

МИНИСТЕРСТВО ПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ им. В.П. Астафьева»
(КГПУ им. В.П. Астафьева)

ФАКУЛЬТЕТ БИОЛОГИИ, ГЕОГРАФИИ И ХИМИИ
Кафедра биологии, химии и экологии
ПАВЛОВА МАРГАРИТА ОЛЕГОВНА

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
**Развивающие занятия для старшеклассников
по митохондриологии**

Направление подготовки: 44.03.01 Педагогическое образование
Направленность (профиль) образовательной программы:
Биология

Д.б.н., проф Антипова Е.М.

ДОПУСКАЮ К ЗАЩИТЕ
Зав. кафедрой биологии, химии и экологии

« ____ » _____ 2024г. _____
(дата, подпись)

Научный руководитель:
к.б.н., доцент Елсукова Е.И.

« ____ » _____ 2024г. _____
(дата, подпись)

Дата защиты « ____ » _____ 2024г.

Обучающийся
Павлова М.О.

« ____ » _____ 2024г. _____
(дата, подпись)

Оценка _____
(Прописью)

Красноярск
2024

СОДЕРЖАНИЕ

<u>Введение</u>	3
<u>Глава 1. Обзор литературы по истории и современным проблемам митохондриологии.</u>	6
<u>1.1. Открытие и основные этапы изучения структуры, функций и происхождения митохондрий</u>	6
<u>1.2. Роль митохондрий в энергетике аэробной клетки</u>	10
<u>1.3. Митохондрии как связующее звено между разными видами обмена</u>	17
<u>1.4. Митохондрии, апоптоз и аутофагия</u>	18
<u>1.5. Динамика митохондрий и функциональное состояние клетки</u>	21
<u>1.6. Происхождение митохондрий</u>	23
<u>1.7. Современные проблемы митохондриологии</u>	25
<u>Глава 2. Материалы к научно-популярной лекции "Митохондрии и медицина будущего"</u>	26
<u>Глава 3. Разработка и апробация практического занятия "Митохондриальная медицина"</u>	40
<u>Выводы</u>	47
<u>Список литературы</u>	49

Введение

Большой объем и систематизация сведений о молекулярных механизмах функционирования клетки на рубеже 20 и 21 вв обеспечило широкие возможности направленного изменения и управления биологическими процессами вплоть до искусственного создания живых клеток (направление синтетической биологии), имитации сложных межклеточных взаимодействий нейронных ансамблей в технических системах. Уже достигнутые и ожидаемые успехи в фармакологии, терапии, профилактической медицине, в агронауке, в сохранении биоразнообразия, в создании систем искусственного интеллекта тесно связаны с развитием биоинженерных технологий. С учетом стремительного развития биотехнологий в 2020 г в поручении президента правительству РФ выдвинута задача создания современной системы подготовки кадров в области молекулярной и клеточной биоинженерии, начиная со школьной скамьи [1].

В настоящее время возник серьезный разрыв между содержанием школьного курса биологии и современным уровнем теории и методологии биологической науки, которая носит выраженный интегративный характер, т.е. описание, классификация, моделирование любого биологического процесса начинается от молекулярно-клеточных физико-химических механизмов. Переход к такому пути биологического познания возможен и необходим в старших классах в разделе общей биологии. Однако даже удачно подобранные учебные материалы, логично составленные системы понятий, в отдельных учебниках по общей биологии из-за недостаточного количества учебного времени не усваиваются в должной степени. Преодолеть разрыв между образованием и современными направлениями, проблематикой биологической науки могут помочь развивающие занятия в рамках кружков, факультативов, научных обществ обучающихся как в

общеобразовательной школе, так и вне ее - в технопарках, кванториумах и других видах образовательной среды.

Митохондриология представляет быстро развивающееся направление биологии клетки. Его главный объект митохондрия – жизненно важный органоид, производящий более 90% свободной энергии эукариотической клетки. Интенсивное изучение митохондрий началось в рамках биоэнергетики в 50-60 г. Хотя механизм трансформации энергии в митохондриях в форме хемиосмотического сопряжения транспорта электронов от окисляемых субстратов и синтеза АТФ был описан уже более полувека назад Питером Митчелом, получены изящные экспериментальные доказательства [1], остается немало «белых пятен». Хемиосмотическая теория продолжает развиваться и обогащаться новыми представлениями о респирасомах, о новых функциях разобщения окислительного фосфорилирования и дыхания, включая митохондриальную теорию происхождения эндотермии [2]. После нобелевской премии 1978 г были открыты еще целый ряд важных функций этой органеллы. Митохондрия представляет своеобразный метаболический хаб, при необходимости (в условиях несбалансированного питания, голода, тренировочного процесса и др) обеспечивающий трансформацию метаболитов одного вида в другой, например, трансформацию углеводов в липиды [3]. Митохондрии ответственны за запуск апоптоза – программируемой клеточной смерти, которая играет важную роль в морфогенезе, в противовирусном и противоопухолевом иммунитете многоклеточных организмов [3]. Накапливаются все новые факты об участии митохондрий во внутриклеточной сигнализации. Открытие в последние годы ведущей роли митохондрий в чувствительности к лекарствам, в процессах старения, апоптозе, нейродегенеративных расстройствах и злокачественной трансформации клеток организма привело к созданию митохондриальной медицины. Важным ее разделом являются болезни, связанные с нарушением

функции митохондрий, - митохондриальные цитопатии []. Таким образом, это современное направление клеточной биологии имеет значительный потенциал для развития интереса, исследовательской мотивации, обучения современному интегративному биологическому мышлению.

Цель работы: разработка развивающих занятий для старшеклассников по современным проблемам биологии митохондрий.

Цель реализовалась через следующие задачи:

1. Подготовить обзор истории и современных проблем митохондриологии по современным литературным источникам.

2. Разработать материалы к научно-популярной лекции «название» (например, «Митохондрии и здоровье» или «Митохондрии и медицина будущего» или «Митохондрии и происхождение эукариот» и пр).

3. Создать методические материалы к практическому занятию «Митохондриальная нутрициология» -медицинские ситуативные задачи по влиянию гиповитаминозов на митохондриальную энергетику.

4. Провести апробацию разработанных занятий для старшеклассников.

1. Методы выполнения работы включали [Образцов, 2004]:

Теоретические: - анализ литературных источников с использованием информационных баз данных..... - анализ, обобщение и систематизация полученной информации.

Психолого-педагогические методы обучения: технологии обучения в сотрудничестве

1 глава

Обзор литературы по истории и современным проблемам митохондриологии

1.1. Открытие и основные этапы изучения структуры, функций и происхождения митохондрий

Одной из характерных черт практически всех эукариотических клеток, помимо наличия ядра, является присутствие митохондрий. В настоящее время с достаточной уверенностью можно охарактеризовать эти органеллы как структуры с червеобразной формой, способные образовывать сложные ветвящиеся сети. На электронных микрофотографиях хорошо заметны две отдельные мембраны, окружающие этот органоид клетки (рис.1.) [Alberts, essentialcellbiology].

внешняя мембрана внутренняя мембрана

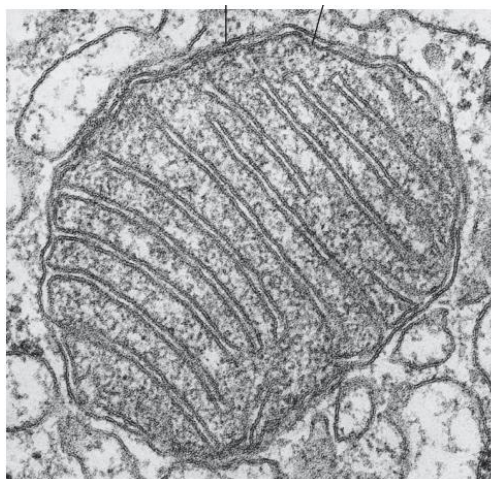


Рис.1. Электронная микрофотография поперечного сечения митохондрии [Alberts]

Изучение этих по-настоящему удивительных органелл началось около 180 лет назад. Различные ученые второй половины XIX века использовали более 10 терминов, описывающих структуры, известные нам сейчас как митохондрии.

Так они были впервые обнаружены Р. А. Келликером в 1850 году в мышцах насекомых и названы саркосомами. Впоследствии они были обнаружены Робертом Гупилем в 1890 году.

Примерно в 1890 году немецкий ученый по имени Рихард Альтман разработал лучший способ сохранения или фиксации тканей, предназначенных для исследования под микроскопом. Он также использовал новую кислотно-фуксиновую окраску тканей для подготовки предметных

стекло. Затем он смог увидеть нити, похожие на цепочки гранул, почти во всех исследованных им клетках. Он назвал эти структуры "биобластами". Альтман предположил, что гранулы являются основными живыми единицами внутри клеток, которые отвечают за метаболические процессы. В самом начале Альтман предположил, что биобласты являются симбионтами. Он считал их способными к основным метаболическим процессам и считал эквивалентными независимо существующим микроорганизмам. Эта теория была отвергнута и забыта до появления работы американского ученого Линн Маргулис в 1960-х годах. Она предположила, что митохондрии возникли из независимо живущих бактерий, которые были поглощены другой клеткой путем эндоцитоза. Эти бактерии приспособились к жизни в качестве эндосимбионтов внутри клеток-хозяев. **Вполне вероятно, предполагаемые симбиотические отношения развились более миллиарда лет назад [4].**

В 1898 году немецкий ученый Карл Бенда опубликовал результаты своих исследований, в которых использовал еще один краситель, кристаллический фиолетовый, для изучения клеток под микроскопом. Он исследовал биобласты, описанные Ричардом Альтманом, и обнаружил структуры, которые иногда выглядели как нити, а иногда как гранулы. Он ввел термин "митохондрия" для их обозначения, что происходит от греческих слов "митос" (нить) и "хондрос" (гранула), причем множественное число - "митохондрии". В 1900 году Леонор Михаэлис опубликовал свои исследования, показывающие, что краситель янус зеленый окрашивает митохондрии в живых клетках, что подтвердило их существование как настоящих структур, а не артефактов, возникших при препарировании.

Немало времени потребовалось и для того, чтобы определить функции митохондрий в клетке. Изначально им приписывали роль в передаче генетической информации. И все же в 1913 году немецкий биохимик Отто Генрих Варбург обнаружил, что гранулярные нерастворимые клеточные субстраты связаны с дыханием. Однако, прежде чем привести

митохондрии к определению «энергетический центр клетки», на протяжении 30-40 лет потребовалось провести огромное количество интенсивных и кропотливых биохимических анализов.

Изучение функций клеточных органелл началось только с появлением и совершенствованием методов их выделения. Первые успехи в выделении интактных митохондрий методом дифференциального центрифугирования были достигнуты в конце 40-х г. В 1948 г. в лаборатории Альберта Ленинджера было установлено, что в аэробных клетках во внутренней мембране митохондрий локализована цепь переносчиков электронов на кислород, и эти органеллы ответственны за синтез АТФ путем окислительного фосфорилирования. Положение переносчиков в ЭТЦ определяется его окислительно-восстановительным потенциалом. Детальный анализ состава, строения и функционирования электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) стал возможен с развитием методов электронной микроскопии, спектрофотометрии, методов полярографического определения скорости потребления кислорода суспензией митохондрий *invitro*. Значительный вклад в эти исследования внесли Дэвид Грин и Бриттон Чанс, Эфраим Рэкер.

Переход электронов от переносчика с более отрицательным редокс-потенциалом к переносчику с более положительным редокс-потенциалом сопровождается выделением энергии. Механизм её использования для синтеза АТФ долгое время оставался неизвестным. В 50-60-е годы многочисленные попытки найти химический агент, связывающий перенос электронов с ферментом, синтезирующим АТФ, не увенчались успехом. В 1961 году английский биохимик Питер Митчелл выдвинул хемиосмотическую гипотезу, которая объясняла механизм сопряжения через создание градиента протонов (H^+) и осмотические силы. В ходе экспериментов с органическими проникающими ионами через внутреннюю мембрану митохондрий советские биохимики Ефим Либерман и Владимир Скулачёв установили и количественно оценили электрическую компоненту протонного градиента ($\Delta\mu H^+$). В 1978г. нобелевская премия Механизм

использования протон-движущей силы для синтеза АТФ был установлен Джоном Уокером и Полом Бойером. (нобелевская премия 1997г).

На рубеже 20 и 21 веков исследования клеточного сигналинга, его участия в динамике клеточных популяций в организме привели к выяснению роли митохондрий в таких процессах как апоптоз и аутофагия, клеточное старение. Современные исследования продолжают изучение структуры, функций и происхождения митохондрий, используя методы молекулярной биологии, генетики и биохимии. В настоящее время митохондриология выделилась в самостоятельное научное направление. Более того, открытие в последние годы ведущей роли митохондрий в чувствительности к лекарствам, их ключевой роли в старении, апоптозе и нейродегенеративных расстройствах привело к созданию митохондриальной медицины [5].

Касательно эволюционного происхождения митохондрий, традиционно рассматривались две альтернативные гипотезы. Первая предполагает, что митохондрии появились внутри одной клетки в результате процесса внутриклеточной компартиментализации и функциональной специализации (аутогенное происхождение), а когда была открыта ДНК в этой органелле, пришлось добавить предположение о том, что генетическая информация из одного ядерного генома распределилась между двумя этими компартаментами [1]. Вторая гипотеза предполагает, что митохондрии возникли в результате симбиотических отношений между протоэукариотической клеткой и просто устроенным прокариотом, способным к окислительному фосфорилированию [2]. На сегодняшний день всерьез рассматривается только вторая гипотеза.

1.2. Роль митохондрий в энергетике аэробных клеток

В митохондриях сосредоточены основные пути окислительного катаболизма, ведущие к генерации двух энергетических валют клетки - электрохимического потенциала H^+ на внутренней мембране (дельта-мю H^+) и аденозинтрифосфата (рис. 1).

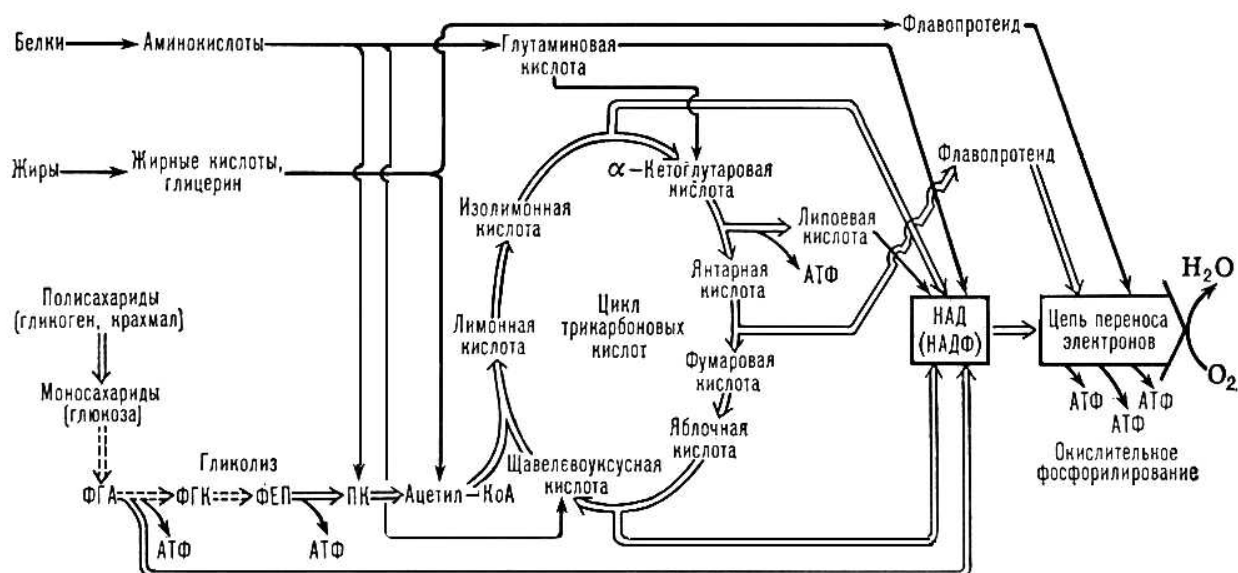


Рис. 1. Общая схема катаболизма[]

В ходе бета-окисления жирных кислот, окислительного декарбоксилирования пирувата и разветвленных аминокислот, образуются ацетильные группы, которые в форме ацетилКоА вступают в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) – общий конечный путь окислительного катаболизма всех видов клеточного топлива в аэробных условиях. В этом цикле освобождаемые в ходе дальнейшего окисления электроны передаются дегидрогеназами на никотинамидные и флавиновые коферменты (никоинамидадениндинуклеотид NAD^+ и флавинадениндинуклеотид FAD соответственно), осуществляющие их транспорт в дыхательную или электрон-транспортную цепь (ЭТЦ). Функциональная группа NAD^+ – никотинамидное кольцо, способное к обратимому присоединению двух электронов и протона H^+ (гидрид-ион H^-), является производным витамина B_3 или ниацина. FAD содержит изоаллоксазиновое кольцо (производное витамина B_2 или рибофламина) и способен в двух положениях обратимо присоединять электроны. FAD присоединяет электроны вместе с H^+ , т.е. в виде одного или двух атомов водорода. В отличие от NAD , слабо удерживаемом дегидрогеназами, способном свободно перемещаться между этими ферментами, FAD более прочно (иногда, как в сукцинатдегидрогеназе ЦТК даже ковалентно) связан со своим ферментом. $NADH$ и $FADH_2$ доставляют электроны в ЭТЦ не только из ЦТК, а также из других

метаболических путей, протекающих как в митохондриях (бета-окисление, пируватдегидрогеназный комплекс) так и в других компартментах клетки. Процесс переноса электронов по дыхательной цепи к конечному акцептору электронов - молекулярному кислороду - сопровождается очень большим уменьшением свободной энергии. Значительная часть этой энергии используется для работы протонных насосов, выкачивающих H^+ из матрикса в межмембранное пространство с образованием электрохимического потенциала H^+ .

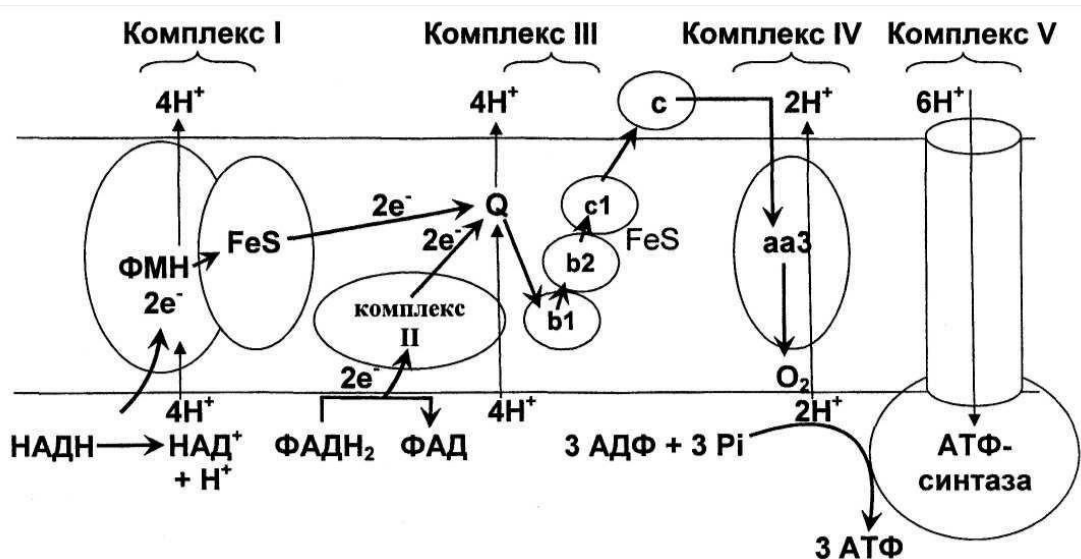


Рис. 3 Схема дыхательной цепи митохондрий

Электрон-транспортная цепь эукариот — цепь белков внутренней мембраны, осуществляющая перенос электронов от окисляемых субстратов к молекулярному кислороду. Важные функционально белки в составе ЭТЦ — это флавопротеины, гемсодержащие цитохромы и железо-серные белки. Эти белки в основном являются интегральными белками, кроме цитохрома c, который локализован на обращенной в межмембранное пространство поверхности внутренней мембраны. Небелковый переносчик — убихинон или коэнзим Q свободно диффундирует в липидном бислое. Как и флавопротеины он способен обратимо присоединять как один (QH-) так и два электрона (QH₂). Переносчики ЭТЦ организованы в форме четырех мультиферментных комплексов, обозначаемых латинскими цифрами. Для определения

последовательности переносчиков в ЭТЦ использовали разнообразные экспериментальные методы: определение окислительно-восстановительных потенциалов, спектрофотометрическое определение окисленных и восстановленных форм переносчиков после добавления специфических ингибиторов отдельных комплексов или доноров электронов отдельных комплексов. Комплексы I (NADH-CoQ-редуктаза) и II (Сукцинат-CoQ-редуктаза) переносят электроны от NADH и сукцината на убихинон. Комплекс III осуществляет транспорт электронов от восстановленного CoQ на цитохром c. Комплекс IV передает электроны на кислород.

В ЭТЦ возможна преждевременная утечка электронов и одноэлектронное восстановление кислорода до супероксид-анионрадикала $\bullet\text{O}_2^-$. Этому способствует замедление электронного транспорта на каком-либо участке ЭТЦ. Скорость-лимитирующим участком является CoQ, осуществляющий перенос путем диффузии. Соответственно, чтобы предотвратить накопление восстановленных форм переносчиков на I и II комплексах и образование супероксида количество молекул CoQ должно существенно превышать другие компоненты ЭТЦ. CoQ синтезируется в организме человека и животных, но скорость его синтеза не всегда соответствует потребностям энергетики, поэтому в последние годы его относят к витаминоподобным веществам и используют как фармакологический агент при угрозе избыточной генерации в ЭТЦ $\bullet\text{O}_2^-$. Супероксид восстанавливается специальным ферментом супероксиддисмутазой до перекиси водорода. H_2O_2 может обезвреживаться каталазой либо ферментами глутатионпероксидазой и глутатионредуктазой. Либо, неферментативно реагируя с Fe^{2+} , H_2O_2 образует еще более опасный гидроксильный радикал, вступающий в реакции перекисного окисления с липидами и белками клетки. Для предотвращения угрозы свободнорадикального и перекисного окисления биомолекул (окислительный стресс) в клетке функционирует сложная система неферментативных и ферментативных антиоксидантов. Возможно, вклад в сдерживание

окислительного стресса вносит перестройка режимов функционирования ЭТЦ.

В последние годы установлено, что переносчики ЭТЦ способны вступать друг с другом в сложные динамические взаимодействия, образуя крупные, супрамолекулярные структуры – суперкомплексы или респирасомы. К наиболее распространённым суперкомплексам относятся комплекс I/III, комплекс I/III/IV и комплекс III/IV. Большинство молекул комплекса II как в растительных, так и в животных митохондриях находится в свободном виде. АТФ-синтаза тоже может мигрировать вместе с другими суперкомплексами, но едва ли она входит в их состав. Условия и механизмы перехода ЭТЦ к функционированию в форме респирасом, функциональная роль респирасом изучаются, но все еще недостаточно выяснены. Недавно выдвинута гипотеза о том, что организация дыхательных ферментов в суперкомплексы сокращает утечку электронов из ЭТЦ, тем самым сдерживая окислительные повреждения и повышая эффективность транспорта электронов [1].

Основной функцией ЭТЦ является превращение энергии транспорта электронов в энергию электрохимического потенциала H^+ . При переносе по ЭТЦ пары электронов от NADH комплексы I и III выкачивают по $4H^+$, IV комплекс выкачивает $2H^+$, т.е. всего $10 H^+$.

Протонный градиент представляет своеобразный резервуар энергии в клетке. Перенос свободной энергии из этого резервуара в другие компартменты клетки осуществляет АТФ, поэтому ее синтез имеет огромное значение для жизнедеятельности клетки.

АТР-синтаза представляет молекулярную машину, обеспечивающую превращение энергии протонного градиента в химическую энергию макроэргической связи АТФ. Фермент состоит из двух многосубъединичных комплексов. F_0 – интегральный белок, пронизывающий внутреннюю мембрану и включающий канал для H^+ . Канал может блокироваться антибиотиком олигомицином. Обращенный в матрикс комплекс F_1 , как-бы

надет на F_0 , и содержит 3 участка связывания ADP и P_i . F_1 был впервые выделен Э. Рэкером. Состав субъединиц, их структура были изучены коллективом Дж Уокера с помощью рентгеноструктурного анализа; Пол Бойер предложил механизм вращательного катализа. Перенос протонов H^+ в матрикс через канал F_0 запускает вращение F_1 , при обороте на 120° меняется конформация нуклеотидсвязывающих субъединиц и происходит освобождение АТФ с одной из них. За полный оборот в 360° АТФ-синтаза освобождает 3 молекулы АТФ. За эти исследования Дж Уокер и П. Бойер были удостоены нобелевской премии по химии в 1997 г. Несмотря на достигнутые успехи в изучении окислительного фосфорилирования, остаются неизвестными многие детали функционирования АТФ-синтазы. Это затрудняет представление стехиометрии процесса. В настоящее время принято, что перенос $3H^+$ через канал АТФ-синтазы требуется для освобождения одной молекулы АТФ; кроме того $1H^+$ используется переносчиком фосфата и адениновых нуклеотидов через внутреннюю мембрану. Если принять, что при переносе пары электронов от NADH на кислород выкачивается $10 H^+$, а от FADH₂ – $6H^+$, этого количества протонов будет достаточно для синтеза 2,5 и 1,5 АТФ. Дробные числа также в расчетах допускается округлять до 3 и 2 АТФ. В соответствие с термодинамическими расчетами эффективность КПД синтеза АТФ составляет около 40%, значительная часть энергии рассеивается в виде тепла.

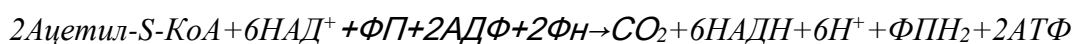
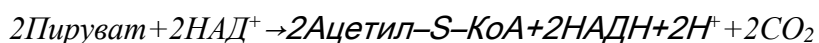
Синтез АТФ – не единственный процесс, идущий за счет энергии электрохимического градиента. В матриксе, где находятся ферменты, участвующие в цикле Кребса и других метаболических реакциях, необходимо поддерживать высокие концентрации различных субстратов. Поэтому через внутреннюю мембрану должны транспортироваться различные несущие заряд субстраты. Их активно перекачивают против электрохимических градиентов встроенные в мембрану белки-переносчики. Энергия электрохимического протонного градиента используется также для переноса в матрикс ионов Ca^{2+} , которые играют важную роль в регуляции

активности многих митохондриальных ферментов. Большое значение имеет поглощение митохондриями этих ионов для удаления их из цитозоля, где высокая концентрация Ca^{2+} является опасной.

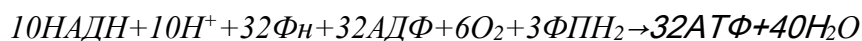
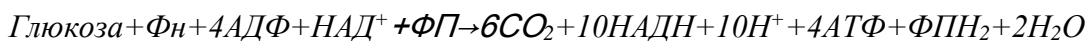
Поскольку работа ЭТЦ сопровождается генерацией не только протонного градиента, но и свободных радикалов кислорода, интенсивность окислительного процесса, окислительного фосфорилирования, скорость потребления кислорода должны строго регулироваться в соответствии с потребностями клетки в энергии. Такая регуляция называется дыхательным контролем. О его существовании в эксперименте можно судить по выраженному влиянию на потребление кислорода митохондриями содержания АДФ. Исчерпание АДФ в системе *in vitro* приводит к резкому замедлению дыхания, при добавлении АДФ скорость дыхания увеличивается почти на порядок. Механизмы дыхательного контроля, вероятно, включают аллостерическую регуляцию лимитирующих ферментов катаболизма, менее ясен вопрос о существовании регуляторных механизмов в работе ЭТЦ.

Таким образом, дыхательная цепь напоминает каскадное устройство, поставляющее клетке свободную энергию удобными для нее порциями.

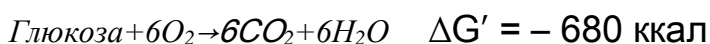
Суммарные реакции аэробного дыхания:



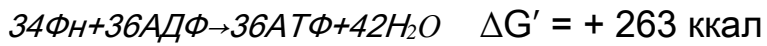
Суммируя три уравнения получим:



Экзергонический компонент:



Эндергонический компонент:



Таким образом, общая эффективность накопления энергии составляет $263/680 * 100 = 39\%$.

АТФ служит источником энергии для всех клеточных процессов, таких как сокращение мышц, синтез белков и передача нервных импульсов. Синтез АТФ – не единственный процесс, идущий за счет энергии электрохимического градиента. В матриксе, где находятся ферменты, участвующие в цикле Кребса и других метаболических реакциях, необходимо поддерживать высокие концентрации различных субстратов. Поэтому через внутреннюю мембрану должны транспортироваться различные несущие заряд субстраты. Их активно перекачивают против электрохимических градиентов встроенные в мембрану белки-переносчики. Энергия электрохимического протонного градиента используется также для переноса в матрикс ионов Ca^{2+} , которые играют важную роль в регуляции активности некоторых митохондриальных ферментов. Большое значение имеет поглощение митохондриями этих ионов для удаления их из цитозоля, где высокая концентрация Ca^{2+} является опасной.

1.3. Митохондрии как связующее звено между разными видами обмена

Митохондрии участвуют в метаболизме углеводов, жиров и белков, обеспечивая клетки энергией и необходимыми строительными блоками.

В эндокринных клетках надпочечников и половых желез митохондрии участвуют в синтезе стероидных гормонов. В этих клетках митохондрии имеют кристы в виде трубочек (тубул), упорядоченно расположенных в определенном направлении. Поэтому кристы митохондрий в стероидпродуцирующих клетках названных органов

именуются тубулярными. Матрикс митохондрии, или содержимое внутренней камеры, представляет собой гелеобразную структуру, содержащую около 50 % белков. Осмиофильные тельца, описанные при электронной микроскопии, — это резервы кальция.

Они также регулируют гомеостаз кальция, рост клеток и деление клеток, а также гибель клеток через апоптоз и аутофагию. Митохондрии играют центральную роль в гомеостазе клеток. Одной из важных функций митохондрий является интеграция метаболических ответов с одним из крупнейших сигнальных путей кальциевой сигнализации. ... Взаимосвязь между эндоплазматическим ретикуломом и митохондриями является ключевой детерминантой клеточных функций и контроля внутриклеточной сигнализации кальция. Ассоциация плазматической мембраны и мембраны эндоплазматического ретикула приводит к формированию специфической комплексной структуры ассоциированной мембраны митохондрий. Идентификация клеточных митохондриальных Ca^{2+} транспортеров и выяснение механизмов их функционирования открывает новые перспективы их использования в качестве мишеней терапевтического воздействия.

1.4. Митохондрии, апоптоз и аутофагия (НЕ ХВАТАЕТ ССЫЛОК)

На сегодняшний день показано существование трех основных форм программированной гибели клетки: апоптоз (I тип ПГК), аутофагия (II тип ПГК), некрозоподобная ПГК (III тип ПГК). Каждый из этих типов гибели клетки характеризуется собственными биохимическими, молекулярными и морфологическими особенностями.

Существует мнение, что «выбор» клеткой активизации механизмов той или иной формы программированной гибели определяется количеством открытых пор в митохондриях. В том случае, если РТР формируются в нескольких митохондриях, в клетке активируется процесс аутофагии. Когда РТР открываются у большего числа митохондрий, в клетке инициируется апоптоз, что, вероятно, является следствием увеличения в цитоплазме

количества цитохрома С и АIF. Наконец, когда в клетке практически во всех митохондриях открываются РТР, происходит разобщение окисления и фосфорилирования и интенсивный гидролиз АТФ митохондриальной АТФ-азой, активизируются механизмы некрозоподобной клеточной гибели (Guimaraes 2004).

Разобщение окислительного фосфорилирования – это состояние, при котором процесс переноса электронов по дыхательной цепи происходит, а синтез АТФ – нет. Разобщители дыхательной цепи – это протонофоры и ионофоры, вещества, способные переносить протоны водорода (H^+) через внутреннюю мембрану митохондрий. В качестве разобщителей могут выступать как синтетические соединения (например, динитрофенол), так и физиологические вещества (например, жирные кислоты и разобщающий белок).

Разобщители окислительного фосфорилирования вызывают утечку H^+ через мембрану, сильно снижая электрохимический протонный градиент. Разобщители нарушают систему сопряжения процессов окисления в дыхательной цепи и фосфорилирования. В этих условиях процесс дыхания происходит неконтролируемым образом, поскольку концентрации ADP или P, не являются лимитирующими.

Значение разобщения окислительного фосфорилирования – термогенез. Энергия электро-химического потенциала рассеивается в виде тепла.

Минимальное количество открытых пор принципиально не влияет на процесс клеточной гибели, при большем количестве.

Апопто́з (др.-греч. «падение», от + «падение») — регулируемый митохондриями процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные апоптотические тельца, ограниченные плазматической мембраной. Фрагменты погибшей клетки обычно очень быстро (в среднем за 90 минут) фагоцитируются макрофагами либо соседними клетками, минуя развитие воспалительной реакции.

Регуляция апоптоза обеспечивается гормонами, цитокинами и в значительной мере особенностями генома. Ослабление или устранение гормональных влияний на клетки - мишени приводит, как правило, к индукции апоптоза. Цитокины - это обширная группа белков, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток при связывании со специфическими рецепторами на клетках мишенях. В зависимости от сигнального пути апоптоза и вовлечения вторичных мессенджеров передачи сигналов различают несколько типов апоптоза: инициируемый свободными радикалами; Fas-индуцированный; NO-зависимый; активируемый при повреждении мембран лизосом; кислород-зависимый; гранзим В-индуцированный; обусловленный стрессом; глюкокортикоид-индуцированный; активационно-индуцированный.

Существуют два хорошо охарактеризованных пути апоптоза: с участием рецепторов клеточной гибели (внешний путь) и с участием митохондрий (собственный путь). Активация каспаз и апоптоз индуцируются связыванием специфических лигандов из группы TNF со своими рецепторами (рецепторы клеточной гибели).

Аутофагия — это процесс утилизации клеточных компонентов, который также зависит от митохондрий [1]. Аутофагия (буквально: «самопоедание») — процесс, при котором внутренние компоненты клетки доставляются внутрь её лизосом или вакуолей и подвергаются в них деградации. При аутофагическом типе клеточной гибели все органеллы клетки перевариваются, оставляя лишь клеточный мусор, который поглощается макрофагами.

Для аутофагии характерно:

- набухание митохондрий и цистерн эндоплазматического ретикулума;
- увеличение аппарата Гольджи;
- секвестрация клеточных органелл аутофагическими вакуолями;
- конденсация хроматина и коллапс ядра.

Компоненты цитоскелета при аутофагии выполняют ключевую роль в захвате цитоплазматических структур лизосомами и сохраняются в течение всего процесса клеточной гибели. Терминальным этапом аутофагии является разрушение клеточных органелл лизосомальными ферментами, следствием чего является деградация клетки. Образующийся после реализации аутофагии клеточный дебрис поглощается соседними клетками.

Митохондрии обычно рассматриваются как пассивные участники этого процесса, однако было обнаружено, что ингибирование комплекса III дыхательной цепи подавляет как общую аутофагию, так и митофагию. Механизм подавления аутофагии связан с нарушением биосинтеза фосфолипидов, который зависит от синтеза пиримидиновых нуклеотидов при участии митохондриального фермента дигидрооротатдегидрогеназы. Таким образом, митохондрии являются одним из ключевых внутриклеточных компонентов, принимающих участие в регуляции аутофагии.

1.5. Динамика митохондрий и функциональное состояние клетки НЕТ ССЫЛОК!!

Митохондриальная динамика связана с такими важными клеточными функциями как метаболизм и аутофагия. Баланс между слиянием и делением митохондрий является составляющим компонентом продукции молекул АТФ в клетках. Современные данные свидетельствуют о существенном значении динамических изменений митохондрий, как при восстановлении повреждения, так и при прогрессировании заболеваний.

Митохондрии – одни из самых важных органоидов клетки, которые выступают в качестве мотора, генерирующего большинство АТФ-молекул и оказывающего значительное влияние на многие другие процессы клеточной жизни. Одним из ключевых аспектов функционального состояния митохондрий является их динамика, которая обеспечивает баланс между митофагией и митогенезом, управляя обновлением и количеством органоидов внутри клетки.

Динамика митохондрий включает в себя процессы, связанные с делением, слиянием, перемещением и утилизацией органоидов. Она регулируется специальными белками, такими как динамин, физины и оптинал с точной настройкой на необходимые условия, такие как ресурсы, интенсивность метаболизма и степень повреждения ДНК.

Основными механизмами фрагментации митохондрий являются фрагментация, которая возникает в результате образования жгутиков вокруг Органоидов и дальнейшего деления в одном из этих мест, а также простое расщепление и более сложные варианты, как например деление в месте контакта между митохондриями, которое требует значительного усилия механизмов регуляции. Слияние митохондрий в свою очередь возникает благодаря конвергенции их внешней оболочки, формированию каналов фьюзина, а также еще многим другим поставленным задачам великим силам циклов митохондрий.

Когда клетки испытывают стрессы метаболизма или окружающей среды, слияние и деление митохондрий работают для поддержания функциональных митохондрий. Увеличение активности аппарата слияния митохондрий приводит к удлинению митохондрий, тогда как увеличение активности деления приводит к фрагментации митохондрий. Компоненты этого процесса могут влиять на запрограммированную гибель клеток и приводить к нейродегенеративным расстройствам, таким как болезнь Паркинсона. Такая гибель клеток может быть вызвана нарушениями в процессе либо слияния, либо деления.

Формы митохондрий в клетках постоянно меняются в результате сочетания деления, слияния и подвижности. В частности, слияние помогает модифицировать стресс путем интеграции содержимого слегка поврежденных митохондрий в качестве формы комплементации. Обеспечивая генетическую комплементацию, слияние митохондрий позволяет двум митохондриальным геномам с разными дефектами в пределах одной органеллы индивидуально кодировать то, чего не хватает в

ругой. При этом эти митохондриальные геномы генерируют все необходимые компоненты для функциональной митохондрии.

Одним из важных механизмов регулирования динамики митохондрий является митофагия, механизм, позволяющий утилизировать поврежденные или избыточные органоиды. Этот процесс построен на принципах автофагии, при которых митохондрии, потерявшие свою функциональность или подвергшиеся серьезным воздействиям окружающей среды, разлагаются в специальных лизосомах клетки и используются как источник энергии и сырье для новых митохондрий.

Чрезмерная фрагментация митохондрий или их образование может привести к возникновению стресса в клетке, что в свою очередь может вызвать серьезные нарушения в функционировании органоидов и нарушения обмена веществ внутри клетки. Например, признаком экзогенного стресса является избыточное **расщепление** митохондрий, что приводит к быстрой утилизации АТФ и высвобождает свободные радикалы.

Нарушения в структуре и функционировании митохондрий могут привести к различным заболеваниям, таким как митохондриальная недостаточность, болезнь Альцгеймера и другие. Патологии подразделяют на первичные, связанные с мутациями мтДНК, и вторичные, которые обусловлены повреждением ядерной ДНК. Болезни отличаются клиническим полиморфизмом, чаще всего они поражают скелетную мускулатуру, нервную и сердечно-сосудистую систему.

1.6. Происхождение митохондрий НЕТ ССЫЛОК

Митохондрии имеют двойную мембрану и собственный геном, что указывает на их происхождение от древних прокариотических организмов. Гипотезу о происхождении митохондрий и растительных пластид из внутриклеточных бактерий эндосимбионтов высказал Р. Альтман ещё в 1890 году.

Суть её такова: с появлением фотосинтезирующих бактерий в атмосфере Земли накапливался кислород — побочный продукт их метаболизма. С ростом его концентрации усложнялась жизнь анаэробных гетерофобов, и часть из них для получения энергии перешла от бескислородного брожения к окислительному фосфорилированию.

Наиболее обоснованной является теория последовательных эндосимбиозов. Согласно этой теории, возникновение эукариотической клетки прошло через несколько этапов симбиоза с другими клетками. На первом этапе клетки, похожие на анаэробные гетеротрофные бактерии, включили в себя свободноживущие аэробные бактерии, которые затем превратились в митохондрии. Параллельно этому в клетке-хозяине прокариотический генофор отделился от цитоплазмы, образовав ядро. Так появилась первая эукариотическая клетка, которая была гетеротрофной. Далее эукариотические клетки путем повторных симбиозов включили в себя синезеленые водоросли, что привело к появлению структур, подобных хлоропластам. Таким образом, митохондрии уже присутствовали в гетеротрофных эукариотических клетках, когда те в результате симбиоза приобрели пластиды. Впоследствии, в ходе естественного отбора, митохондрии и хлоропласты утратили часть своего генетического материала и стали структурами с ограниченной автономией.

Доказательства эндосимбиотической теории:

1. Сходство структуры и энергетических процессов у бактерий и митохондрий, с одной стороны, и у синезеленых водорослей и хлоропластов, с другой стороны.

2. Митохондрии и пластиды имеют собственную специфическую систему синтеза белков (ДНК, РНК, рибосомы). Специфичность этой системы заключается в автономности и резком отличии от таковой в клетке.

3. ДНК митохондрий и пластид представляет собой небольшую циклическую или линейную молекулу, которая отличается от ДНК ядра и по

своим характеристикам приближается к ДНК прокариотических клеток. Синтез ДНК митохондрий и пластид не зависит от синтеза ядерной ДНК.

4. В митохондриях и хлоропластах имеются и-РНК, т-РНК, р-РНК. Рибосомы и р-РНК этих органоидов резко отличаются от таковых в цитоплазме. В частности рибосомы митохондрий и хлоропластов, в отличие от цитоплазматических рибосом, чувствительны к антибиотику хлорамфениколу, подавляющему синтез белка у прокариотических клеток.

5. Увеличение числа митохондрий происходит путем роста и деления исходных митохондрий. Увеличение числа хлоропластов происходит через изменения пропластид, которые, в свою очередь, размножаются путем деления.

Эта теория хорошо объясняет сохранение у митохондрий и пластид остатков систем репликации и позволяет построить последовательную филогению от прокариот к эукариотам.

1.7. Основные проблемы современной митохондриологии

Основными проблемами митохондриологии на сегодняшний день являются методологические, связанные с тем, что превалирует изучение митохондриальной деятельности на моделях, далеких от реального функционирования митохондрий в клетке, органе и организме. Противоречивое поведение митохондрий в клетке («друзья и враги») в какой то мере, вероятно, обусловлено предполагаемым бактериальным происхождением митохондрий с возможным сохранением «эгоистических» начал, присущих бактериям.

Что касается медицинских проблем, сохраняется проблема дифференциальной диагностики первичного митохондриального заболевания с фенотипически схожими состояниями. Разработаны международные диагностические критерии. Диагноз первичного митохондриального заболевания ставится при наличии у пациента двух основных или одного основного и двух дополнительных критериев.

Несмотря на значительный прогресс в диагностике и понимании молекулярного патогенеза данной группы заболеваний, в настоящее время этиотропное лечение митохондриальных болезней отсутствует. Проводится патогенетическое и симптоматическое лечение, в некоторых случаях применяется хирургическое вмешательство.

Глава 2. Материалы к научно-популярной лекции "Митохондрии и старение"

Лекция разработана для учащихся 10-11 классов, которые интересуются современными направлениями в биологии. Она освещает такой раздел клеточной биологии как митохондриология в свете ее современных проблем, связанных с медициной и геронтологией.

Основная цель лекции: познакомить учащихся с современной митохондриологией и ее применением в медицине. Развить научную любознательность и интерес к биологической науке.

План лекции:

- Введение «сказка о старости»
- Историческая и биологическая справка
- Митохондриальная медицина
- Мутации митохондрий – начало конца
- Теории старения
- Старение как болезнь
- Как улучшить здоровье митохондрий

Текст лекции:

В поисках от старости лекарства
Дед забрёл в заоблачное царство.
Там, запрос услышав, удивились:
-Возраст свой озвучь нам, сделай милость.
-Сто девятый год я добираю.
-Старый, отправляйся к дверям Рая,
Может, там найдёшь, за чем явился.
Побывав в Раю, дед удалился,
Констатировав в деталях, да, и в общем:
Выдают лекарства лишь усопшим.
И подобный был ответ в Аду.
Дед тогда решил: -Домой пойду!
Раз такой в лекарствах недостаток,
Проживу без них ещё годков десяток.

Время мчит, бежит за годом год.

Слухи ходят – дед ещё живет.

На протяжении очень многих лет человек стремится найти волшебное «лекарство от старости». Каждому из ныне живущих тяжело принять тот факт, что рано или поздно, наше тело становится некрасивым, болезненным, беспомощным и стремится к угасанию. Несмотря на значительный прогресс в изучении клетки и организма в целом до сих пор нет окончательного и убедительного ответа на вопрос о ключевом механизме старения. Чем выше скорость обмена веществ, тем быстрее старение и больше уязвимость перед дегенеративными болезнями. При сравнительно более низкой скорости метаболических процессов организм в процессе старения проходит те же самые этапы, которые просто растянуты по времени. Накопившиеся наблюдения о связях между размерами тела, продолжительностью жизни и интенсивностью метаболизма у млекопитающих, о клеточных источниках свободных радикалов кислорода привели к повышенному интересу ученых к митохондриям. Попробуем поближе познакомиться с этими удивительными органеллами, ведущими свое начало от древних аэробных микроорганизмов, способных к относительно автономному от ядерного генома размножению в клетке. Митохондрия, как вы уже, вероятно, слышали, имеет свою собственную ДНК, белоксинтезирующий аппарат.

Изучение митохондрий началось примерно с 1850 года, когда их обнаружил Р.А. Келликер. Однако название им было дано лишь 1898 году Карлом Бенда. Впоследствии митохондриология стала самостоятельным научным направлением, и даже появилось такое направление, как митохондриальная медицина. Возникновение этого направления науки возникло благодаря открытию роли митохондрий в различных процессах.

В каких именно процессах участвуют митохондрии?

Из школьного курса Вы знаете, что митохондрии называют силовыми станциями клетки, потому что они ответственны за синтез АТФ – молекулы,

обеспечивающей перенос энергии в клетке. Источником энергии для образования макроэргической связи в АТФ являются реакции окислительного катаболизма. Путь освобождающихся при окислении электронов к кислороду проходит через сложную цепь из многих переносчиков во внутренней мембране митохондрий. Именно такое ступенчатое высвобождение энергии небольшими порциями отличает окисление органических веществ в клетках организма от процесса горения и дает возможность рационально использовать эти порции энергии. Среди этих переносчиков можно найти такие, которые образуются из хорошо знакомых нам витаминов, таких как витамин В2, В3, коэнзим Q; а также микроэлементы железо в составе железо-серных белков и гемсодержащих белков цитохромов и медь в составе цитохромоксидазы, непосредственно передающей электроны на кислород. Кстати говоря, хочется вспомнить еще несколько витаминов, участвующих в предшествующих ЭТЦ реакциях катаболизма в митохондриях. Это тиамин или В1 в активном центре фермента, окисляющего пируват; витамин В5 или пантотеновая кислота, осуществляющая перенос образующихся при этом окислении и при окислении жирных кислот ацетильных остатков в цикл трикарбоновых кислот. Это, наконец, карнитин – переносчик на окисление жирных кислот во внутренней мембране митохондрий. Освобождающиеся в ЭТЦ порции электрической энергии сначала используются специальными мембранными белками-насосами для выкачивания из матрикса протонов водорода. Градиент протонов водорода на внутренней мембране и является той физической силой, которая запускает синтез АТФ в активном центре фермента АТФ-синтазы. *Демонстрируется учебное видео HarvardX: Cell Biology: Mitochondria (<https://www.youtube.com/watch?v=LQmTKxl4Wn4>).* Этот процесс иногда уподобляют работе гидроэлектростанции – свободно падающий из водохранилища поток воды заставляет вращаться турбину, вырабатывая электрическую энергию. Поток протонов через канал АТФ-синтазы во внутренней мембране обеспечивает вращение субъединиц ее

активного центра и высвобождение из него АТФ. Энергия протонного градиента используется не только для синтеза АТФ, но и для транспорта в митохондрию необходимых для этого синтеза остатка фосфорной кислоты и АДФ, причем переносчик обменивает АТФ на АДФ, а также для транспорта через митохондриальную мембрану многих других необходимых для здорового метаболизма веществ.

В некоторых типах клеток митохондрии выполняют специализированные функции. Например, в эндокринных клетках надпочечников и половых желёз митохондрии участвуют в синтезе стероидных гормонов. Особый интерес представляют митохондрии бурой и бежевой жировых тканей. В этих митохондриях содержание АТФ-синтетазы снижено, кроме того содержится особый переносчик протонов в матрикс – разобщающий белок. Поскольку через канал этого белка H^+ движутся в матрикс, не выполняя какой-либо химической или другой работы, вся энергия протонов превращается в тепло. Именно этот механизм ответственен за защищающий от переохлаждения недрожательный термогенез у млекопитающих, включая человека. Медиками он рассматривается и как возможное перспективное средство для сжигания избытков жира у страдающих тяжелыми формами ожирения, а также для других метаболических расстройств.

Таким образом, нарушения работы митохондрий, снижение их количества чревато самыми серьезными последствиями для клеток, прежде всего энергодефицитом. С другой стороны именно митохондрии – основной источник свободных радикалов кислорода. Это продукты преждевременного одноэлектронного восстановления кислорода обладают высокой реакционной способностью и поэтому способны запустить побочные зачастую вредные для здоровья реакции в наших клетках. Свободные радикалы запускают перекисное окисление белков, мембранных липидов, повреждают макромолекулы и клеточные мембраны. Хотя в митохондриях имеются специальные ферменты для нейтрализации свободных радикалов, а

также неферментативные ловушки свободных радикалов – антиоксиданты, при определенных условиях продукция свободных радикалов нарастает, некоторые из них способны переходить через мембрану митохондрии. В этих случаях говорят об окислительном стрессе. Серьезные повреждения митохондриальных мембран вызывают освобождение относительно слабо удерживаемого на поверхности внутренней мембраны цитохрома с. Это сигнал к запуску апоптоза клетки. Напомню, что апоптоз – это вид клеточной смерти, запускаемый включением особой генетической программы. Более щадящий ответ на свободнорадикальное и перекисное окисление представляет разновидность аутофагии – митофагия, т.е. удаление дефектных с высокой скоростью генерации свободных радикалов митохондрий.

Усиление генерации свободных радикалов наблюдается при замедлении скорости транспорта электронов в ЭТЦ. При наличии «пробок» в ЭТЦ электроны имеют возможность преждевременно взаимодействовать с кислородом. Хотя специальные регуляторные механизмы координируют скорость электронного транспорта и потребление кислорода клеткой, приводят их в соответствие с энергетическими потребностями клетки, в этом эволюционно отлаженном механизме возможны сбои. Например, этот механизм не успевает ускорить работу ЭТЦ сразу после гипоксии, когда поток кислорода устремляется в клетку. В таком случае говорят о реперфузионном механизме генерации свободных радикалов. Согласно митохондриальной теории старения, изначально разработанной австралийским профессором Энтони Линаном в конце 80-х гг. прошлого века, митохондрии — главный источник появляющихся в организме свободных радикалов. В ходе таких случайных событий из-за их ускоренной продукции, возможно повреждение митохондриальной ДНК (мтДНК) и накопление дефектных митохондрий. В отличие от ядерной ДНК, митохондриальная ДНК незащищена слоем гистонов; ее восстановительные механизмы очень несовершенны. Таким образом, разрушение входящих в

мтДНК генов — лишь дело времени, а это неизбежно ведет к нарушению функционирования ЭТЦ и окислительного фосфорилирования.

Последствия мутаций мтДНК проявляются в связи с изучением митохондриального генома. Термин «митохондриальная медицина» возник изначально в связи с наследственными митохондриальными заболеваниями. В клинической генетике выделяют более 150 вариантов таких заболеваний, но по мере усовершенствования методов диагностики их число продолжает увеличиваться. Прежде всего страдают органы с высоким содержанием митохондрий – головной мозг, скелетная мускулатура.

Итак, цепь событий выглядит примерно так: свободные радикалы разными путями выскальзывают из респираторной цепи (ЭТЦ) и атакуют митохондриальную ДНК, находящуюся в непосредственной близости от них, что ведет к мутациям, которые могут нарушить работу внутриклеточного генератора энергии. По мере увядания и гибели митохондрий клетка как целое также лишается жизнеспособности и перестает выполнять свои функции. Утратив источник энергии, клетка вступает в процесс апоптоза. Когда таких клеток становится много, начинается разрушение той или иной ткани (того или иного органа). Нарастание случайных мутаций митохондрий в организме ведет к биоэнергетической мозаике, при которой разные клетки производят разное количество АТФ в зависимости от степени дисфункции своих митохондрий. Причем в разных клетках проявления митохондриальной дисфункции разнообразны. Они могут включать генетические мутации митохондриальных ферментов, белковых субъединиц комплексов цепи переноса электронов, респирасом, нарушение митофагии, фрагментации и слияния митохондрий, а также нарушения работы системы контроля качества митохондриального протеома, т.е. транскрипции, транспорта белков их сворачивания и сборки белковых комплексов. Кроме того, существуют мутации в любом из ферментов цикла Кребса или бета-окисления, мутации в разобщающих белках.

Что мы можем сделать, чтобы сберечь свои митохондрии и сохранить в оптимальном состоянии клеточную биоэнергетику?

В начале лекции обсуждалась значение некоторых витаминов, неорганических ионов для оптимального функционирования митохондрий. К этому списку мы можем добавить антиоксиданты: альфа-токоферол, карнозин.

Упражнения на выносливость стимулируют митохондриогенез в скелетных мышцах, нервных центрах головного и спинного мозга увеличивают дыхательную способность, усиливают окисление жиров, увеличивают выработку митохондриальной марганцево-супероксиддисмутазы (MnSOD) и глутатионпероксидазы (GSH px), что приводит к общему в них увеличению антиоксидантной активности и снижению перекисного окисления липидов. Другими словами: если вы мало двигаетесь, количество ваших митохондрий уменьшается, если вы много занимаетесь спортом, оно увеличивается. Таким образом, люди, которые регулярно тренируются, помимо прочего, имеют больше энергии.

В последние годы значительное внимание митохондриологов привлекают холодовые тренировки. Тренировка холодом (закаливание) усиливают в клетках жировых и мышечных тканей синтез активатора транскрипции многих митохондриальных генов PGC-1, связанных с ферментами липолиза, окисления жирных кислот, ЦТК. Интенсификация этих метаболических путей препятствует перераспределению триглицеридов из жировых клеток в другие ткани.

Расширить знания о природе митохондрий, начиная с вопросов их эволюционного происхождения и кончая участием в развитии целого ряда заболеваний, в процессах старения и смерти, получить научно обоснованные рекомендации по питанию и образу жизни, который поможет продлить жизнь ваших митохондрий, вы можете, прочитав книги «Эгоистичная митохондрия. Как сохранить здоровье и отодвинуть старость» Ли Ноу.

3 глава

Разработка и апробация практического занятия "Митохондриальная медицина"

На основе того, что мы с вами узнали о митохондриях в ходе прошедшей научно-популярной лекции, я подготовила для вас несколько практических задач, которые предлагаю решить для закрепления материала.

Для начала предлагаю рассмотреть задания из ЕГЭ, связанные с митохондриями и клеточным дыханием:

1. Общая масса митохондрий по отношению к массе клеток различных органов крысы составляет: в поджелудочной железе – 7,9%, в печени – 18,4%, в сердце – 35,8%. Почему в клетках этих органов различное содержание митохондрий?

Ответ

1) митохондрии являются энергетическими станциями клетки, в них синтезируются и накапливаются молекулы АТФ;

2) для интенсивной работы сердечной мышцы необходимо много энергии, поэтому содержание митохондрий в ее клетках наиболее высокое;

3) в печени количество митохондрий по сравнению с поджелудочной железой выше, так как в ней идет более интенсивный обмен веществ

2. На каком этапе энергетического обмена происходит окислительное фосфорилирование? В чем заключается его биологический смысл? Какие продукты образуются в результате этого процесса?

Ответ

1) кислородный (аэробный) этап энергетического обмена;

2) электроны от окисляемых субстратов переносятся НАДН и ФАДН₂ а затем переносчиками электрон-транспортной цепи на кислород;

энергия, освобождаемая электронами при их транспорте, превращается в энергию градиента протонов водорода;

протонный градиент обеспечивает работу АТФ-синтазы (фосфорилирование АДФ до АТФ);

5) вода и АТФ.

3. Известно, что реакции метаболизма ускоряются ферментами. К каким последствиям приведёт снижение активности ферментов, участвующих в кислородном этапе энергетического обмена животных?

Ответ

- 1) скорость реакций кислородного дыхания замедлится;
- 2) клетки будут получать энергию только за счет бескислородного дыхания (гликолиза, брожения);
- 3) клетки будут испытывать недостаток энергии;
- 4) в клетках накопятся продукты брожения (лактат; молочная кислота), отравляющие клетку.

- Взрослый здоровый мужчина с массой тела 70 кг получает с пищей около 2000 ккал/сут. Рассчитайте в молях, в граммах и в % от массы тела - какое количество АТФ его организм синтезирует в сутки при условии, что эффективность превращений энергии питательных веществ в макроэнергетическую связь АТФ составляет 40%. Молярная масса АТФ – 507,18г, на синтез одного моля АТФ в среднестатистической клетке требуется около 7,3 ккал энергии. Дайте рациональное объяснение полученным данным.

Примерное решение

- Добавление антибиотика антимицина А в суспензию митохондрий сопровождается резким угнетением поглощения кислорода. Спектральный анализ показал, что переносчики электронов между НАДН и цитохромом *b* перешли в восстановленное состояние, а переносчики между цитохромом *c* и кислородом в окисленное состояние. Воспользуйтесь схемой ЭТЦ и определите - какой дыхательный комплекс ингибируется антимицином А? Как это отразится на синтезе АТФ? Почему антимицин считается более сильным дыхательным ядом, чем ингибитор первого дыхательного

комплекса ротенон? Почему добавление аскорбиновой кислоты восстанавливает дыхание и синтез АТФ митохондриями?

- Выделенные митохондрии инкубируются в среде с пируватом в качестве субстрата окисления. Как изменится рН суспензии митохондрий при импульсной подаче кислорода?

- В одном из экспериментов, выполненных для доказательства хемиосмотической теории, выделенные митохондрии инкубировали в буферном растворе с рН=9,0 и КСl без каких-либо субстратов окисления (пируват, жирные кислоты). Длительность инкубации составляла несколько часов для того, чтобы, несмотря на слабую проницаемость внутренней мембраны для протонов H^+ , рН матрикса защелачивалась. Что хотели пронаблюдать и измерить экспериментаторы, когда митохондрии перенесли в раствор с рН=7,0 и переносчиком ионов K^+ через мембрану валиномицином.

- В суспензию митохондрий добавили 2 ммоль пирувата и 2 ммоль АДФ. Скорость окисления пирувата измеряли по поглощению кислорода. Через некоторое время реакция прекратилась. Объясните - почему. Сколько молей пирувата недоокислилось?

- Витамин В1 (тиамин) входит в состав ферментного комплекса, окисляющего в митохондриях пируват. Гиповитаминоз В1 из-за недостаточного поступления с пищей или нарушения всасывания в кишечнике (например, при повреждении слизистой у алкоголиков) проявляется в форме тяжелого поражения центральной нервной системы - заболевания бери-бери. Почему головной мозг по сравнению с другими тканями и органами в большей степени страдает от нарушения в этих путях?

- При одной из наследственных форм миастении в скелетных мышцах наблюдается низкая активность ферментов синтеза карнитина. Карнитин переносит жирные кислоты через внутреннюю мембрану в матрикс митохондрий, где они подвергаются окислению. Как отразится на скорости потребления кислорода суспензией митохондрий мышцы добавление в нее в качестве субстрата для окисления жирных кислот, например пальмитиновой кислоты. Как Вы считаете – почему людям с этой мутацией противопоказаны голодание более суток, длительные физические нагрузки.

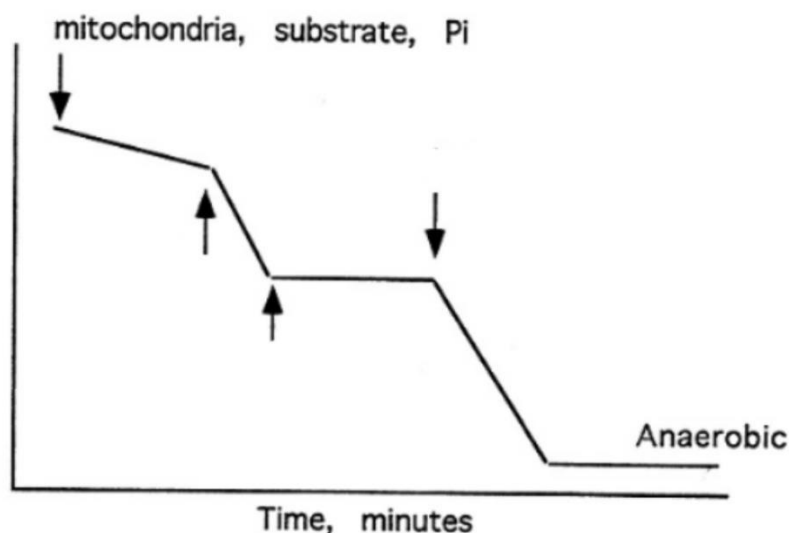
Основными прогнозируемыми положительными результатами является закрепление фундаментальных понятий в физиологии и строении клетки; метапредметными результатами: понимать и описывать взаимосвязь между естественными науками (биологией, физикой, химией); развивающие задачи УУД: развитие внимания, наблюдательность, познавательный интерес, мыслительные операции у школьников; образовательные задачи :повышение мотивации в обучении, дальнейшему выбору профессии, пробуждение в учащихся научно-исследовательского интереса

Задача 1. Подсчитайте количество АТФ, которое теоретически может образоваться при полном окислении глюкозы при условии, что митохондрии не разобщены.

Решение: Окисление сукцината до оксалоацетата сопровождается восстановлением одной молекулы ФАД и одной молекулы НАД. Последующее окисление ФАДН₂ в дыхательной цепи сопряжено образованием 2 молекул АТФ (Р/О \square 2), а окисление НАДН – 3 молекул (Р/О \square 3). Следовательно, энергетический выход окисления сукцината до яблочной кислоты \square 5 молекул АТФ. Окисление изоцитрата до сукцинила-КоА сопровождается фосфорилированием \square 6 молекул АДФ, так как в ходе окисления восстанавливается 2 молекулы НАД.

Задача 3

На рисунке изображена графически динамика скорости потребления кислорода (по оси ординат) суспензией выделенных из ткани митохондрий. Последовательно в суспензию митохондрий вносили несколько добавок, указанных ниже. Соотнесите эти добавки с порядковым номером стрелок. Попробуйте объяснить причины влияния этих добавок на скорость дыхания митохондрий.



Ответ: 1. АДФ, 2. олигомицин (ингибитор АТФ-синтазы), 3. Разобщик.

Скорость дыхания определяется энергетическими потребностями клетки. Одним из важных сигналов об энергодефиците является увеличение уровня АДФ или снижение величины протонного градиента. Поэтому добавка АДФ усиливает дыхание митохондрий. В основном функционирование ЭТЦ связано с потребностью клетки в АТФ, поэтому ингибирование олигомицином АТФ-синтазы останавливает дыхание. Функционирование разобщика - динитрофенола снижает величину протонного градиента, чтобы восстановить требуемую величину электрохимического потенциала H^+ электронный транспорт и скорость дыхания усиливаются.

Задача 4. Производное витамина В1 (тиаминпирофосфат) входит в состав пируватдегидрогеназы - ключевого фермента окисления пирувата до ацетилКоА и НАДН. Витамин особенно важен для метаболизма головного

мозга, энергетика которого строится на окислении углеводов. У людей, хронически злоупотребляющих алкоголем развивается гиповитаминоз В1, т.к. алкоголь нарушает всасывание этого витамина, что приводит к развитию заболевания бери-бери.

Сравните скорость окислительного фосфорилирования в нейронах человека с бери-бери и здорового человека. Ответ поясните.

Ответ:

Скорость окислительного фосфорилирования в нейронах человека с бери-бери снижена, так как

Задача 5.

Инфаркт миокарда является результатом острой гипоксии, развивающейся при образовании тромба в одном из сосудов, питающих миокард. В условиях гипоксии синтез АТФ прекращается, что является причиной гибели клеток. Какие еще биохимические процессы имеют место при острой гипоксии клеток миокарда?

Ответ:

Резко повышается проницаемость митохондриальных мембран, возникает набухание митохондрий, пространственная дезориентация ферментативных систем транспорта электронов, синтеза АТФ.

Ну и напоследок предлагаю порешать задачи на составление и анализ родословных по митохондриальному типу наследования

Митохондриальный геном состоит из кольцевой ДНК размером 16600 нуклеотидов, которая кодирует рРНК и тРНК, участвующие в митохондриальной системе трансляции, и некоторые белки, необходимые для окислительного фосфорилирования. Многие митохондриальные белки кодируются генами ядерного генома, синтезируются в цитоплазме и затем транспортируются в митохондрии. Поэтому мутации, нарушающие функции

митохондрий, могут происходить как в митохондриальном, так и в ядерном геномах.

Число митохондрий в клетке непостоянно, как и количество митохондриальных геномов в митохондрии (обычно от 2 до 10), так что каждая клетка содержит тысячи копий митохондриальной ДНК. Эта ДНК передается через яйцеклетку в количестве 200000-300000 копий и в незначительной степени через сперматозоиды, так как в них практически не содержатся митохондрии. Это означает, что все люди наследуют митохондриальные геномы от матери.

Мутацию в митохондриальном геноме женщины унаследуют все ее дети, а мужчина с такой мутацией, наоборот, не передаст ее детям. Это приводит к типичному вертикальному наследованию, когда больная женщина передает заболевание большинству своих детей.

Пораженные девочки, выходя замуж, будут рожать только больных детей, в то время как у больных мужского пола все дети будут свободны от данного заболевания. По митохондриальному типу наследуются атрофия зрительного нерва Лебера, митохондриальная миоэнцефалопатия, синдром Лея, болезнь Кернса-Сейра и некоторые другие заболевания. В настоящее время описано более 10 различных заболеваний, при которых обнаружены мутации митохондриальной ДНК.

Вот текст первой задачи:

Составить родословную, состоящую из четырёх поколений по митохондриальному типу наследования.

Решение:

При составлении родословной по митохондриальному типу необходимо учитывать следующее:

1. признак встречается во всех поколениях;
2. болеют как мужчины, так и женщины;
3. у больного отца все дети (мальчики и девочки) здоровы;
4. у больной матери все дети (мальчики и девочки) больны;

4. вероятность наследования 100% у девочек.

Символы, используемые при составлении графического изображения родословной:

□ - особь мужского пола, не имеющая изучаемого признака;

○ - особь женского пола, не имеющая изучаемого признака;

■ - особь мужского пола, имеющая изучаемый признак;

● - особь женского пола, имеющая изучаемый признак;

□ — | — ○ - брак мужчины и женщины;

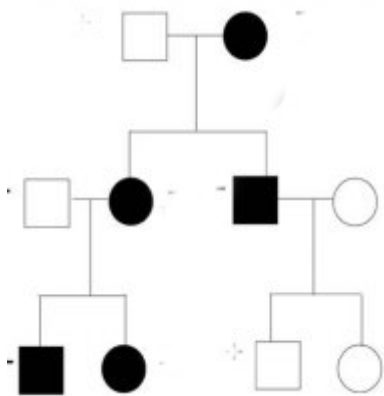
○ — | — □ - близкородственный брак;

□ — | — ○ — | — □ - дети одной родительской пары (сibsы);

Задача

2.

Определить тип наследования признака по графическому изображению родословной (рис. 2). Установить возможные генотипы всех членов родословной.



Решение:

Мутация проявляется у всех детей (мальчиков и девочек), матери которых имеют этот признак. Изучаемый признак, встречается у представителей мужского и женского пола примерно в равной степени во всех поколениях (в родословной 4 мужчины и 6 женщины), поэтому можно думать, что изучаемый признак зависим от пола: обуславливающий его ген расположен в

женской половой клетке. Тип наследования: митохондриальное наследование.

Возможные генотипы всех членов родословной:

Наличие признака - ХаХа, ХаУ;

Отсутствие признака – ХАХА, хАУ

Генотип представителей мужского пола с данным признаком – ХаУ. Генотип мужчин с отсутствием данного признака - ХАУ. Генотип женщины с наличием данного признака - ХаХа. Возможные генотипы женщин, у которых отсутствует признак - ХАХА или ХАХа. Генотипы основателей рода: ХаХа, ХаУ.

Разработанные занятия были апробированы в рамках встреч клуба «Любознательный кот» на базе детской городской библиотеки им. Э.Н. Успенского. Этот клуб функционирует уже больше года. На регулярных встречах, проводимых каждый четверг, мы с ребятами изучаем самые интересные и любопытные факты об окружающем нас мире, в том числе разные разделы биологии и экологии. На встречах клуба присутствуют учащиеся 9-11 классов различных школ, но не более 10 человек.

Выводы

1. Анализ исторического развития представлений о митохондриях включает следующие этапы: описание морфологического строения и распределения этих органелл в клетках; идентификация метаболических путей; выяснение роли митохондрий в энергетике клетки и молекулярных механизмов аэробного энергообмена; изучение их роли в патогенезе окислительного стресса, апоптозе. Современные проблемы связаны недостаточным пониманием связи между режимами работы ЭТЦ (одиночные комплексы и суперкомплексы-респирасомы), между динамикой процессов фрагментации и слияния и функциональным состоянием клетки, трудностями изучения митохондрий *in vivo*.

2. Разработан текст научно-популярной лекции «Митохондрии и старение» и презентационный материал к ней. В лекции рассмотрены современные представления о механизмах митохондриальной энергетике, свободнорадикального повреждения этих органелл при митохондриальных цитопатиях и старении, мерах профилактики митохондриального старения. Лекция апробирована в рамках встреч клуба «Любопытный кот» для старшеклассников на базе городской библиотеки им. Успенского (г. Минусинск)

3. Подготовлены материалы к практическому занятию по митохондриологии, включающие расчетные задачи, задачи, требующие анализа численных экспериментальных данных и графических зависимостей, задания, требующие прогнозирования эффектов витаминов, витаминоподобных субстанций, мутаций митохондриальных, в том числе ситуативные задачи с медицинским содержанием. Занятие апробировано с обучающимися старших классов – участниками клуба «Любопытный кот»

Список литературы – СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ исключительно безобразен.
САМЫЕ ОСНОВНЫЕ И СОВРЕМЕННЫЕ УЧЕБНЫЕ ИСТОЧНИКИ НЕ
УКАЗАНЫ, где источники за последние 5 лет, где научно-популярная
литература.

2. Албертс
3. Арзамасцев А.А. Окислительный стресс и митохондриальная функция: биохимические и молекулярные механизмы // Биохимия. 2013. Т. 78, № 9. С. 1251-1264.
4. Нельсон Д., Коке М. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 2 : Биоэнергетика и метаболизм М. : Лаборатория знаний, 2022. 646 с.
5. Панов А.В. Практическая функциональная митохондриология. Становление новых парадигм. Новосибирск: СО РАН. 2023. 334 с.
6. Скулачев В.П., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О. Мембранная биоэнергетика. М.: Изд-во МГУ. 2010. 365 с.
3. Chen Q. et al. The role of autophagy in mitophagy and its regulation in neurodegenerative diseases // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 2014. — Vol. 1842, No. 2. — P. 173-180.
- 8.
9. Nicolli A. et al. The PGC-1 α -dependent gene expression profile in a cellular model of MERRF // *Nature Communications*. — 2017. — Vol. 8, No. 1. — 10.
- Frazier A.E. et al. Mitochondrial dynamics and its role in disease // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 2016. — Vol. 1859, No. 1. — P. 167-172. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5354063/> (дата обращения: 16.06.2024).
11. Anding A.L. et al. Mechanisms of mitophagy: From physiology to pathology // *Annual Review of Physiology*. — 2018. — Vol. 80. — P. 191-224. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5535037/> (дата обращения: 16.06.2024).
12. Murphy M.P. et al. How mitochondria produce reactive oxygen species // *Biochemical Journal*. — 2009. — Vol. 417, No. 1. — P. 1-13. URL:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5707220/> (дата обращения: 16.06.2024).

13. Zhu H. et al. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and strategies for the potential treatments // *Journal of Biomedical Research*. — 2017. — Vol. 31, No. 6. — P. 357-372. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4704011/> (дата обращения: 16.06.2024).

14. Finkel T. Mitochondria and aging // *The Journal of Cell Biology*. — 2011. — Vol. 193, No. 5. — P. 809-818. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3098717/> (дата обращения: 16.06.2024).

15. Lopez-Otin C. et al. The hallmarks of aging // *Cell*. — 2013. — Vol. 153, No. 6. — P. 1194-1217. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3836174/> (дата обращения: 16.06.2024).