

**Ricardo Silvestre**  
**Egídio Torrado**  
Editors

# **METABOLIC INTERACTION IN INFECTION**

 Springer

# **МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ**

Под редакцией  
**Рикардо Сильвестре, Эджидио Торрадо**

Перевод с английского под редакцией  
члена-корреспондента РАН **Н.В. Загороднего,**  
**А.В. Цискарашвили, Д.С. Горбатьюка**



**Москва**  
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
**«ГЭОТАР-Медиа»**  
2021

# ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |    |
|---|----|
| Предисловие к изданию на русском языке . . . . .    | 12 |
| Предисловие к изданию на английском языке . . . . . | 14 |
| Авторы . . . . .                                    | 16 |
| Список сокращений и условных обозначений . . . . .  | 20 |

## **ЧАСТЬ I. МЕТАБОЛИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХОЗЯИНА И ПАТОГЕНА . . . . .**

29

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Глава 1. Краткий обзор клеточного метаболизма<br/>(Инес Месквита, Фернандо Родригес) . . . . .</b>            | <b>31</b> |
| 1.1. Основные концепции регуляции клеточного метаболизма . . . . .   | 32        |
| 1.2. Введение в гликолиз . . . . .   | 34        |
| 1.2.1. Усвоение глюкозы . . . . .  | 34        |
| 1.2.2. Гликолитический процесс . . . . .   | 35        |
| 1.2.3. Участь конечных продуктов гликолиза:<br>пирувата и НАДН . . . . .   | 37        |
| 1.2.4. Пентозофосфатный путь, связь с гликолизом<br>и детоксикацией клеток . . . . .                             | 38        |
| 1.2.5. Глюконеогенез . . . . .   | 40        |
| 1.3. Цикл трикарбоновых кислот и окислительное<br>фосфорилирование . . . . .                                     | 41        |
| 1.3.1. Молекулярные механизмы, лежащие в основе<br>цикла трикарбоновых кислот . . . . .                          | 43        |
| 1.3.2. Промежуточные продукты цикла трикарбоновых<br>кислот — важная основа для дальнейшего биосинтеза . . . . . | 44        |
| 1.3.3. Окислительное фосфорилирование . . . . .  | 45        |
| 1.3.4. Восстановление НАД <sup>+</sup> и челночные переходы<br>через митохондриальные мембраны . . . . .         | 46        |
| 1.4. Метаболизм гликогена . . . . .  | 48        |
| 1.4.1. Гликогенолиз . . . . .  | 48        |
| 1.4.2. Гликогенез . . . . .  | 49        |
| 1.5. Метаболизм жирных кислот: баланс между синтезом<br>и окислением . . . . .                                   | 50        |
| 1.5.1. Бета-окисление жирных кислот . . . . .  | 50        |
| 1.5.2. Синтез жирных кислот . . . . .  | 52        |
| 1.6. Аминокислоты . . . . .  | 55        |
| 1.6.1. Деградация аминокислот: связь между циклом<br>синтеза мочевины и циклом трикарбоновых кислот . . . . .    | 56        |

|  |            |
|--|------------|
| 1.6.2. Аминокислоты в перепрограммировании клеточного метаболизма и функции. . . . .   | 57         |
| 1.7. Заключение. . . . .   | 60         |
| Литература . . . . .   | 60         |
| <b>Глава 2. Питание и метаболизм (Стелла Мария Барроуин-Мело, Ядира Алехандра Морехон Теран, Джоанна Антуруаними, Анна Катрина Хельм-Бьоркман) . . . . .</b> | <b>63</b>  |
| 2.1. Введение . . . . .  | 64         |
| 2.2. Аспекты биохимии питания . . . . .  | 65         |
| 2.2.1. Углеводы. . . . .   | 65         |
| 2.2.2. Липиды . . . . .  | 66         |
| 2.2.3. Белки. . . . .  | 68         |
| 2.2.4. Витамины . . . . .  | 70         |
| 2.2.5. Минералы. . . . .   | 92         |
| 2.3. Питание при иммунном ответе и иммунопитание . . . . .   | 112        |
| 2.3. Всасывание питательных веществ и выведение остатков во время заболеваний. . . . .   | 130        |
| 2.4. Нутригенетика и нутригеномика здорового и больного организма . . . . .  | 134        |
| Литература . . . . .   | 138        |
| <b>Глава 3. Взаимодействие между метаболическими сенсорами и сигнализацией иммунных клеток (Прашант Чаухан, Арун Саркар, Бхаскар Саха). . . . .</b>          | <b>186</b> |
| 3.1. Введение: иммунометабомика, продолжение квадрологии омиксных технологий. . . . .  | 187        |
| 3.1.1. Метаболиты управляют специфическим иммунным ответом в иммунных клетках . . . . .  | 189        |
| 3.2. Иммунная регуляция посредством метаболизма глюкозы. . . . .   | 195        |
| 3.2.1. Энергия и распознавание питательных веществ в иммунных клетках: путь к направленному развитию? . . . . .  | 195        |
| 3.2.2. Сенсорное восприятие глюкозы . . . . .  | 196        |
| 3.2.3. Анергию Т-клеток и истощение Т-клеток контролирует гликолиз . . . . .   | 201        |
| 3.3. Метаболические пути иммунных клеток: за рамками гликолиза . . . . .   | 204        |
| 3.3.1. Сенсорное восприятие аминокислот . . . . .  | 204        |
| 3.3.2. Сенсорное восприятие липидов. . . . .   | 208        |
| 3.3.3. Сенсорное восприятие нуклеотидов . . . . .  | 211        |

|   |     |
|---|-----|
| 3.3.4. Сенсорное восприятие энергии . . . . .   | 212 |
| 3.3.5. Сенсорное восприятие кислорода . . . . .   | 214 |
| 3.4. Сигналы иммунных сенсоров: инициирование<br>метаболической коммуникации при адаптивном<br>и врожденном иммунитете . . . . .  | 218 |
| 3.4.1. Дендритные клетки . . . . .  | 219 |
| 3.4.2. Тучные клетки . . . . .  | 221 |
| 3.4.3. Естественные клетки-киллеры. . . . .   | 222 |
| 3.4.5. Нейтрофилы . . . . .   | 223 |
| 3.4.6. Макрофаги . . . . .  | 225 |
| 3.5. Метаболические пути клеток адаптивной иммунной<br>системы и их интегративная сеть. . . . .   | 228 |
| 3.5.1. Сенсор энергии аденозинмонофосфат-зависимой<br>киназы — центральный регулятор поддержания<br>клеточной энергетики . . . . .  | 229 |
| 3.5.2. Метаболическое «перепрограммирование»<br>Т-лимфоцитов: работа из принципа<br>действительной необходимости . . . . .  | 234 |
| 3.5.3. Метаболические преобразования требуют<br>пластичности ответов Т-лимфоцитов . . . . .   | 236 |
| 3.5.4. Роль регуляторов транскрипции в формировании<br>метаболизма Т-лимфоцитов . . . . .   | 243 |
| 3.6. Заключение . . . . .   | 247 |
| Словарь . . . . .   | 248 |
| Литература . . . . .  | 253 |
| <b>Глава 4. Изменения клеточных восстановительно-окислительных<br/>процессов на фоне инфекции и их влияние на гомеостаз<br/>клеток хозяина (Инес Месквита, Баттисте Вергнес,<br/>Рикардо Сильвестре).</b> . . . . . | 285 |
| 4.1. Введение . . . . .   | 286 |
| 4.2. Биосинтетический алгоритм, лежащий в основе<br>выработки НАД <sup>+</sup> и НАДФ <sup>+</sup> . . . . .  | 287 |
| 4.3. Внутриклеточные пулы НАД <sup>+</sup> и НАДФ <sup>+</sup> . . . . .  | 288 |
| 4.3.1. Субклеточная компартментализация НАД <sup>+</sup> . . . . .  | 289 |
| 4.3.2. Субклеточная компартментализация НАДФ <sup>+</sup> . . . . .   | 290 |
| 4.4. Роль НАД <sup>+</sup> и НАДФ <sup>+</sup> при взаимодействии хозяина<br>и патогена . . . . .   | 291 |
| 4.4.1. Обусловленная патогеном модуляция<br>уровней НАД <sup>+</sup> . . . . .  | 292 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.4.2. Действие ферментов, участвующих<br>в метаболизме НАД <sup>+</sup> при иммунном ответе<br>хозяина на инвазивные патогены . . . . .   | 294 |
| 4.5. Обусловленное патогеном изменение уровня НАДФ <sup>+</sup> . . . . .  | 304 |
| 4.6. Заключительные замечания . . . . .  | 307 |
| Литература . . . . .   | 308 |
| <b>Глава 5.</b> Биоэнергетика и динамика митохондрий<br>при инфекционном процессе ( <i>Синтия Соултави, Ясмينا Фортъе,<br/>Калаиселви Сондараморти, Джероме Эстакьер, Мирелль Лафорг</i> ) . . . . . | 317 |
| 5.1. Митохондрии . . . . .   | 318 |
| 5.2. Митохондриальная динамика и воздействие<br>на биоэнергетику. . . . .  | 319 |
| 5.3. Патогены, митохондриальная динамика и биоэнергетика . . . . .   | 322 |
| 5.3.1. Вирусные инфекции . . . . .   | 322 |
| 5.3.2. Бактериальные инфекции . . . . .  | 325 |
| 5.3.3. Паразитарные инфекции . . . . .   | 326 |
| 5.3.4. Особые патогены . . . . .   | 327 |
| 5.4. Заключение . . . . .  | 327 |
| Литература . . . . .   | 329 |
| <b>Глава 6.</b> Вычислительная системная биология метаболизма<br>при инфекции ( <i>Мюберра Фатма Цезур, Эжехан Абдик,<br/>Унзил Говен-Гюльхан, Салиха Дурмус, Тунахан Сакир</i> ) . . . . .          | 335 |
| 6.1. Введение . . . . .  | 336 |
| 6.2. Модели метаболических сетей в масштабе генома<br>при исследовании инфекционного процесса . . . . .  | 337 |
| 6.2.1. Бактериальные патогены . . . . .  | 338 |
| 6.2.2. Простейшие патогены . . . . .   | 357 |
| 6.2.3. Сравнительный анализ различных патогенов . . . . .  | 360 |
| 6.3. Идентификация противоинокционных лекарственных<br>препаратов, сочетающая анализ метаболических путей<br>с анализами, основанными на структуре<br>и последовательностях . . . . .                | 365 |
| 6.4. Сфокусированные на метаболизме полногеномные<br>данные исследований инфекций: метаболом и флюксома. . . . .   | 372 |
| 6.4.1. Метаболомика при исследованиях инфекций. . . . .  | 372 |
| 6.3.2. Флаксомика исследования инфекционного процесса<br>с использованием <sup>13</sup> C-изотопов . . . . .   | 384 |
| 6.5. Заключение . . . . .  | 388 |
| Литература . . . . .   | 390 |

|  |            |
|--|------------|
| <b>Глава 7. Методы диагностики и мониторинга прогрессирования инфекционного процесса, основанные на метаболомике (Мигель Фернандес-Гарсия, Давид Роджо, Фернанда Реу-Столле, Антония Гарсия, Корал Барбас) . . . . .</b> | <b>405</b> |
| 7.1. Введение . . . . .  | 406        |
| 7.2. Схема метаболомики при идентификации биомаркеров . . . . .  | 408        |
| 7.2.1. Схема эксперимента . . . . .  | 409        |
| 7.2.2. Обработка образцов . . . . .  | 410        |
| 7.2.3. Аналитическое измерение . . . . .   | 411        |
| 7.2.4. Обработка данных . . . . .  | 414        |
| 7.3. Схема метаболомики при валидации биомаркеров . . . . .  | 416        |
| 7.4. Биомаркеры инфекционных заболеваний:  |            |
| текущая картина . . . . .  | 417        |
| 7.4.1. Идентификация биомаркеров . . . . .   | 418        |
| 7.4.2. Подтверждение биомаркеров . . . . .   | 441        |
| 7.5. Выводы и перспективы . . . . .  | 443        |
| Литература . . . . .   | 444        |

## **ЧАСТЬ II. МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ МИКРОБОВ И ИЗМЕНЕНИЕ ПАТОГЕНАМИ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТКИ ХОЗЯИНА ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ . . . . . 455**

|  |            |
|--|------------|
| <b>Глава 8. Метаболическая реакция хозяина на внутриклеточные инфекции (Катарина М. Феррейра, Ана Маргарита Барбоса, Инес М. Перейра, Эджидио Торрадо) . . . . .</b> | <b>457</b> |
| 8.1. Введение . . . . .  | 458        |
| 8.2. Метаболическая адаптация клеток хозяина в ответ на воздействие внутриклеточных бактериальных патогенов . . . . .  | 460        |
| 8.3. Управление дифференцировкой клеток, необходимой для контроля над внутриклеточными бактериальными инфекциями . . . . .   | 464        |
| 8.4. Метаболические реакции хозяина на специфические внутриклеточные бактериальные патогены . . . . .  | 467        |
| 8.4.1. <i>Chlamydia trachomatis</i> и <i>Chlamydia pneumoniae</i> . . . . .  | 467        |
| 8.4.2. <i>Coxiella burnetii</i> . . . . .  | 471        |
| 8.4.3. <i>Legionella pneumophila</i> . . . . .   | 475        |
| 8.4.4. <i>Listeria monocytogenes</i> . . . . .   | 477        |
| 8.4.5. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . . . . .   | 480        |
| 8.4.6. <i>Salmonella enterica</i> . . . . .  | 484        |

---

|  |            |
|--|------------|
| 8.5. Заключение . . . . .  | 487        |
| Литература . . . . .   | 487        |
| <b>Глава 9. Ауксотрофия паразитических простейших и метаболические зависимости (Элодие Газанион, Баттисте Вергнес) . . . . .</b>   | <b>502</b> |
| 9.1. Введение . . . . .  | 503        |
| 9.2. Что может секвенирование генома рассказать нам о паразитах и паразитизме? . . . . .   | 506        |
| 9.3. Ауксотрофия паразитических простейших . . . . .   | 509        |
| 9.3.1. Пурины . . . . .  | 509        |
| 9.3.2. Полиамины и аргиназа . . . . .  | 513        |
| 9.3.3. Кофакторы и витамины . . . . .  | 517        |
| 9.3.4. Синтез гема . . . . .   | 525        |
| 9.4. Заключение . . . . .  | 529        |
| Литература . . . . .   | 531        |
| <b>Глава 10. Воздействие вирусов на метаболическую сеть хозяина (Инес Месквита, Джероме Этакьер) . . . . .</b>   | <b>538</b> |
| 10.1. Введение . . . . .   | 539        |
| 10.2. Обмен углеводов . . . . .  | 539        |
| 10.3. Глутаминолиз . . . . .   | 544        |
| 10.4. Метаболизм липидов при вирусных инфекциях . . . . .  | 547        |
| 10.4.1. Роль липидов при взаимодействии вируса и хозяина . . . . .   | 549        |
| 10.4.2. Модуляция метаболизма липидов хозяина в результате инфекции . . . . .  | 550        |
| 10.5. Заключение . . . . .   | 554        |
| Литература . . . . .   | 563        |
| <b>Глава 11. Регуляция метаболических процессов врожденного иммунитета в ответ на грибковые инфекции (Клаудиа С. Родригес, Клаудиа Ф. Кампос, Кристина Кунха, Агостиньо Карвало) . . . . .</b> | <b>570</b> |
| 11.1. Введение . . . . .   | 571        |
| 11.2. Клеточный иммунометаболизм во время грибковой инфекции . . . . .   | 572        |
| 11.2.1. Гликолиз . . . . .   | 573        |
| 11.2.2. Пентозофосфатный путь . . . . .  | 576        |
| 11.2.3. Цикл трикарбоновых кислот и окислительное фосфорилирование . . . . .   | 577        |
| 11.2.4. Метаболизм аминокислот . . . . .   | 579        |
| 11.2.5. Метаболизм жирных кислот . . . . .   | 581        |



|  |     |
|--|-----|
| 11.3. Целенаправленное воздействие на иммунометаболизм<br>хозяина при диагностике и лечении. . . . .   | 583 |
| 11.4. Заключение. . . . .  | 586 |
| Литература . . . . .   | 587 |
| <b>Глава 12.</b> Метаболическое перекрестное взаимодействие<br>между организмом хозяина и паразитарными патогенами<br>( <i>Диана Морейра, Джероме Эстакьер,<br/>Анабела Кордейро-да-Силва, Рикардо Сильвестре</i> ). . . . . | 594 |
| 12.1. Подрыв метаболизма хозяина: стратегия спасения<br>жизни . . . . .  | 594 |
| 12.2. Метаболические контрольные точки хозяина,<br>задействованные в процессе инфекции. . . . .  | 596 |
| 12.2.1. Пути распознавания питательных веществ. . . . .  | 596 |
| 12.2.2. Подрыв путей распознавания питательных<br>веществ хозяина . . . . .  | 602 |
| 12.3. Изменения содержания питательных веществ<br>в организме хозяина во время паразитарных инфекций . . . . .   | 610 |
| 12.3.1. Липиды: контрольный узел метаболической<br>связи хозяина и паразита . . . . .  | 611 |
| 12.4. Заключение замечания . . . . .   | 624 |
| Литература . . . . .   | 628 |
| <b>Глава 13.</b> Микробиом и дисбиоз кишечника ( <i>Жозе Э. Белизарио,<br/>Джозел Фаинтуч</i> ) . . . . .  | 643 |
| 13.1. Введение . . . . .   | 644 |
| 13.2. Микробиота кишечника определяет<br>иммунологические функции хозяина . . . . .  | 646 |
| 13.3. Микробиота кишечника контролирует метаболические<br>состояния хозяина . . . . .  | 649 |
| 13.4. Дисбиоз кишечника индуцирует воспалительные<br>и метаболические заболевания . . . . .  | 651 |
| 13.5. Целенаправленное воздействие<br>на дисбиоз микробиоты кишечника. . . . .   | 659 |
| 13.5.1. Трансплантация фекальной микробиоты . . . . .  | 659 |
| 13.5.2. Пробиотики и пребиотики. . . . .   | 661 |
| 13.5.3. Терапия фагами и система CRISPR/Cas9 . . . . .   | 662 |
| 13.6. Выводы и перспективы. . . . .  | 664 |
| Литература . . . . .   | 665 |

# Глава 1

## Краткий обзор клеточного метаболизма

*Инес Месквита, Фернандо Родригес*

**Аннотация.** Метаболизм — это высококоординированный компонент клеточной жизнедеятельности, включающий последовательные химические преобразования в так называемой метаболической сети. Благодаря этим координированным действиям живые организмы приобретают энергию и строительные молекулы биосинтеза для сохранения клеточного гомеостаза и функции. Метаболизм включает разрушение макромолекул для получения энергии (катаболизм) и/или промежуточных метаболитов, которые затем используются для построения важных структурных единиц для выработки макромолекул (анаболизм). В целом при помощи данных метаболических процессов контролируется энергетический статус клетки: когда энергия, высвобождаемая при катаболических процессах, превышает потребности клетки, происходит накопление метаболитов в виде липидов и гликогена. Подобные явления в значительной степени связаны с генезом метаболических нарушений, например, ожирения. В последние годы мы оказали содействие развитию нового понимания метаболизма посредством идентификации метаболических посредников, которые играют ключевую роль при дифференцировке, пролиферации и функционировании иммунных клеток. Это недавнее

признание влияния метаболизма на иммунный ответ в целом дало начало развитию инновационной области иммунометаболизма. Здесь мы применяем комплексный подход к изучению и описанию метаболизма, заостряя внимание на биохимических принципах, лежащих в основе его регуляции.

**Ключевые слова:** метаболические сети, биосинтетические предшественники, энергия, гомеостаз, метаболические узловые точки, регуляция, иммунометаболизм.

## 1.1. ОСНОВНЫЕ КОНЦЕПЦИИ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА

Метаболизм (или сеть метаболических реакций) основан на энергетических взаимопревращениях компонентов аденилатной системы, состоящей из аденозинтрифосфата (АТФ), аденозиндифосфата (АДФ) и аденозинмонофосфата (АМФ), и/или реакций окисления–восстановления с временным хранением электронов, главным образом в системах никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и/или флавинадениндинуклеотида (ФАД), а также никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ) для управления всеми клеточными потоками метаболитов. Несмотря на несколько исключений, есть основные участники, которые определяют динамический поток метаболитов между разными путями обмена веществ. Эти метаболические «перемычки» постоянно связывают и модулируют специфические пути для сохранения их равновесия. Хотя это часто забывают, неизменно уважаемый принцип Ле Шателье остается основным для поддержания клеточного гомеостаза. Поток метаболитов между путями основан на последовательности реакций, которые поддерживаются в состоянии динамического равновесия. К примеру, известно, что гликолитический путь зависит от наличия НАД<sup>+</sup> в углеводном метаболизме. Как следствие, повышение скорости этого пути должно коррелировать с повышением скорости восстановления НАД<sup>+</sup>. Обычно это происходит посредством утилизации пирувата как конечного акцептора электронов, что приводит к выработке лактата в ходе процесса, именуемого молочнокислым брожением. Подобный процесс обусловлен тем, что скорость аэробного дыхания не в состоянии поддержать скорость пополнения НАД<sup>+</sup> для удовлетворения высоких потребностей в этом промежуточном продукте гликолиза, для обеспечения запросов пополнения АТФ. Несмотря

на то, что процесс протекает преимущественно в анаэробных условиях, внушительное количество новых данных указывает на то, что кислород выступает лишь второстепенным участником этого перекрестного взаимодействия (Cheng et al., 2014; Déry et al., 2005; Jiang, 2017; Jones и Bianchi, 2015; Lunt и Vander Heiden, 2011; Romero-Garcia et al., 2016).

На путь метаболизма, сопровождаемый образованием метаболитов, оказывают сильное влияние несколько факторов:

- аффинность ферментов к субстрату метаболической точки ветвления;
- количество ферментов (взаимосвязанное с максимальной скоростью реакции);
- их посттрансляционная активация/инактивация или посредством ковалентных модификаций, или под действием аллостерических регуляторов.

Учитывая данные факторы, для определения метаболического пути конкретного субстрата важно иметь в виду, что нескольким метаболитам нужно проникнуть в клеточные мембраны и что для тех из них, которые не в состоянии свободно диффундировать через мембраны, необходимы индивидуальные транспортеры. К примеру, НАД<sup>+</sup> не способен к диффузии через мембрану, поэтому он хранится в различных компартментах самой клетки, где основными пулами выступают цитозоль и митохондрии (рассмотрим в главе 4). Таким образом, транспорт-опосредованный поток и противоток окисленных/восстановленных метаболитов сквозь клеточные мембраны (например, малат-аспартатный челночный механизм) позволяют сохранять баланс окисления/восстановления (НАД<sup>+</sup>/НАДН) в компартментах клетки и отвечают за дальнейший ход метаболического процесса в специфических путях.

Всеобъемлющая роль метаболизма в функционировании клеток сподвигла научную общественность более углубленно и подробно изучить основные функции метаболитов, кофакторов и ферментов, участвующих в каждом метаболическом процессе, характерном для различных состояний клеток. Однако при анализе этих данных на клеточном функциональном уровне нельзя оставить без внимания динамическое взаимодействие между несколькими метаболическими узлами, регулирующими функцию и метаболизм клетки. Именно поэтому определение места метаболизма в физиологии и патологии должно основываться на глубоком понимании запутанных связей между всеми метаболическими путями и главными участками их регуляции.

## 1.2. ВВЕДЕНИЕ В ГЛИКОЛИЗ

Гликолиз был первым идентифицированным и наиболее изученным метаболическим процессом благодаря трудам прославленных ученых: Эдуарда Бюхнера, Отто Варбурга и Ханса фон Эйлер-Хельпина. Совершенствование методик в области молекулярной биологии и биохимии предоставило возможность выделить гликолитические ферменты и открыть важные кофакторы, такие как НАД<sup>+</sup>, что углубило знания об этом жизненно важном метаболическом пути.

Гликолиз — это цитозольный метаболический путь, присущий практически всем клеткам, в процессе которого 1 молекула глюкозы под действием ферментов превращается в 2 молекулы пирувата с выделением в результате свободной энергии в виде 2 молекул АТФ и такого же количества молекул НАДН. Скорость клеточного метаболизма глюкозы пропорциональна скорости основных потоков метаболитов в клетке и зависит от ее потребности в АТФ и структурных единицах для анаболических реакций.

### 1.2.1. Усвоение глюкозы

Первым этапом метаболизма глюкозы считают ее поступление в клетку. Ввиду особенностей биохимических свойств молекула глюкозы не диффундирует свободно сквозь клеточную мембрану. Так, в подавляющем большинстве клетки млекопитающих получают глюкозу благодаря облегченной диффузии посредством транспортной системы, относимой к семейству белков-переносчиков ГЛЮТ или SLC2A. В клетках некоторых тканей именно она задает скорость стадии метаболизма глюкозы (Mueckler и Thorens, 2013; Thorens и Mueckler, 2010). Наиболее изученные члены этого семейства от ГЛЮТ-1 до ГЛЮТ-4 обладают различными кинетическими свойствами и регуляторными механизмами.

ГЛЮТ-1 — один из первых выделенных трансмембранных белков-переносчиков глюкозы, в наибольшей степени изучен из всего семейства, его кодирует ген *SLC2A1*. Наряду с ГЛЮТ-3 белок опосредует основной обмен глюкозы в тканях, например, в головном мозге, функционирование которого зависит от катаболизма молекулы последней.

С другой стороны, ГЛЮТ-2 обладает очень низкой аффинностью к глюкозе, поэтому усвоение глюкозы происходит при высоких ее концентрациях.

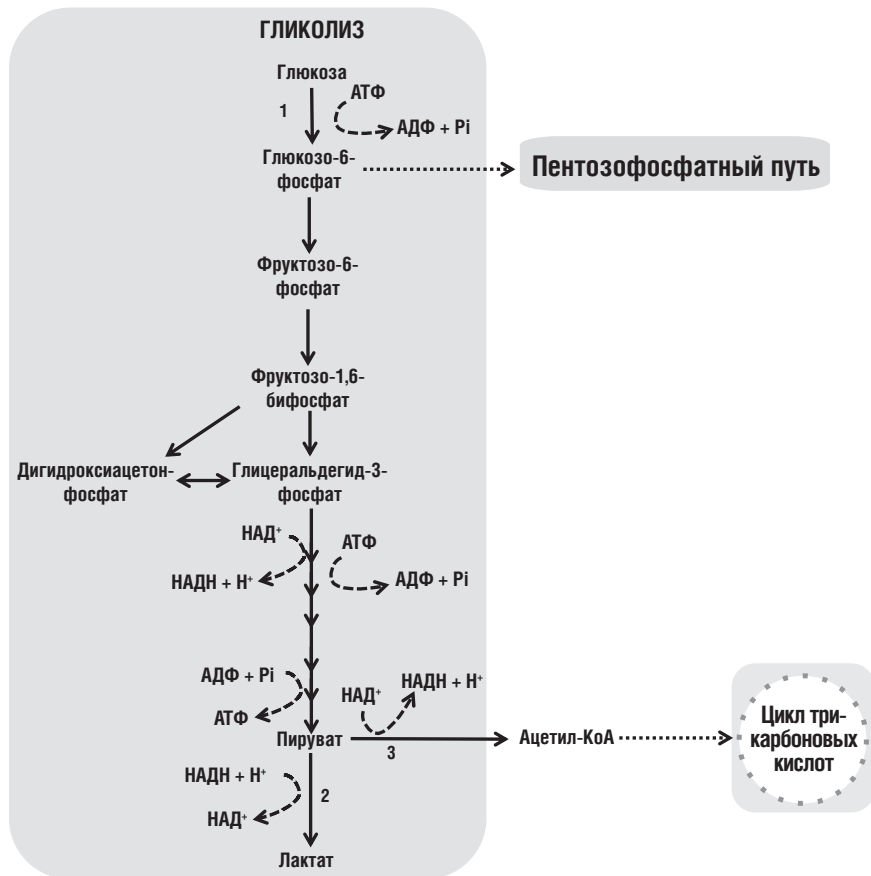
Ген *SLC2A4* кодирует ГЛЮТ-4, который экспрессируют преимущественно адипоциты, клетки скелетных мышц и кардиомиоциты. Интересной особенностью этого транспортера считают то, что в основных условиях ГЛЮТ-4 содержат внутриклеточные везикулы. Однако после инсулиновой сигнализации эти везикулы, содержащие глюкозные транспортеры, сливаются с цитоплазматической мембраной, что способствует поступлению ГЛЮТ-4 во внеклеточное пространство, увеличивая таким образом усвоение и метаболизм глюкозы.

## 1.2.2. Гликолитический процесс

Гликолитический процесс приводит к расщеплению глюкозы — молекулы из шести атомов углерода (С<sub>6</sub>) — на две молекулы пирувата, состоящие из трех атомов углерода (С<sub>3</sub>). Затем пируват может быть включен в разные метаболические процессы (рис. 1.1).

Десять ферментативных этапов, которые управляют гликолизом, происходят в цитозоле, некоторые из них строго регулируются для поддержания адекватного гликолитического процесса (Berg et al., 2002). Первый этап основан на фосфорилировании глюкозы ферментом гексокиназой, ограничивающим скорость процесса, что приводит к образованию глюкозо-6-фосфата.

Быстрое фосфорилирование внутриклеточной глюкозы предотвращает ее отток из клетки, а также обеспечивает ферментативное сохранение высокоэнергетических связей посредством образования сложных эфиров фосфорной кислоты. Кроме того, фосфорильные группы нарушают устойчивость глюкозы и способствуют ее последующему метаболизму. Гексокиназа регулируется посредством отрицательной обратной связи с глюкозо-6-фосфатом, который при высокой внутриклеточной концентрации сигнализирует об избытке клеточной энергии. Затем глюкозо-6-фосфат обратимо изомеризуется во фруктозо-6-фосфат, который может быть дополнительно фосфорилирован фосфофруктокиназой (ФФК) за счет одной молекулы АТФ во фруктозо-1,6-бисфосфат. Необратимый этап, опосредуемый ФФК, — очень важный ритмоводитель гликолиза, и аллостерически положительно регулируется с помощью АМФ и отрицательно — АТФ, фруктозо-2,6-бисфосфатом и цитратом. Этот баланс подчеркивает значение соотношения АТФ/АМФ для скорости гликолиза, а также его регуляции углеродных каналов через окислительное звено пентозофосфатного пути (ПФП) при сохранении пула НАДФН для синтеза жирных



**Рис. 1.1.** Механизм клеточного гликолиза. АДФ — аденозиндифосфат; АТФ — аденозинтрифосфат; КоА — кофермент А; НАД — никотинамидадениндинуклеотид

кислот. В конечном итоге ФФК также способна к косвенному ингибированию гексокиназы. Если ФФК неактивна, происходит накопление фруктозо-6-фосфата и глюкозо-6-фосфата, что ингибирует гексокиназу. Однако эта динамика может колебаться в зависимости от конечного пункта назначения глюкозо-6-фосфата. Несмотря на то, что последний считают важным промежуточным продуктом, поскольку может модулировать гликолитический поток, он может также совершать челночные движения для подпитки гликогенеза и ПФП. Другой необратимый

этап гликолиза опосредован пируваткиназой, когда фосфоенолпируват (ФЕП) превращается в конечный продукт гликолиза — пируват. Действительно, было предположено, что изоформы пируваткиназы поддерживают противоположные энергетические и биосинтетические реакции, тем самым удовлетворяя различные потребности клеточного метаболизма. Как таковая, эта каталитическая активность играет решающую роль в метаболизме энергии и недавно была ассоциирована с пролиферацией клеток и с ростом опухоли (Israelsen и Vander Heiden, 2015; Yang и Lu, 2013).

Несмотря на то, что глюкоза представляет высокоэнергетический субстрат, во время гликолиза выделяется лишь незначительная часть свободной энергии: большая часть остается в конечном продукте — пирувате, требующем дальнейшей катаболизации.

### 1.2.3. Участь конечных продуктов гликолиза: пирувата и НАДН

В организме млекопитающих конечный продукт гликолиза — пируват — может в дальнейшем быть катаболизирован посредством двух основных путей. С одной стороны, пируват может быть окислен в митохондриях, образуя ацетилкофермент А (ацетил-КоА), который поддерживает цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), называемый также лимоннокислым циклом, или циклом Кребса. С другой стороны, пируват может быть восстановлен до лактата. Кроме того, у некоторых беспозвоночных, простейших и микроорганизмов, например, в пивных дрожжах, пируват может быть перенаправлен на выработку этанола и диоксида углерода в ходе процесса, известного как ферментация этанола (Boulton, 1996).

Для сохранения цикла гликолиза должен быть достигнут баланс цитозольного окисления—восстановления (НАД<sup>+</sup>/НАДН). Одним из способов регенерации цитозольного НАД<sup>+</sup> выступают челночные движения к митохондриям (рассмотрено далее в этой главе) либо ферментация под действием лактатдегидрогеназы. В ходе этого процесса пируват превращается в лактат, восстанавливая пул НАД<sup>+</sup>. Считают, что данный процесс происходит, главным образом, при низком давлении кислорода (например, в гипоксической среде), но новые данные указывают на то, что он может протекать и при нормальном давлении кислорода в особых типах клеток и в рамках специфической дифференциальной активации. Несмотря на то, что ферментация пирувата



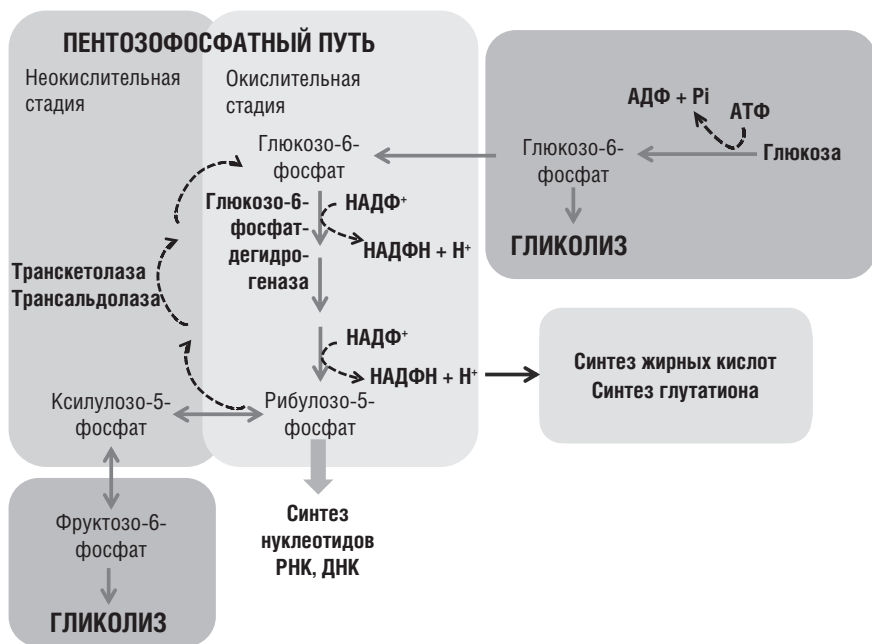
эффективно восстанавливает НАД<sup>+</sup>, в ходе этого процесса выделяется лишь незначительная фракция свободной энергии глюкозы. Выход АТФ через потребление глюкозы ниже в условиях ферментации, чем при дыхании. Однако количество АТФ в единицу времени (скорость) выше в условиях ферментации.

Окислительное декарбоксилирование пирувата в митохондриях под воздействием комплекса пируватдегидрогеназы (ПДГ), необратимая реакция, приводит к образованию ацетил-КоА углеродного субстрата ЦТК (Berg et al., 2002). Кроме того, может также произойти сдвиг пирувата в сторону анаболизма путем трансаминирования пирувата до образования аланина. Тем самым обеспечивается непосредственная связь между метаболизмом аминокислот и углеводов. Помимо всего перечисленного, молекула пирувата в митохондриях может быть подвергнута карбоксилированию с образованием оксалоацетата, в результате которого формируются субстраты для глюконеогенеза или синтеза аминокислот.

#### 1.2.4. Пентозофосфатный путь, связь с гликолизом и детоксикацией клеток

ПФП, известный как гексозомонофосфатный шунт или фосфоглюконатный путь, — это главный, отличный от гликолитического процесс, который сдвигает метаболические реакции к выработке предшественников синтеза нуклеотидов и аминокислот, а также наиболее изученного продукта — кофактора НАДФН (Berg et al., 2002), рис. 1.2.

Функция этого пути состоит в поддержании пролиферации и выживания клеток (Buchakjian и Kornbluth, 2010; Patra и Nay, 2014). Восстанавливающий эквивалент НАДФН — это кофактор биосинтеза жирных кислот и стероидов, играющий также жизненно важную роль в противодействии оксидативному стрессу. ПФП состоит из окислительного и неокислительного этапов. Окислительный этап, катализируемый глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой, декарбоксилирующей глюкозо-6-фосфат, превращает исходный продукт в 2 молекулы НАДФН и одну молекулу рибозо-5-фосфата, приводит к образованию двух молекул НАДФН и одной молекулы рибозо-5-фосфата. Как предполагают, этот этап основан на наличии НАДФ<sup>+</sup> как конечного акцептора электронов, в то время как избыток НАДФН выступает отрицательным регулятором. Неокислительный этап включает серию обратимых реакций, которые перемещают атомы углерода из трехуглеродных



**Рис. 1.2.** Пентозофосфатный путь. АДФ — аденозиндифосфат; АТФ — аденозинтрифосфат; НАДФ — никотинамидадениндинуклеотидфосфат

и шестиуглеродных молекул в молекулы из 5 атомов углерода (и аналогичным образом обратно), в зависимости от клеточной концентрации НАДФН и рибозо-5-фосфата, при этом скорость реакции ограничена транскетолазой и трансальдолазой.

Тщательно регулировано хрупкое равновесие между ПФП и гликолизом. Тогда как рибозо-5-фосфат может вырабатываться для синтеза нуклеотидов, выработка НАДФН поддерживает преимущественно синтез жирных кислот и оказывает важное действие, предотвращая окислительный стресс. В последнем случае 6 молекул рибозо-5-фосфата вырабатывают 2 молекулы глицеральдегид-3-фосфата и 4 молекулы фруктозо-6-фосфата, что и обеспечивает гликолиз. Сохранение гомеостаза окисления—восстановления считают жизненно важным условием выживания клеток, особенно аэробных организмов.

Активные формы кислорода (АФК) постоянно вырабатываются путем неполного восстановления молекулярного кислорода, в результате которого высвобождаются свободные радикалы, такие как суперок-

сид-анион или гидроксильный радикал. Усиление выработки подобных молекул и/или уменьшение элиминации системами детоксикации клеток приводит к молекулярному повреждению нескольких макромолекул, что влечет за собой развитие мутаций и в конечном итоге вызывает гибель клеток (Dan Dunn et al., 2015; Ott et al., 2007). Контроль оксидативного стресса в равновесном состоянии поддерживают несколько систем детоксикации, включающие глутатионредуктазу, которая восстанавливает окисленный глутатион (трипептид со свободной сульфгидрильной группой) при скоординированном действии НАДФН в качестве донора электронов.

Взятые в совокупности описанные данные доказывают, что ПФП важен не только для координации клеточного метаболизма (катаболизма/анаболизма), но и для обеспечения промежуточными продуктами, необходимыми для защиты и детоксикации клеток.

## 1.2.5. Глюконеогенез

Глюконеогенез — это анаболический процесс, в ходе которого происходит синтез глюкозы, главным образом, в печени и в почках. Безуглеводными биосинтетическими предшественниками этого метаболического пути выступают, в основном, лактат, аминокислоты и глицерин, концентрация которых задает скорость глюконеогенезу. Несмотря на то, что гликолиз и глюконеогенез не являются точно противоположными друг другу процессами, у обоих есть несколько общих ферментов, взаимно регулируемых в одной и той же клетке.

Исходными продуктами/субстратами глюконеогенеза выступают молекулы с тремя и более атомами углерода, способные непосредственно вступать в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), или гликолитические промежуточные продукты, например, дигидроксиацетонфосфат. Основные различия между глюконеогенезом и гликолизом состоят в следующем:

- превращение пирувата в ФЕП (опосредованное двумя ферментативными этапами);
- гидролиз фруктозо-1-6-бисфосфата до фруктозо-6-фосфата;
- гидролиз фруктозо-6-фосфата до глюкозы.

Первый этап глюконеогенеза происходит в митохондриях и состоит в карбоксилировании пирувата до оксалоацетата под действием пируваткарбоксилазы за счет одной молекулы АТФ. Затем оксалоацетат может быть расщеплен до ФЕП при участии фосфоенолпируваткарбоксикиназы, которая транспортируется в цитозоль для осуществления

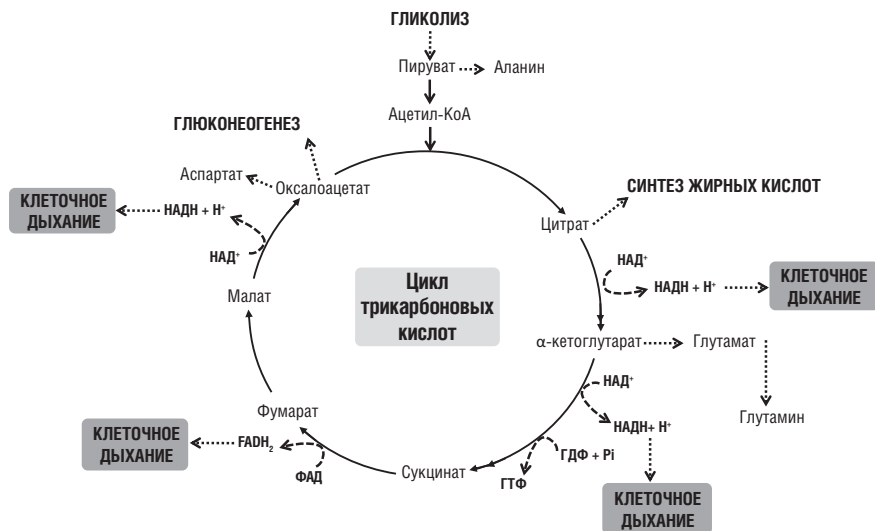
обратимых гликолитических процессов до образования 1,3-дифосфоглицерата (рассмотрено ниже), обеспечивая реакцию, катализируемую глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой. Однако последняя реакция требует редуцирующих эквивалентов на уровне НАДН. В связи с чем существенное значение для глюконеогенеза имеет транслокация редуцирующих эквивалентов из митохондрий (где происходит  $\beta$ -окисление жирных кислот), что ведет к накоплению избыточного количества кофакторов. Таким образом, оксалоацетат, используя образовавшийся избыток митохондриального НАДН, может восстанавливаться до малата, транспортируемого затем в цитозоль.

В цитозоле малат повторно окисляется до оксалоацетата, который в свою очередь под действием фермента фосфоенолпируваткарбоксикиназы одновременно подвергаясь декарбоксилированию и фосфорилированию, образует ФЕП. Затем следует обратимая реакция с преобразованием ФЕП в восходящие промежуточные продукты гликолитического пути вплоть до необратимого превращения фруктозо-1-6-бисфосфата во фруктозо-6-фосфат. Фосфатный эфир при С1 гидролизует фруктозо-1-6-бисфосфатаза, образуя таким образом фруктозо-6-фосфат. После изомеризации последнего субстрата фосфоглюкоизомеразой полученный глюкозо-6-фосфат, расщепляясь глюкозо-6-фосфатазой, связанной с эндоплазматическим ретикулумом, образует глюкозу, необходимую для поддержания уровня концентрации метаболита в плазме крови. Отношение митохондриального транспорта малата или ФЕП, или другого субстрата к цитозолю зависит, главным образом, от наличия цитозольного НАДН.

Этот путь — энергетически затратный, поэтому восполняется  $\beta$ -окислением жирных кислот. Действительно, жирные кислоты быстро мобилизуются под гидролитическим воздействием липаз триглицеридов. Продукты жирных кислот подвержены  $\beta$ -окислению, тогда как образуемый глицерин может быть использован преимущественно для восполнения запасов предшественников глюконеогенеза.

### **1.3. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ**

Цикл трикарбонных кислот — универсальный аэробный метаболический путь полного окисления нескольких макромолекул, включая глюкозу, жирные кислоты и некоторые аминокислоты (Akram, 2014; Citric и Cycle, 2010; Kornberg, 2000), рис. 1.3.



**Рис. 1.3.** Цикл трикарбоновых кислот и интеграция нескольких метаболических путей. ФАД — флавинаденинмононуклеотид; КоА — кофермент А; ГДФ — гуанозиндифосфат; ГТФ — гуанозинтрифосфат; НАД — никотинамидадениндинуклеотид

Вкратце, продукт органического углерода окисляется до ацетил-КоА, который подается ЦТК и полностью окисляется до  $H_2O$  и  $CO_2$ . Освобождаемая энергия сохраняется в виде НАДН и  $НАД\Phi_2$ , а также гуанозинтрифосфата (ГТФ). Восстановленные молекулы высокоэнергетичные, могут быть использованы в качестве субстратов цепочки транспорта электронов, в завершение которой происходит восстановление молекулярного кислорода до  $H_2O$  и построение градиента концентрации протонов вдоль внутренней митохондриальной мембраны (рис. 1.4, см. цв. вклейку).

В дальнейшем энергия данного электрохимического протонного градиента используется АТФ-синтазой в процессе окислительного фосфорилирования для выработки АТФ. Дыхательный контроль гарантирует, что скорость ЦТК соответствует уровням утилизации АТФ клеткой. Вышеуказанные процессы протекают в митохондриях, представляющих клеточные силовые станции и отвечающих за выработку энергии в эукариотических клетках. В то время как ЦТК происходит в митохондриальном матриксе, цепочка транспорта электронов локализована во внутренней митохондриальной мембране. Несмотря на то,

что сочетание двух процессов может привести к полному окислительному катаболизму органического углерода, ЦТК может быть путем, используемым для построения блоков, источником нескольких предшественников на всех этапах биосинтеза, поэтому он назван амфибилическим путем.

### 1.3.1. Молекулярные механизмы, лежащие в основе цикла трикарбоновых кислот

Митохондриальный комплекс, называемый комплексом ПДГ, отвечает за декарбоксилирование пирувата в ацетил-КоА, способствуя превращению атомов углерода пирувата в  $\text{CO}_2$  либо изначальному смещению реакции в сторону синтеза липидов путем экспорта митохондриального цитрата. Поэтому деятельность ПДГ строго регулирована как энергией, так и состоянием окисления—восстановления. Высокие концентрации НАДН, ацетил-КоА и АТФ указывают на высокие уровни энергии и биосинтетических предшественников, действующих как отрицательные регуляторы активности ПДГ посредством активации киназы ПДГ. Между киназой ПДГ и ПДГ при фосфорилировании наблюдают отрицательную обратную связь. С другой стороны, повышение концентрации пирувата сигнализирует о наличии предшественников восполнения ЦТК, в результате чего отрицательно модулируется активность киназы ПДГ, увеличивая поток через ПДГ. Таким образом, скорость ЦТК зависит от клеточных концентраций ацетил-КоА, АТФ и НАДН и регулируется ими, обеспечивая возможность трансляции между биосинтезом и катаболизмом.

Первый этап ЦТК — конденсация ацетил-КоА с оксалоацетатом под воздействием цитрат-синтазы, что приводит к образованию молекулы цитрата, содержащей 6 атомов углерода. Первая главная контрольная точка ЦТК приходится на декарбоксилирование изоцитрата в  $\alpha$ -кетоглутарат ( $\alpha$ -КГ). НАДН и АТФ замедляют данную реакцию, которая при определенных обстоятельствах (избыток пирувата и ацетил-КоА) может быть завершена накоплением цитрата, что активирует синтез липидов. Аллостерическое ингибирование  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы под воздействием сукцинил-КоА и НАДН тормозит ее активность по превращению  $\alpha$ -КГ в сукцинил-КоА. Ингибирование данного этапа восстанавливающими эквивалентами или конечными продуктами обеспечивает наличие метаболических промежуточных продуктов для синтеза аминокислот с помощью

глутаматдегидрогеназы. Сукцинил-КоА в дальнейшем превращается в сукцинат, с образованием ГТФ, а затем углеродный скелет окисляется под воздействием сукцинатдегидрогеназы (комплекс II электронной транспортной цепи — ЭТЦ), образуя фумарат, вновь окисляемый до малата. Конечный промежуточный продукт способен восстанавливать оксалоацетат, тем самым замыкая цикл.

Результат одного оборота ЦТК следующий: 3 молекулы НАДН, 1 молекула ФАДН<sub>2</sub>, 1 молекула гуанозинтрифосфата (ГТФ) и 2 молекулы СО<sub>2</sub>. Каждый из полученных высокоэнергетичных восстанавливающих эквивалентов содержит пару электронов, которые выступают субстратами ЭТЦ.

### 1.3.2. Промежуточные продукты цикла трикарбоновых кислот — важная основа для дальнейшего биосинтеза

ЦТК — это амфиболический путь, генерирующий несколько биосинтетических предшественников для запуска синтеза макромолекул *de novo*. Оксалоацетат и  $\alpha$ -КГ — предшественники синтеза аспартата и глутамата, которые, в свою очередь, могут дать начало другим аминокислотам, таким как аспарагин, аргинин, пролин и глутамин. Кроме того, перечисленные промежуточные продукты могут способствовать синтезу пиримидинов и пуринов — основных структурных единиц нуклеиновых кислот (Lane и Fan, 2015). Помимо всего, возможно превращение оксалоацетата, катализируемое фосфоенолпируваткиназой, в ФЕП, как завершающий этап глюконеогенеза. Удаление сукцинил-КоА отвечает за центральный метаболизм, синтезирующий порфириновые кольца, значимые для выработки гемоглобина (Bonkovsky et al., 2013). Выработка цитратов играет жизненно важную роль в синтезе жирных кислот *de novo*. Однако при удалении из цикла промежуточных субстратов скорость цикла снижается и только при условии восполнения их концентрации возможно восстановление окислительной способности самого цикла. Это превосходное и динамично регулируемое равновесие обеспечивает, главным образом, пируваткарбоксилаза, под действием которой формируется оксалоацетат путем карбоксилирования пирувата и благодаря которой сохраняется гомеостаз промежуточных продуктов метаболического пути трикарбоновых кислот.

### 1.3.3. Окислительное фосфорилирование

Окислительное фосфорилирование — процесс, в ходе которого электроны от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> перемещаются к конечному акцептору электронов кислорода с восстановлением его до воды, инициируя трансмембранный электрохимический протонный градиент ( $\Delta\Psi_m$ ), см. рис. 1.4 на цв. вклейке.

В дальнейшем последний рассеивается в сторону образования АТФ с помощью АТФ-синтазы (Balaban, 1990; Hansford, 2002; Nath и Villadsen, 2015). Путь окислительного фосфорилирования служит основным источником энергии в аэробных микроорганизмах, способствуя синтезу в конечном итоге 26 из 30 молекул АТФ. Они образуются в результате полного окисления 1 молекулы глюкозы в воде и диоксиде углерода, в отличие от 2 молекул, образуемых при ферментации молочной кислоты. Окислительное фосфорилирование протекает в митохондриях, точнее во внутренней мембране. Мембрана имеет складки, и в нее внедрены митохондриальные респираторные комплексы, отвечающие за поток электронов во время дыхания, а также за экстрюзию протонов из митохондриального матрикса.

Во время клеточного дыхания электроны из НАДН перемещаются к конечному акцептору электронов посредством трех основных респираторных комплексов:

- НАДН-Q-оксидоредуктазы (комплекс I);
- оксидоредуктазы Q-цитохрома С (комплекс III);
- оксидазы цитохрома С (комплекс IV).

С другой стороны, ЭТЦ II (комплекс II) — это сукцинатдегидрогеназа, ферментирующая реакцию окисления сукцината до фумарата, непосредственно связывая ЭТЦ с ЦТК. Кроме того, два мобильных переносчика электронов: убихинон и цитохром С отвечают за сложный процесс транспорта электронов от комплексов I и II к комплексу III и от комплекса III к комплексу IV соответственно. Как таковым завершающим этапом ЭТЦ выступает окисление восстановленного цитохрома с последующим восстановлением кислорода до воды, протекающее под контролем цитохромоксидоредуктазы. Выработка АТФ из АДФ происходит при обратном токе протонов в митохондриальный матрикс через пятый комплекс — АТФ-синтазу (или  $F_1F_0$ -АТФазу). Субъединица  $F_1$  отвечает за активность АТФазы, тогда как субъединица  $F_0$  содержит протонный канал, обеспечивающий обратный поток  $H^+$  с откачиванием трех протонов назад в митохондрию, что приводит



к синтезу одной молекулы АТФ. Однако в связи с электроотрицательностью транслокатора АТФ/АДФ суммарная утечка протонов в пересчете на молекулу АТФ эквивалентна четырем протонам. Скорость окислительного фосфорилирования обусловлена клеточным потоком энергии и зависит от наличия высокоэнергетического источника электронов (такого как НАДН и ФАДН<sub>2</sub>), кислорода, АДФ и неорганического фосфата. Однако самым важным регуляторным механизмом окислительного процесса считают внутриклеточную концентрацию АДФ.

В целом движущая сила электронов коррелирует с активностью протонных насосов комплексов I, III и IV, которые выступают генераторами движущей силы митохондриальных протонов  $\Delta\Psi_m$  во внутренней митохондриальной мембране. Рассеивание энергии  $\Delta\Psi_m$  вследствие обратного тока протонов из пространства внутренней митохондриальной мембраны в матрикс в дальнейшем использует АТФ-синтаза для синтеза АТФ из АДФ и фосфата (Senior et al., 2002).

### 1.3.4. Восстановление НАД<sup>+</sup> и челночные переходы через митохондриальные мембраны

Несмотря на непроницаемость митохондриальной мембраны для большинства молекул, обмен некоторыми из них между цитозолем и митохондриями (или наоборот) опосредован транспортными системами, существенно значимыми для метаболического гомеостаза. Некоторые из этих систем используются для транслокации восстанавливающих эквивалентов из цитозоля в митохондриальный матрикс (или наоборот), рис. 1.5, см. цв. вклейку. Так, в клетках некоторых тканей для полного окисления глюкозы до CO<sub>2</sub> необходим значительный перенос восстанавливающих эквивалентов из цитозольного НАДН в митохондрии. Ввиду чего процесс окисления глицеральдегид-3-фосфата под действием фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы требует окисления НАДН до НАД<sup>+</sup> в метаболическом пути гликолиза.

Цитозольный НАДН не может свободно диффундировать через мембраны. В связи с этим в клетках существуют независимые друг от друга цитозольные и митохондриальные пулы НАДН, поэтому электроны перемещаются из восстановленных молекул в несколько окисленных углеродных соединений, которые совершают челночные переходы через мембрану в митохондрии и обратно. Челночный механизм глицерин-3-фосфата осуществляет перенос электронов из НАДН

в ЭТЦ, что способствует регенерации цитозольного НАД<sup>+</sup> и, следовательно, поддержанию гликолитического потока. В первую очередь пара электронов перемещается из цитозольного НАДН в дигидроксиацетонфосфат, в результате образуется глицерин-3-фосфат. Эту реакцию катализирует растворимая изоформа глицерин-3-фосфатдегидрогеназы. Затем происходит обратный процесс превращения глицерин-3-фосфата в дигидроксиацетонфосфат, ферментируемый глицерин-3-фосфатдегидрогеназой в митохондриальном внутримембранном пространстве, с синтезированием ФАДН<sub>2</sub>. Последний затем окисляется до убихинона, который отвечает за транспортировку электронов в митохондриальный комплекс III. Окисленное/восстановленное состояние каждого отсека внутренней митохондриальной мембраны и цитозоля выступает движущей силой электрического потока.

Челночный механизм малата–аспартата предлагает особый способ регенерации НАД<sup>+</sup> при одновременном обмене промежуточными продуктами между цитозолем и митохондриями. В этом челночном механизме участвуют два набора ферментов — малатдегидрогеназа и аспаратаминотрансфераза, каждый из которых локализован в митохондриях, и два митохондриальных носителя ( $\alpha$ -КГ/малата, аспартата/глутамата) с антипортным механизмом. Так, после гликолиза избыток цитозольного НАДН, смещая равновесие цитозольной малатдегидрогеназы от оксалоацетата до малата, восстанавливает НАД<sup>+</sup>. Малат проникает в митохондрии (с экспортом митохондриального  $\alpha$ -КГ), где под действием митохондриальной малатдегидрогеназы распадается на исходные продукты (оксалоацетат и НАДН). НАДН выступает субстратом комплекса I цепочки транспорта электронов. Трансаминирование митохондриального оксалоацетата с глутаматом приводит к получению аспартата и  $\alpha$ -КГ (используемого для проникновения малата в митохондрии). В цитозоле в результате трансаминирования аспартата и  $\alpha$ -КГ образуется исходный оксалоацетат и вновь освобождается глутамат. Антипортный аспартат/глутамат переносит цитозольный глутамат в митохондрии с противотоком митохондриального аспартата. Как описано выше (см. раздел 1.2.3), НАД<sup>+</sup> может также регенерировать посредством ферментации пирувата до лактата с помощью лактатдегидрогеназы. Как и в случае с НАД<sup>+</sup> и НАДН, митохондриальная мембрана непроницаема для АДФ и АТФ. Именно поэтому несущая АТФ АДФ-транслоказа соединяет поток АДФ с АТФ через митохондриальную мембрану, соответственно митохондриальный отток АТФ сопровождает приток АДФ.