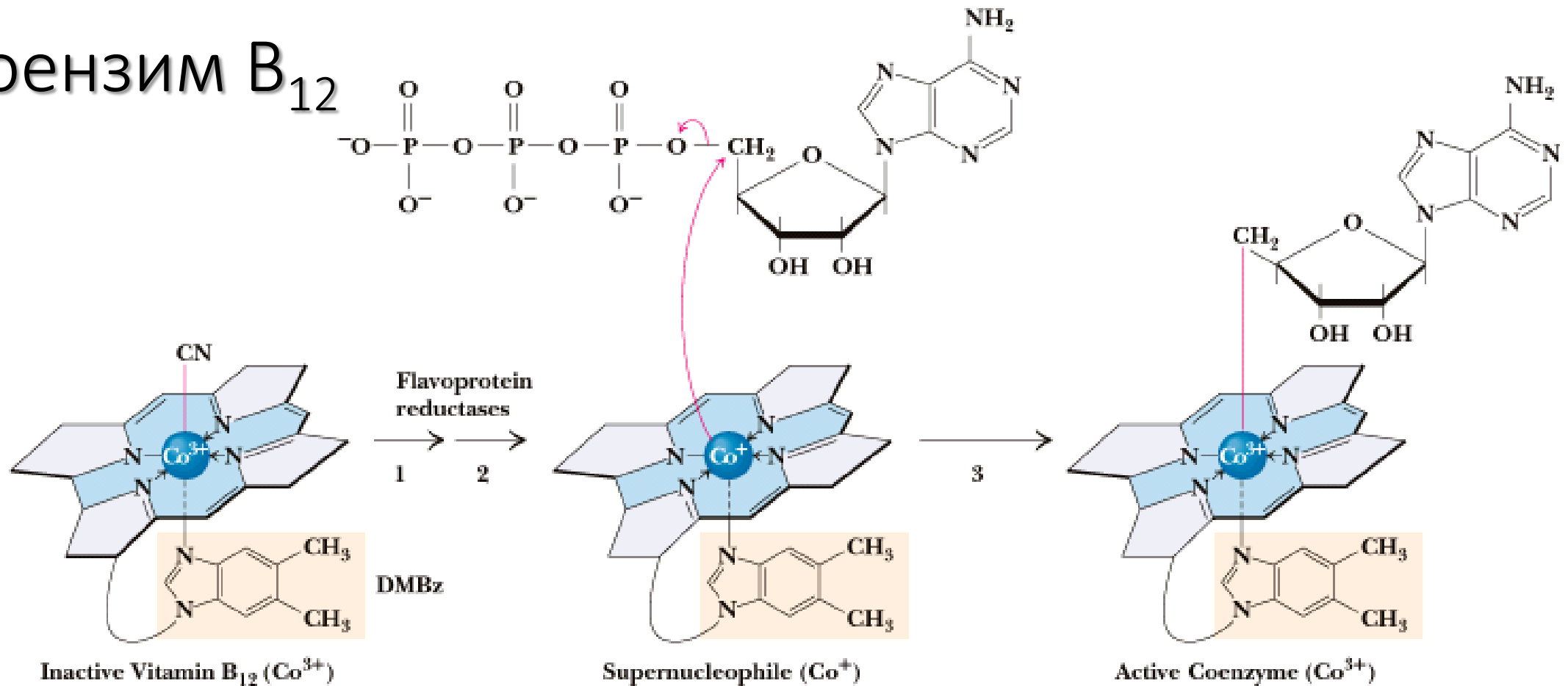
- Кај луѓето, биотинот е асоциран за следниве карбоксилази:

- Пируват карбоксилаза (образување на оксалоацетат од пируват)
- β -Метилкротонил-CoA карбоксилаза
- Пропионил-CoA карбоксилаза (конверзија на пропионил-CoA до сукцинил-CoA)
- Ацетил-CoA карбоксилаза (карбоксилирање на ацетил-CoA до малонил-CoA)



- Активната форма на карбоксилазите се добива при ковалентно сврзување на биотин со ϵ -амино групата од лизинскиот остаток на апокарбоксилазата.
- Функцијата на биотин како кофактор е да овозможи пренос на CO_2 до различни целни макромолекули.

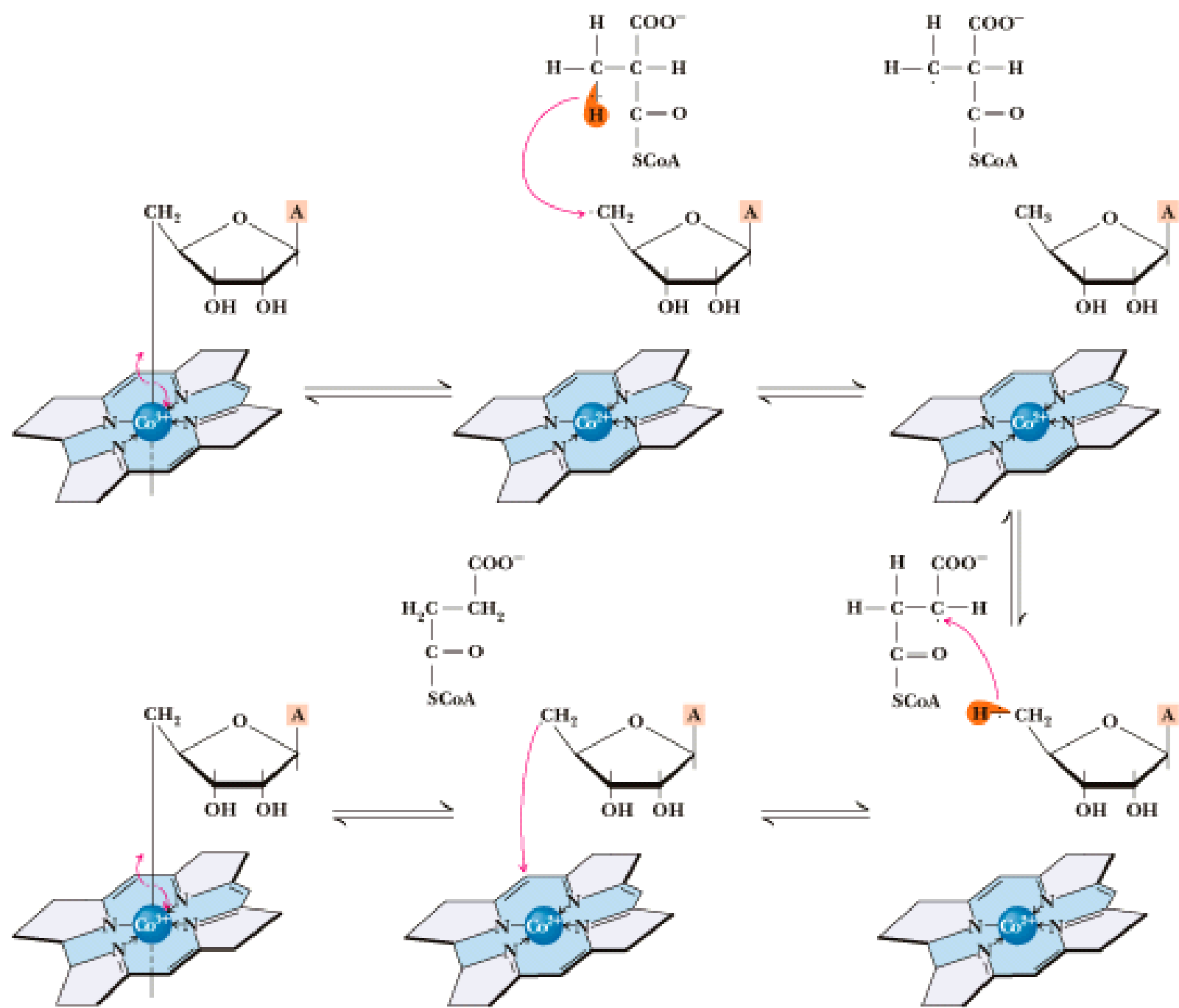
Коензим В₁₂



- Кофакторот за метилмалонил-CoA мутаза е **5'-деоксиаденозилкобаламин (коензим В₁₂)**, дериват на витаминот В₁₂ – кобаламин.
- 5'-деоксиаденозил групата е ковалентно сврзана за кобалтот (Co³⁺) преку C-5'.
- Тридимензионалната структура била определена од Dorothy Crowfoot Hodgkin (1956) – Нобелова награда

Улога на коензимот B_{12} во процесите на интрамолекуларно преуредување

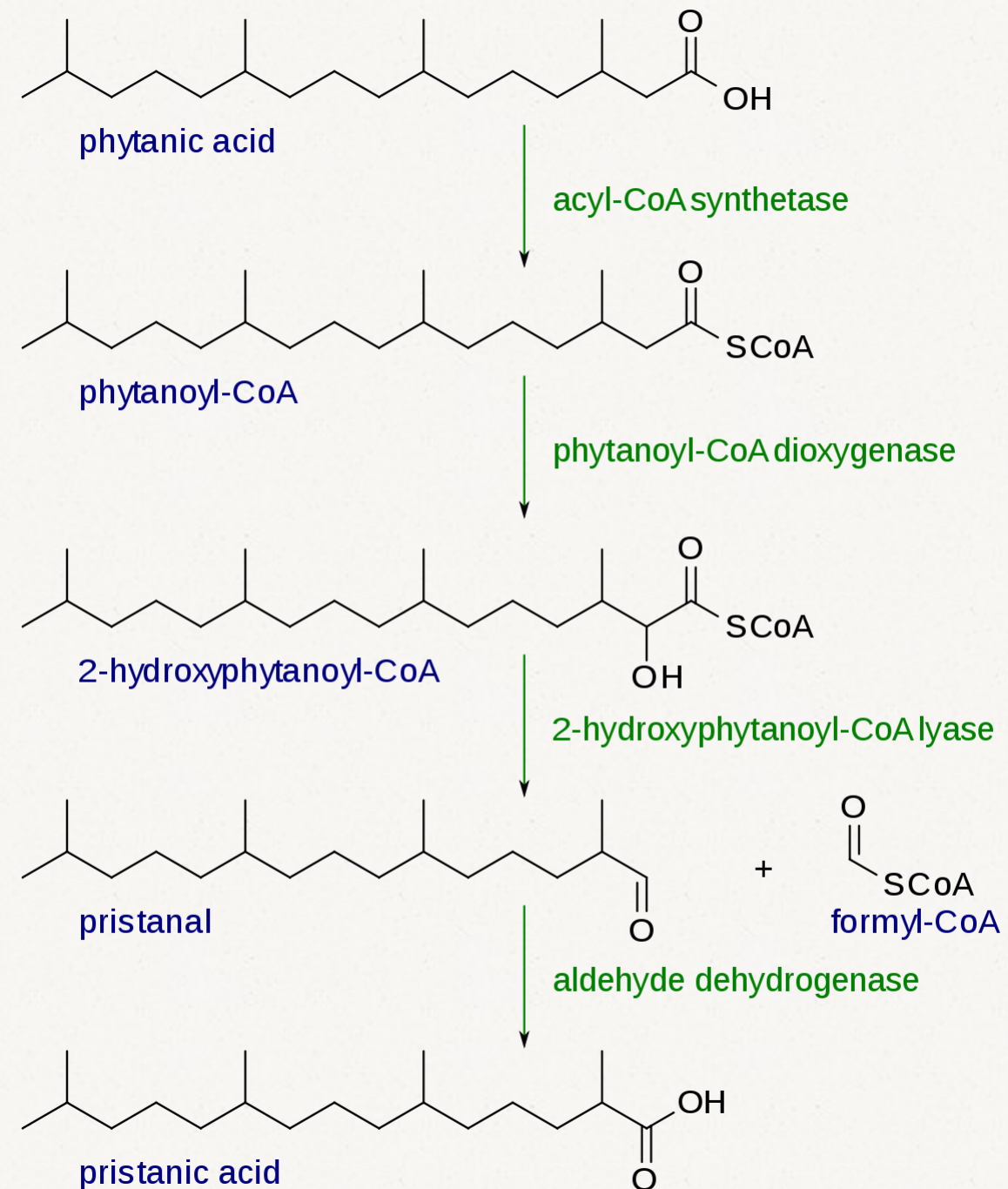
- Замена на алкил или супституирана алкил група (X) со водороден атом од соседниот атом, а не со водороден јон од растворувачот (H_2O).
- Со дисоцијацијата на релативно слабата врска Co-C5' (енергија на дисоцијација околу 110 kJ/mol) на коензимот, се добива 5'-деоксиаденозил радикал и кобаламински Co^{2+} .
- Слободниот 5'-деоксиаденозил радикал отпочнува серијата трансформации на L-метилмалонил-CoA до сукцинил CoA (види нареден слајд - информативно).



Други видови оксидација на масни киселини

α -Оксидација на разгранети масни киселини

- β -Метил супституираните масни киселини не може да се оксидираат по пат на β -оксидација. (Зошто?)
- Алтернатива: **α -оксидација** во пероксизоми на животинските клетки (црн дроб и мозок).
- Чекори на α -оксидација:
 1. Активирање на масната киселина до ацил-CoA
 2. Хидроксилирање на α -јаглероден атом
 3. Декарбоксилирање - отстранување на формил-CoA
 4. Оксидација на образуваниот алдехид со еден јаглероден атом помалку
 5. β -оксидација на масна киселина

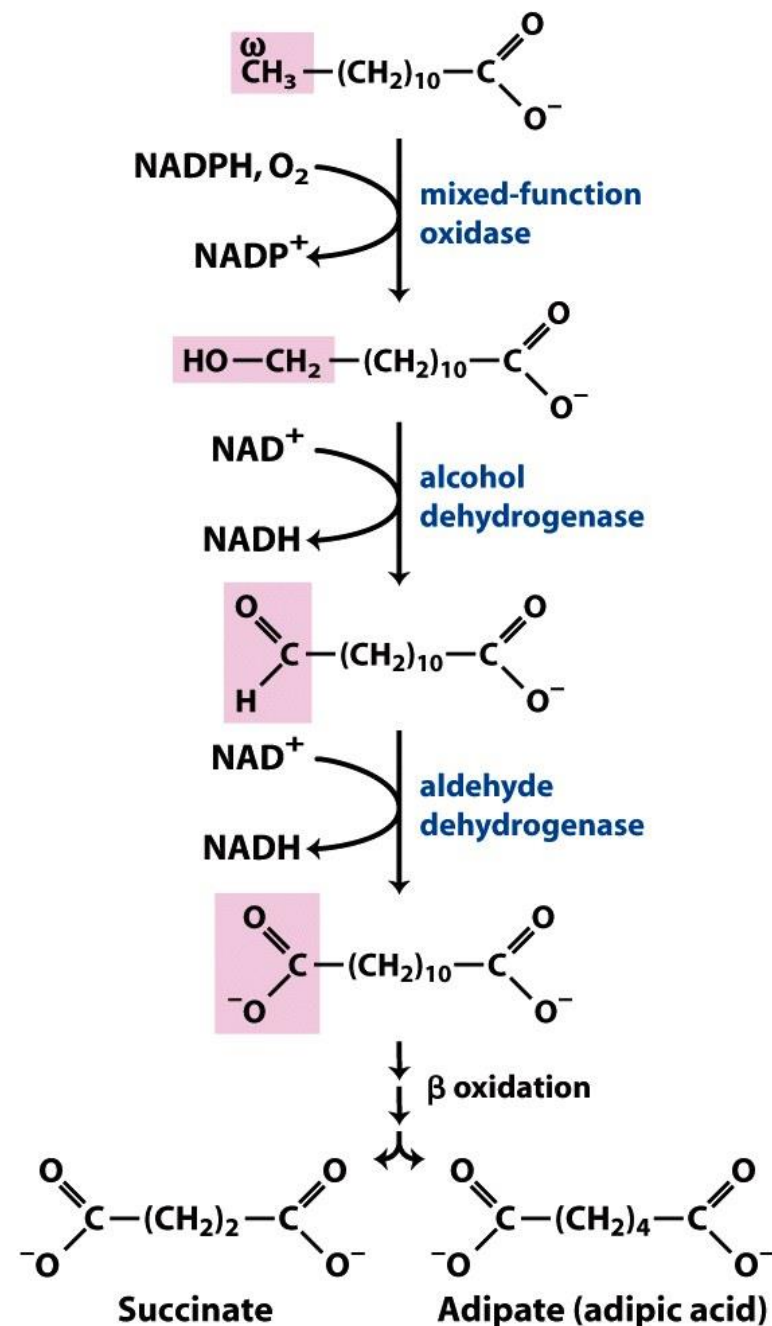


ω -Оксидација на масни киселини

- Метаболички пат кој користи оксидација на најоддалечениот ω -C атом кај масни киселини со 10 или 12 C атоми.
- Застапен кај цицачите, само при дефектна β -оксидација.
- Ензимите за ω -оксидација кај 'рбетниците се наоѓаат во **ендоплазматичниот ретикулум** на клетките на црниот дроб и бубрезите.

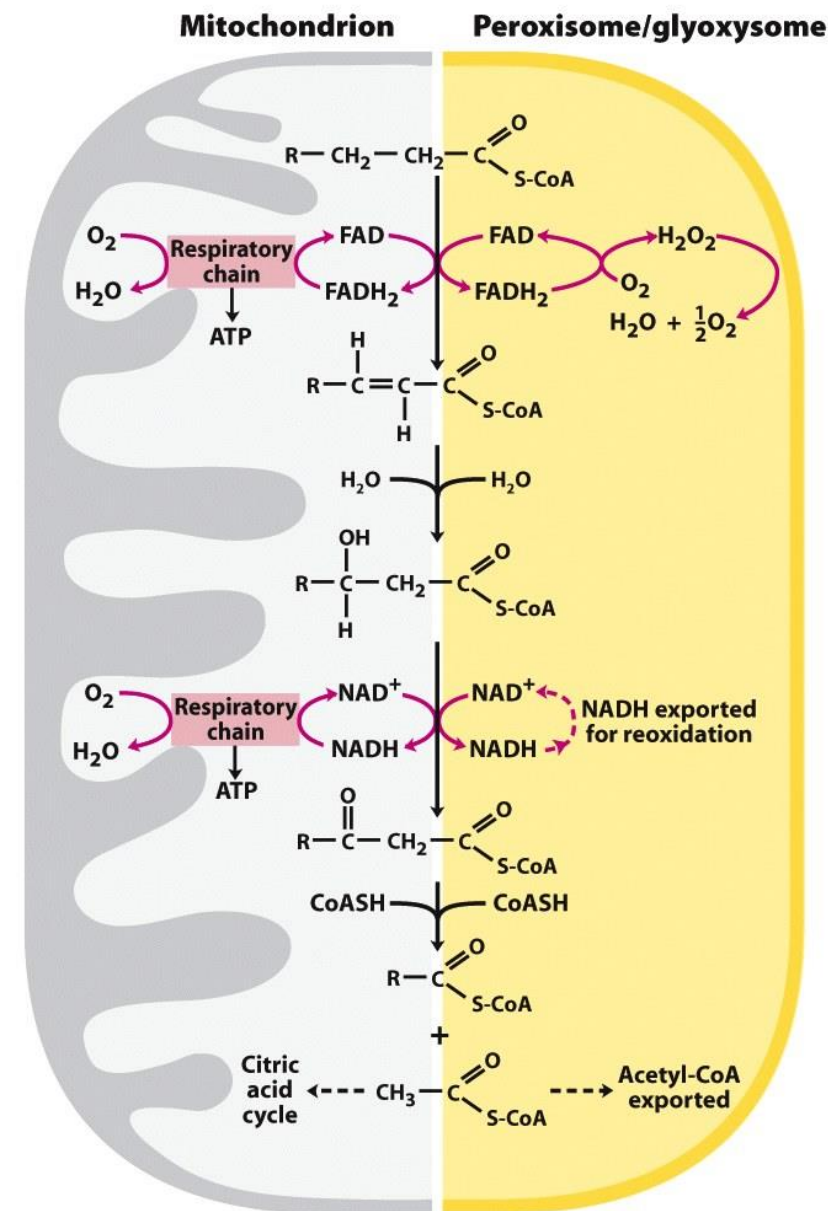
Чекори на ω -оксидација

1. Воведување на хидроксилна група на ω -јаглеродот (O_2 , вклучени цитохром P450 и NADPH).
 2. Оксидација на хидроксилната група
 3. Оксидација на алдехидната група
 4. Активирање на киселината со коензим A, транспорт во митохондријата и β -оксидација.
- Ензим: **оксидази со мешовита функција**
 - Ензим: **алкохол дехидрогеназа**
 - Ензим: **алдехид дехидрогеназа**
 - Краен продукт: дикарбоксилна киселина (пр. килибарна киселина).



β-оксидација во пероксизомите

- Пероксизоми: мембрански затворени органели кај животинските и растителните органели.
- Разлики меѓу оксидацијата во митохондрии и пероксизоми:
 - Разлики во **типот на реакцијата во првиот чекор**
 - Разлика во **специфичноста за ацил-CoA** на масните киселини. Пероксизомалниот систем е **поактивен за долговерижните и разгранетите масни киселини**: тие се катаболизираат до пократки низи и се пренесуваат до митохондриите.
 - Пероксизомите во црниот дроб не содржат ензими за циклусот на лимонската киселина и **не можат да ја катализираат оксидацијата на ацетил-CoA до CO₂**.



Оксидацијата на масни киселини е строго регулирана

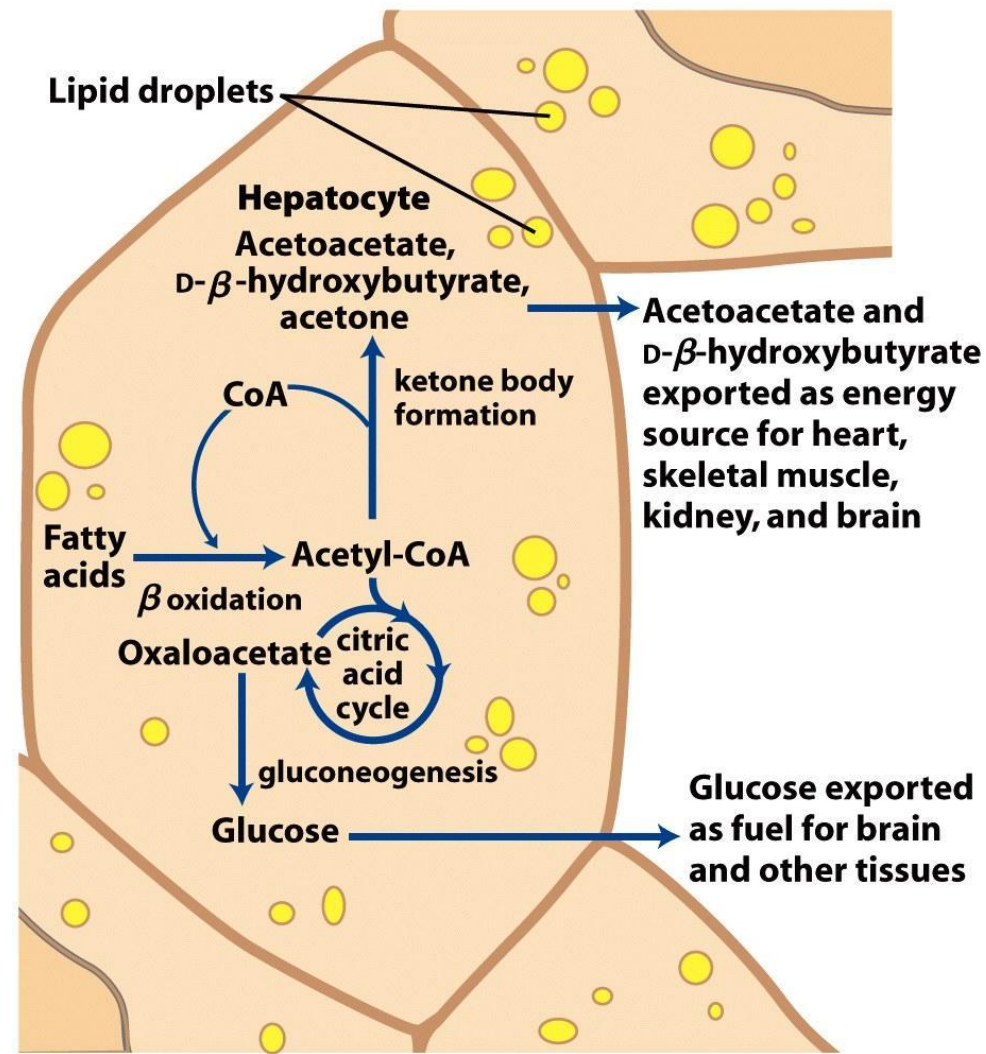
- Образуваниот ацил-СоА во цитосолот може да се вклучи во два главни метаболички патишта:
 - β -оксидација во митохондриите или
 - Преведување во триацилглицероли или фосфолипиди во цитосолот.
- Брзината на оксидација во митохондријата зависи од:
 1. **Тристепениот процес на транспорт со карнитин** кој го регулира преносот на долговерижните ацил-СоА од цитосолот во митохондријата.
 2. Концентрацијата на **малонил-СоА**, првиот интермедијар во синтезата на масни киселини од ацетил СоА, кој го инхибира клучниот регулаторен протеин - ***карнитин ацилтрансфераза I***.

3. Концентрацијата на **метаболитите што сигнализираат енергија** кои влијаат врз активноста на **ензимите за оксидација** во митохондријалниот матрикс.
- Ензимот **β -хидроксиацил-СоА дехидрогеназа** е инхибиран во услови на високи вредности за односот **$[NADH]/[NAD^+]$**
 - Ензимот **тиолаза** е инхибиран при **висока концентрација на ацетил-СоА**.
4. Присуството на **транскрипциони фактори за регулација**, кои можат да го променат бројот на ензимските молекули за оксидација на масните киселини (подолг период).
- **PPAR** (познати како **пероксизомни пролифераторни активирани рецептори**) се фамилија на јадрени рецептори.
 - **PPAR α** се активираат во клетката или организмот при силна потреба за енергија од катаболизмот на масните (помеѓу оброци, долготрајно гладување, интензивно вежбање)

Кетонски тела

Кетонски тела

- Во црниот дроб, образуваниот ацетил-CoA од оксидацијата на масните киселини се вклучува во Кребсовиот циклус или се трансформира до кетонски тела.
- Кетонските тела: ацетон, ацетоацетат и D- β -хидроксибутират, се создаваат во услови на гладување или нелекуван дијабетес, при акумулирање на ацетил-CoA.
- Претставуваат извор на енергија за мозокот, срцето и мускулите.
- Зголеменото образување на кетонски тела кај нелекуван дијабетес или намалено внесување хранливи материи, може да доведе до ацидоза и кетоза.



Создавање на кетонски тела

- Реакциите за образување кетонски тела се одвиваат **во матриксот на митохондриите од црниот дроб**.
- Кондензација на две молекули ацетил-CoA до ацетоацетил-CoA, катализирана од ензимот тиолаза.
- Кондензација на ацетоацетил-CoA со уште една молекула ацетил-CoA, при што се формира **β -хидрокси- β -метилглутарил-CoA (HMG-CoA)**.
- HMG-CoA под дејство на лиазата се разложува до слободен ацетоацетат и ацетил-CoA.
- Со декарбоксилација на ацетоацетат се добива ацетон. (Ензим: декарбоксилаза)
- Со редукција на ацетоацетат се добива D- β -хидроксибутират. (Ензим: дехидрогеназа)

