

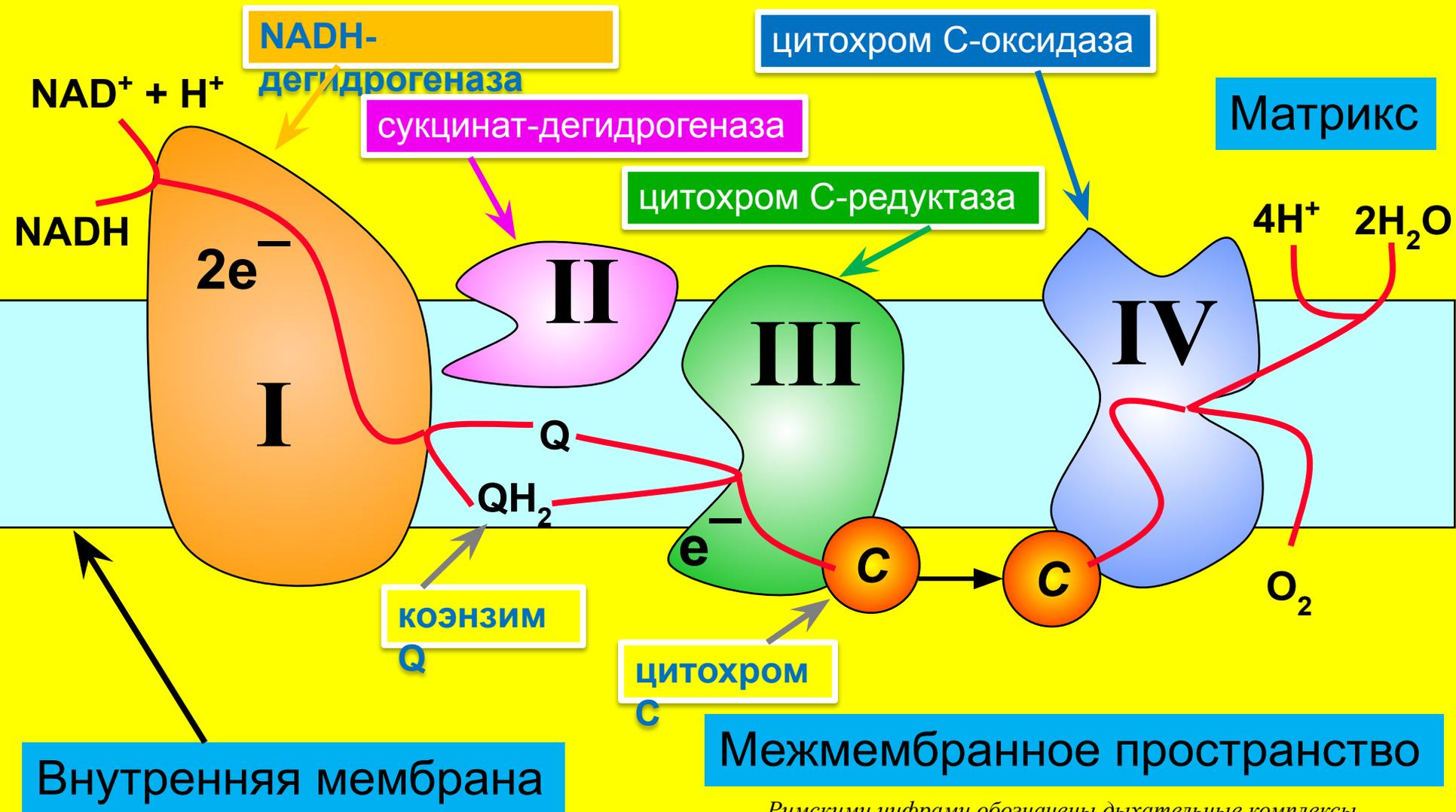
# Биофизические основы патологии клетки

Свободные радикалы и болезни человека

Ю.А. Владимиров, А.Н. Осипов  
2018

# Механизмы нарушения работы МИТОХОНДРИЙ

# Дыхательные комплексы митохондрий



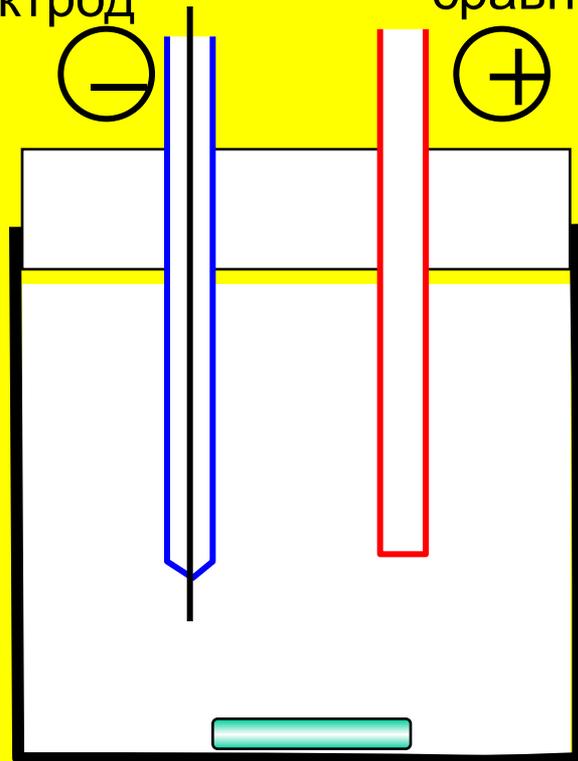
*Римскими цифрами обозначены дыхательные комплексы митохондрий, которые впервые описал Дэвид Грин.*

# Полярографический метод изучения дыхания митохондрий

Платиновый электрод



Электрод сравнения



← Тефлоновая пробка

← Митохондрии в среде:  
KCl + фосфат + субстраты + O<sub>2</sub>

← Стекланный стаканчик

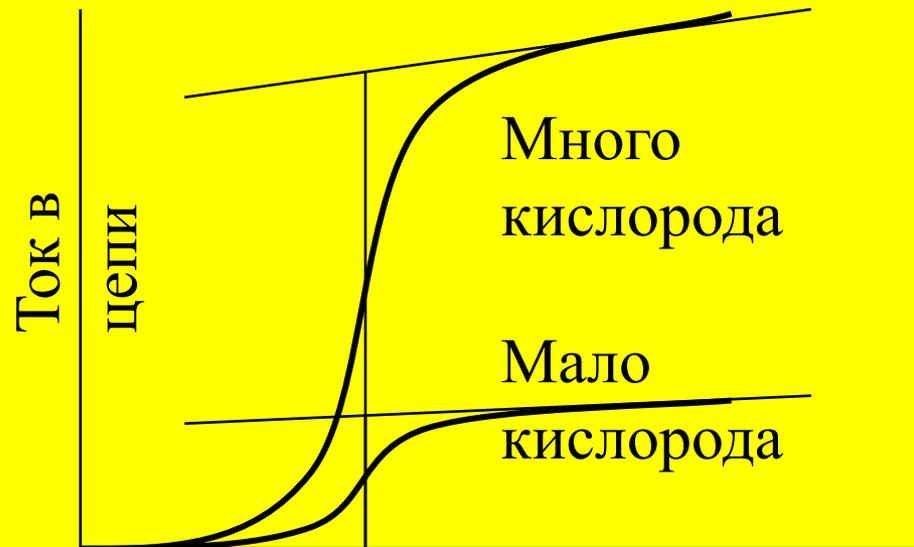
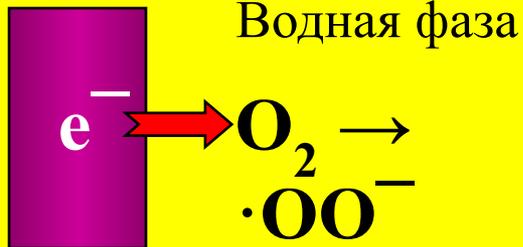
← Магнитная мешалка

# Полярографическая волна

Реакция на

катоде:

Pt - электрод



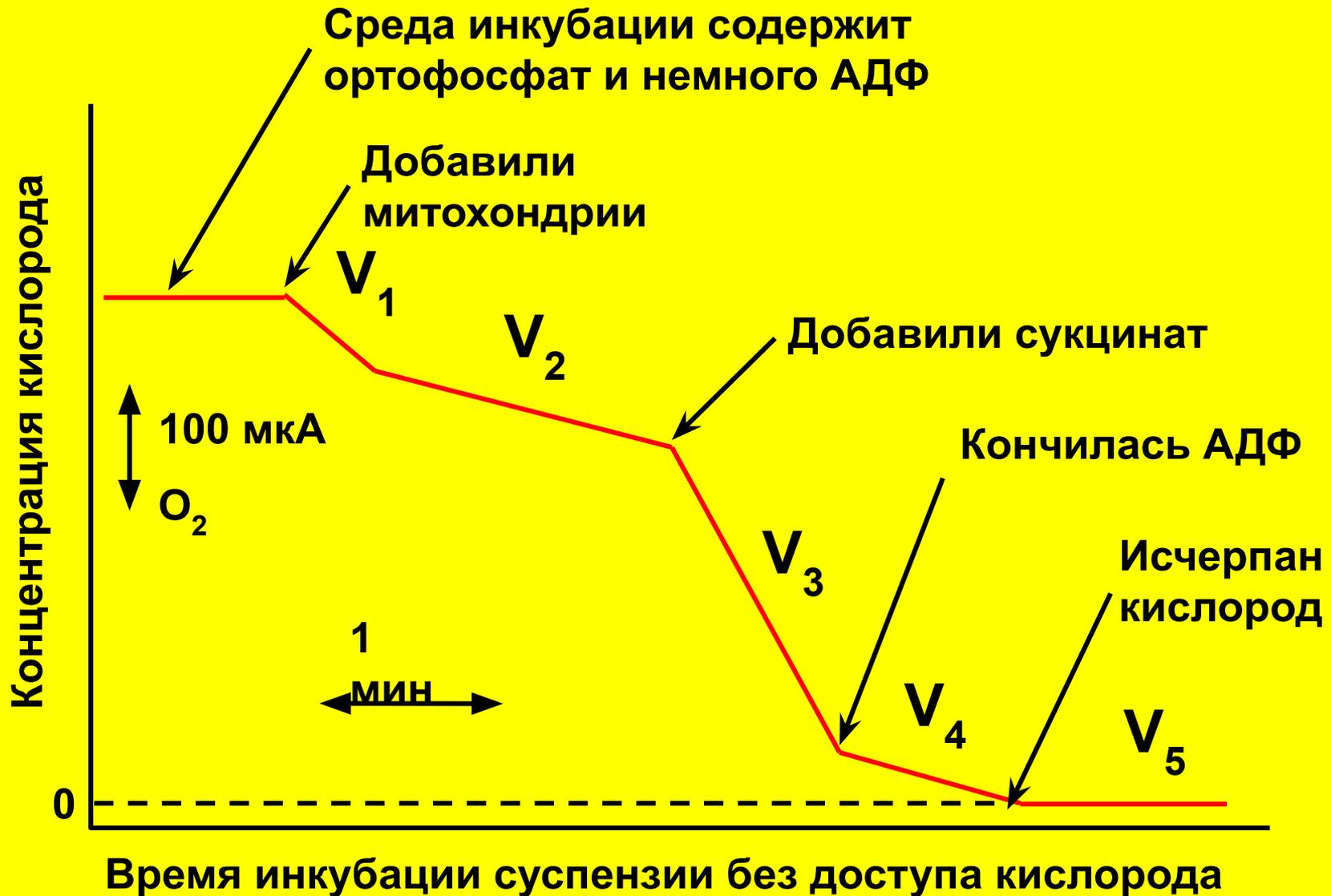
0,45 В

Потенциал на Pt-катоде



Калибровочная кривая

# Потребление кислорода митохондриями в разных состояниях по Б. Чансу

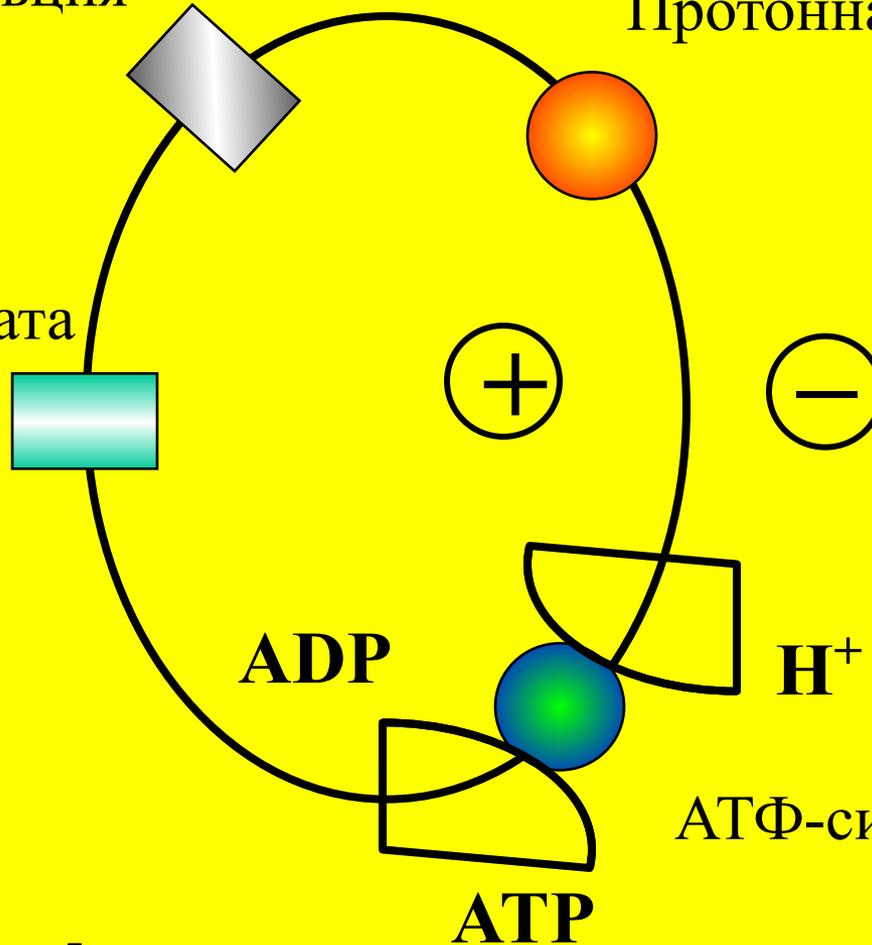
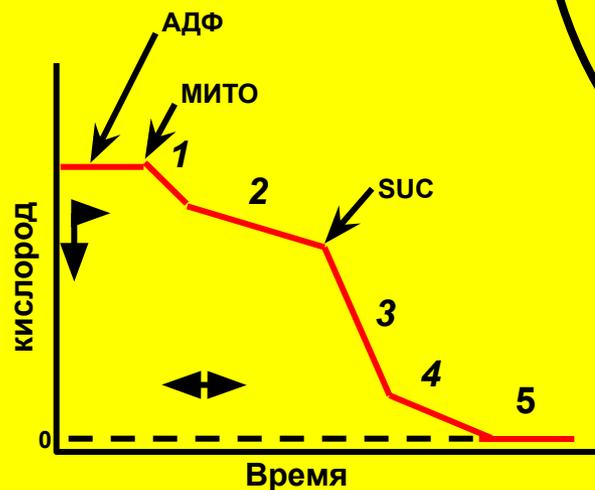


# Состояние 2 - деэнергизованное

Переносчик кальция

Протонная помпа

Переносчик фосфата

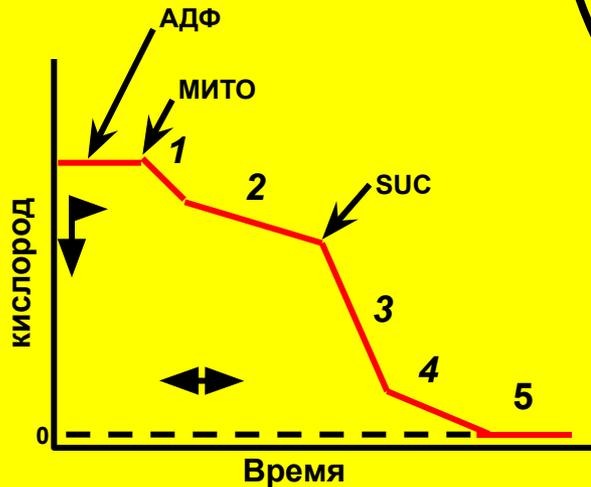


# Состояние 3 - Фосфорилирующее

Переносчик кальция

Протонная помпа

Переносчик фосфата



ADP

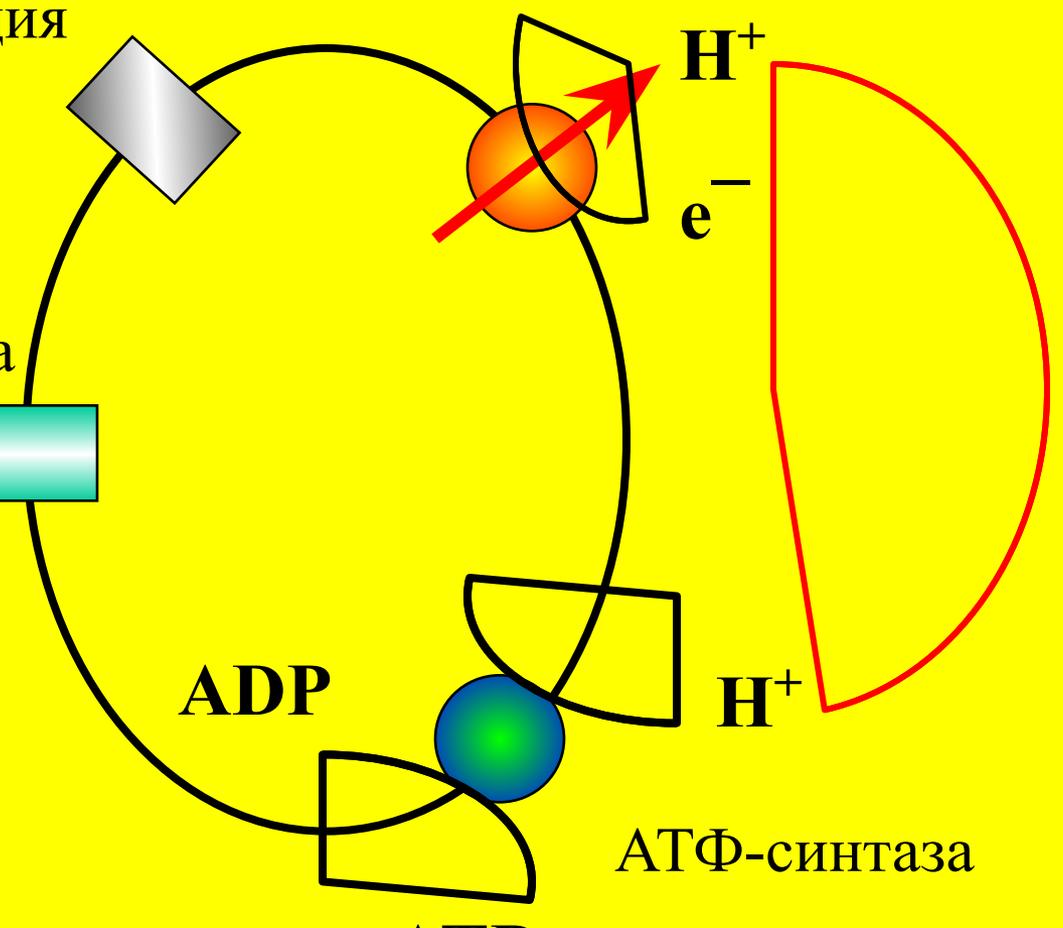
ATP

АТФ-синтаза

$H^+$

$e^-$

$H^+$

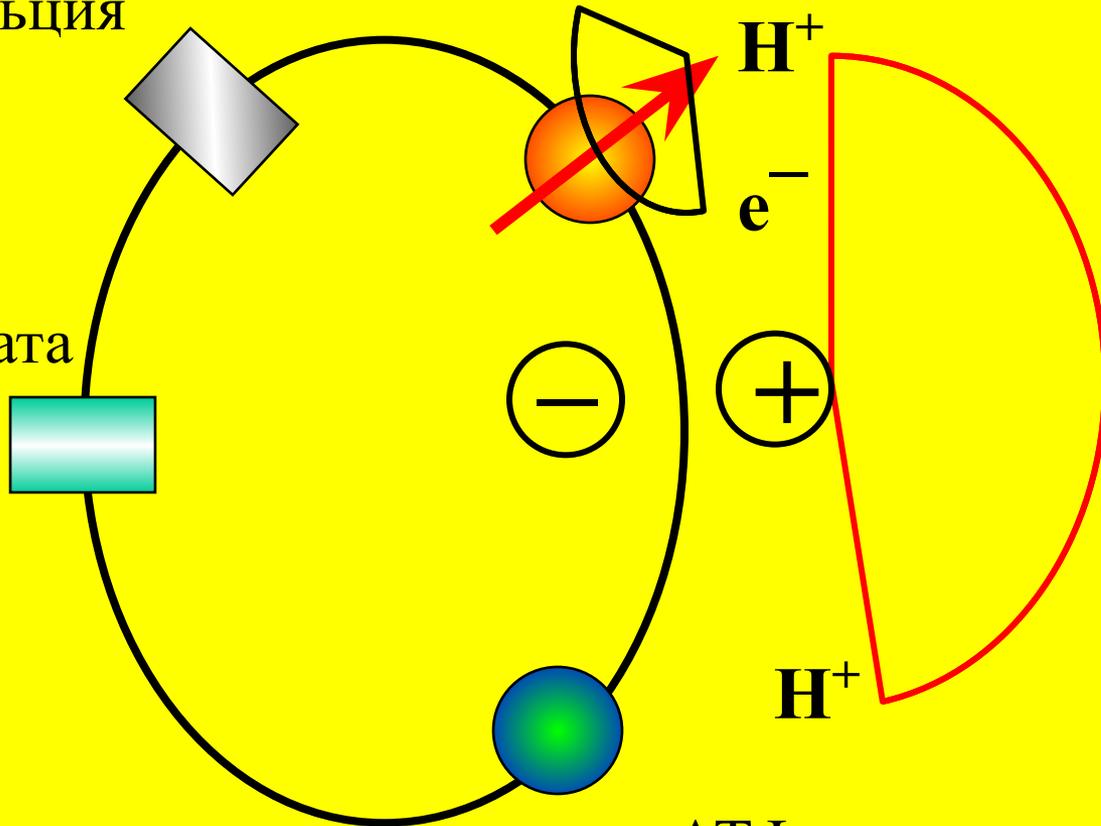
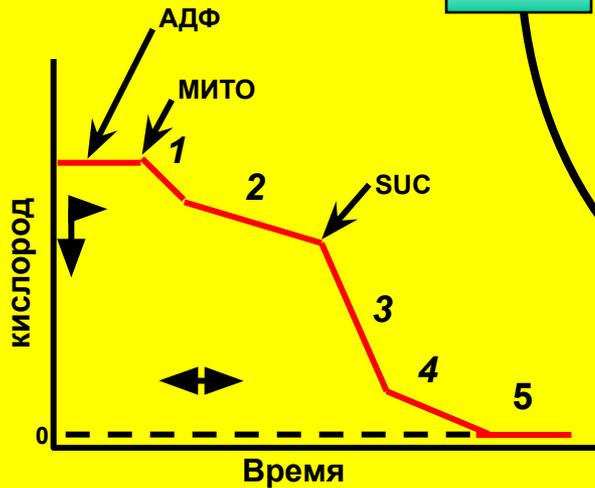


# Состояние 4 – Энергизованное (Дыхательный контроль)

Переносчик кальция

Переносчик фосфата

Протонная помпа



$\Delta \phi$   
 $\Delta pH$

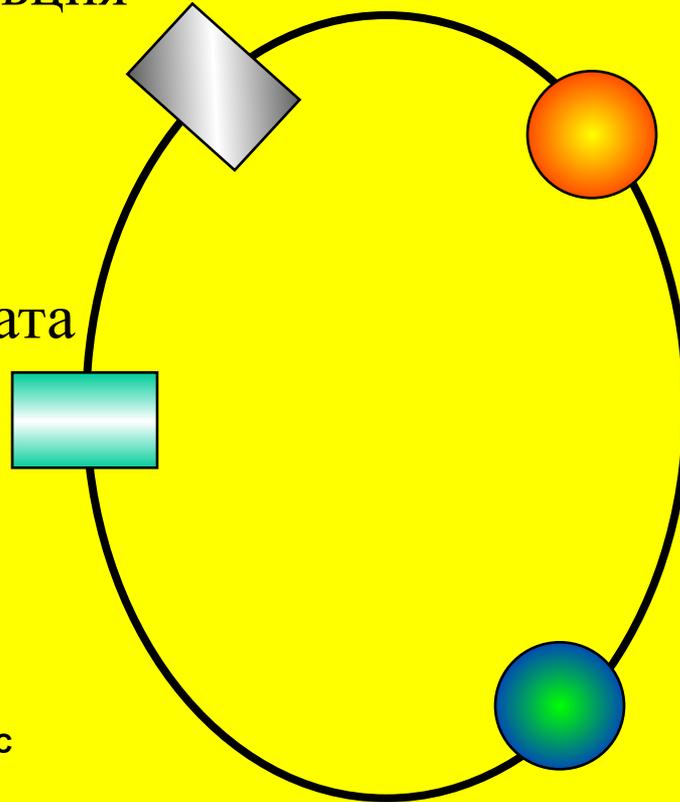
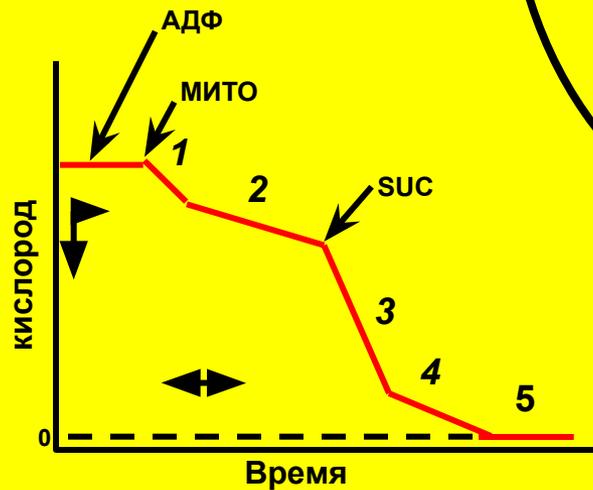
АТФ-синтаза

# Состояние 5 – Анаэробное

Переносчик кальция

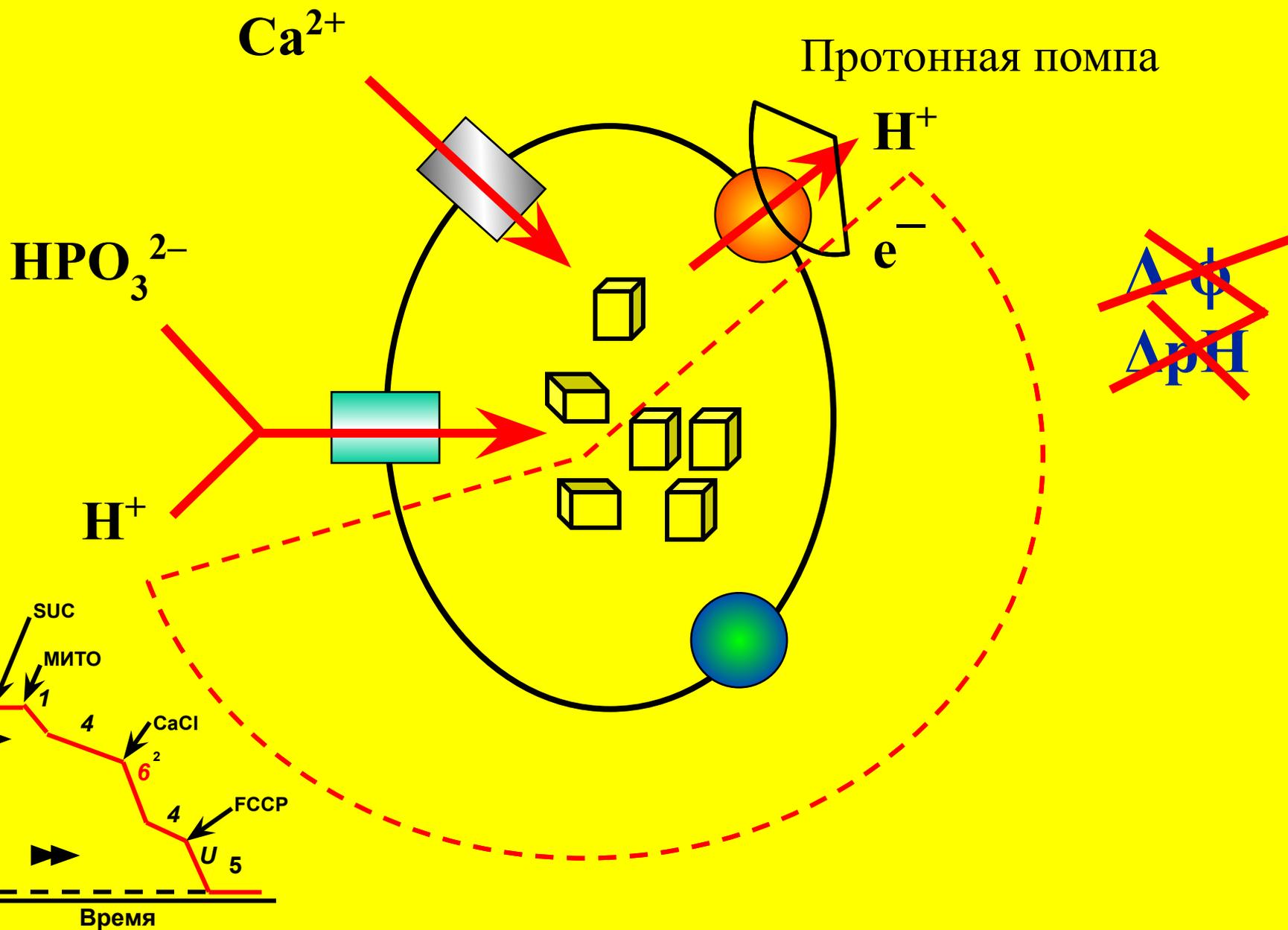
Протонная помпа

Переносчик фосфата



АТФ-синтаза

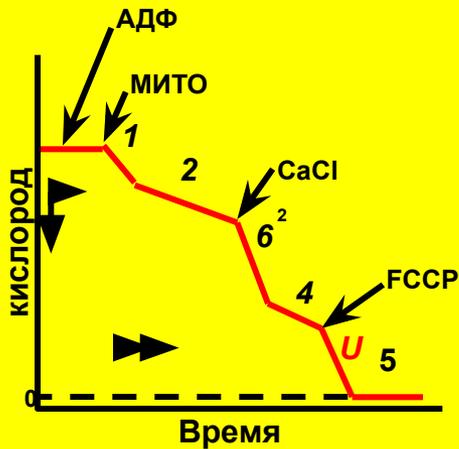
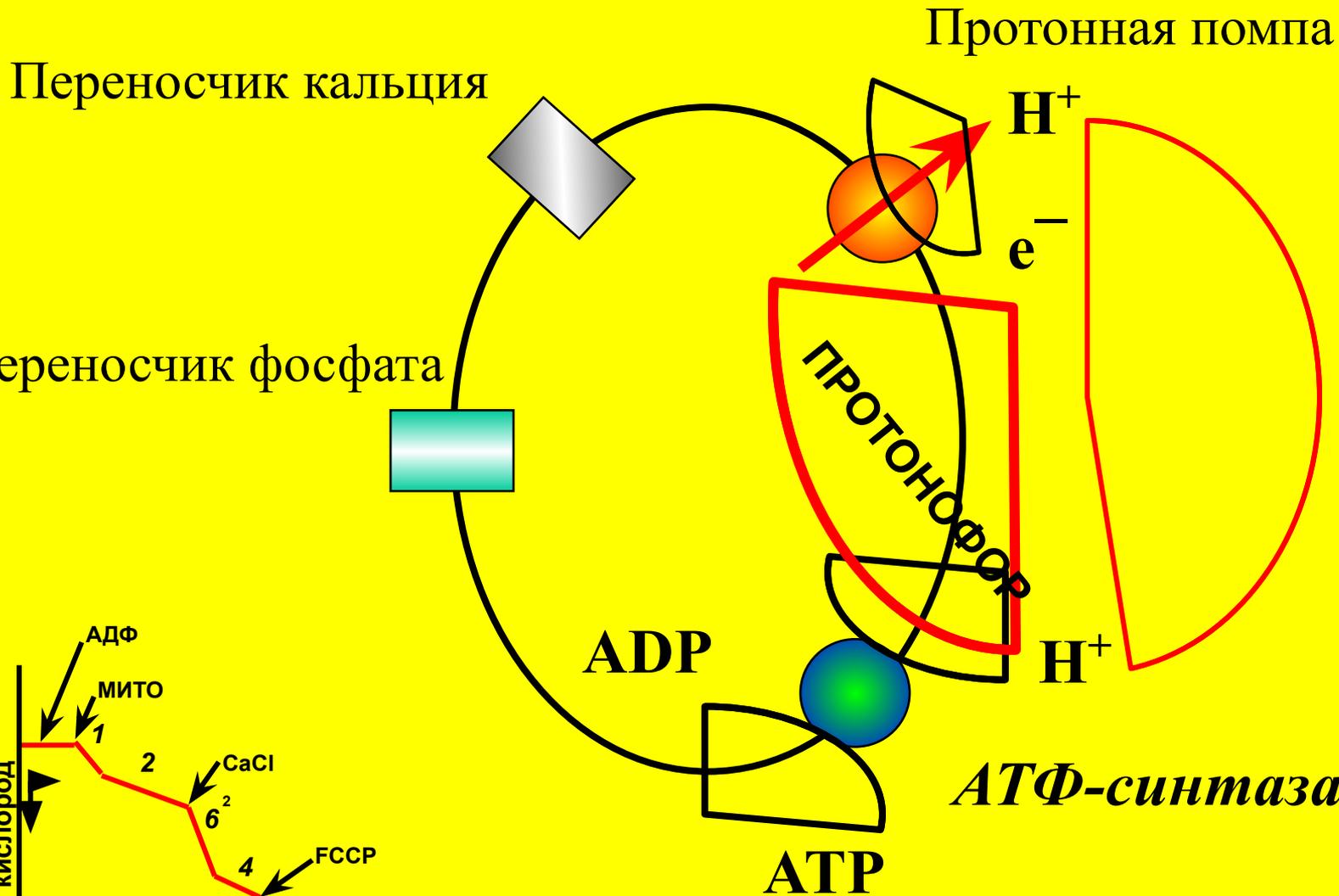
# Состояние 6 – Транспорт ионов



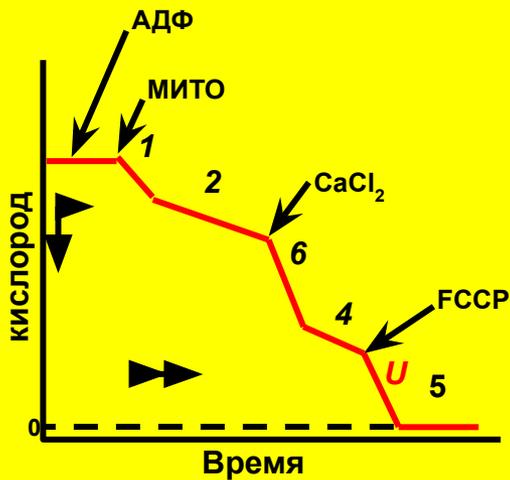
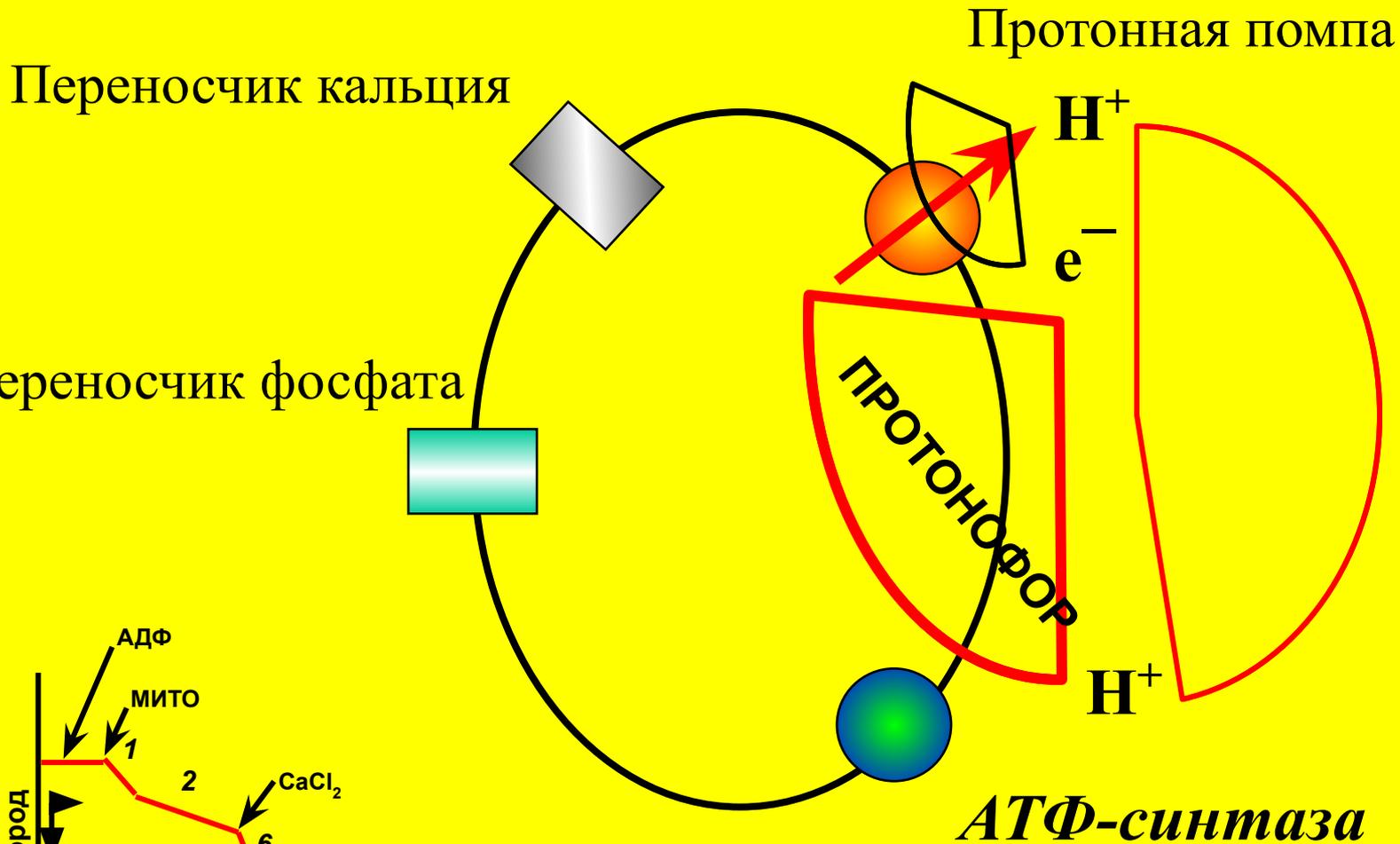
# Потребление кислорода митохондриями при транспорте ионов



# Разобщение фосфорилирования



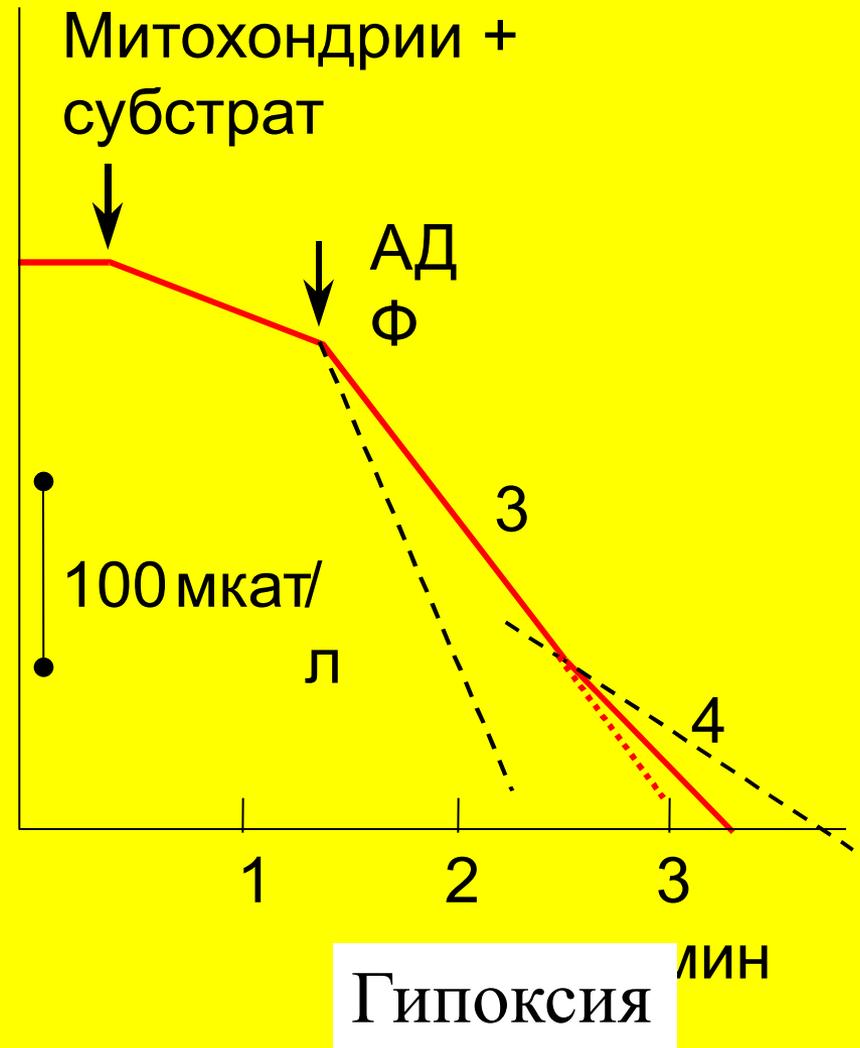
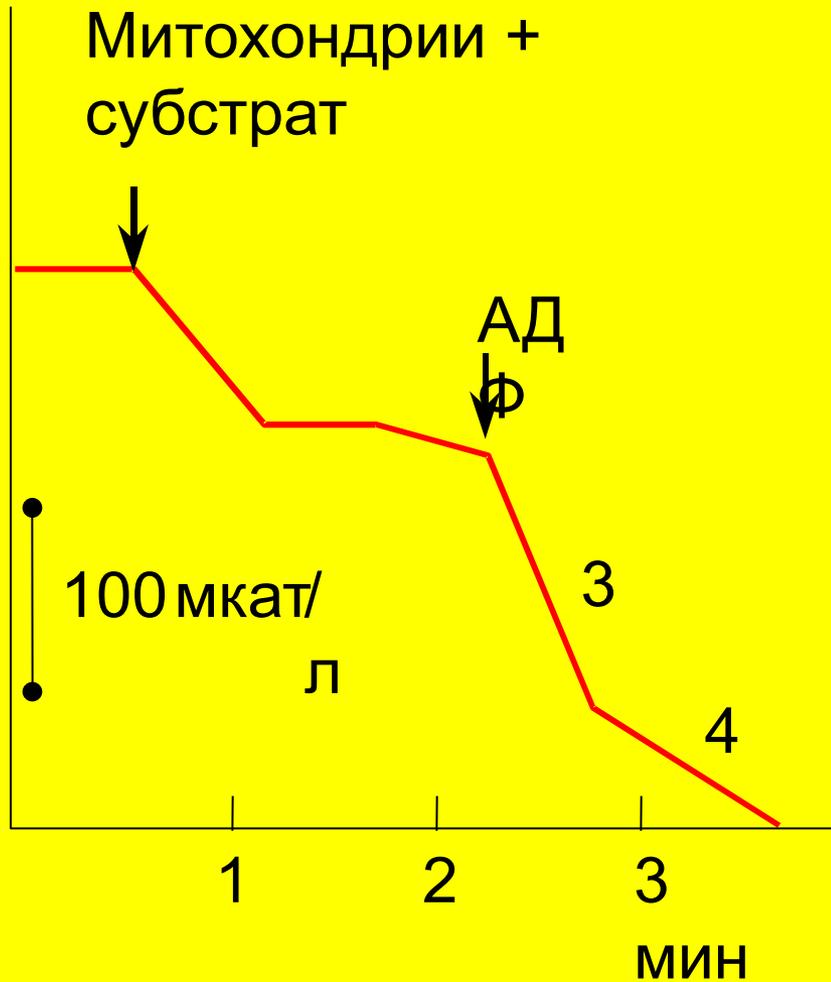
# Состояние U - Разобщенное



# Коэффициент Дыхательного контроля



# Изменение свойств митохондрий при ГИПОКСИИ ТКАНИ



# Характеристика функциональных состояний

Состояние	Состав среды инкубации	Название	Потенциал на мембране	Состояние переносчиков электрона
<b>2</b>	$P_i + ADP$	<i>Деэнергизованное</i>	Низкий	Окислены
<b>3</b>	$P_i + ADP +$ субстрат	<i>Фосфорилирующее</i>	< 175 мВ	Промежуточное
<b>4</b>	$P_i +$ субстрат дыхания	<i>Дыхательный контроль</i>	175 мВ	Восстановлены
<b>5</b>	Нет кислорода	<i>Анаэробное</i>	Очень низкий	Восстановлены
<b>6</b>	$P_i + Ca^{2+} +$ субстрат	<i>Транспорт катионов</i>	Низкий	Промежуточное
<b>U</b>	Как 3, 4 или 6 + протонофор	<i>Разобщищенное</i>	Низкий	Окислены

# Как по скорости дыхания митохондрий в разных состояниях можно судить о месте повреждения?

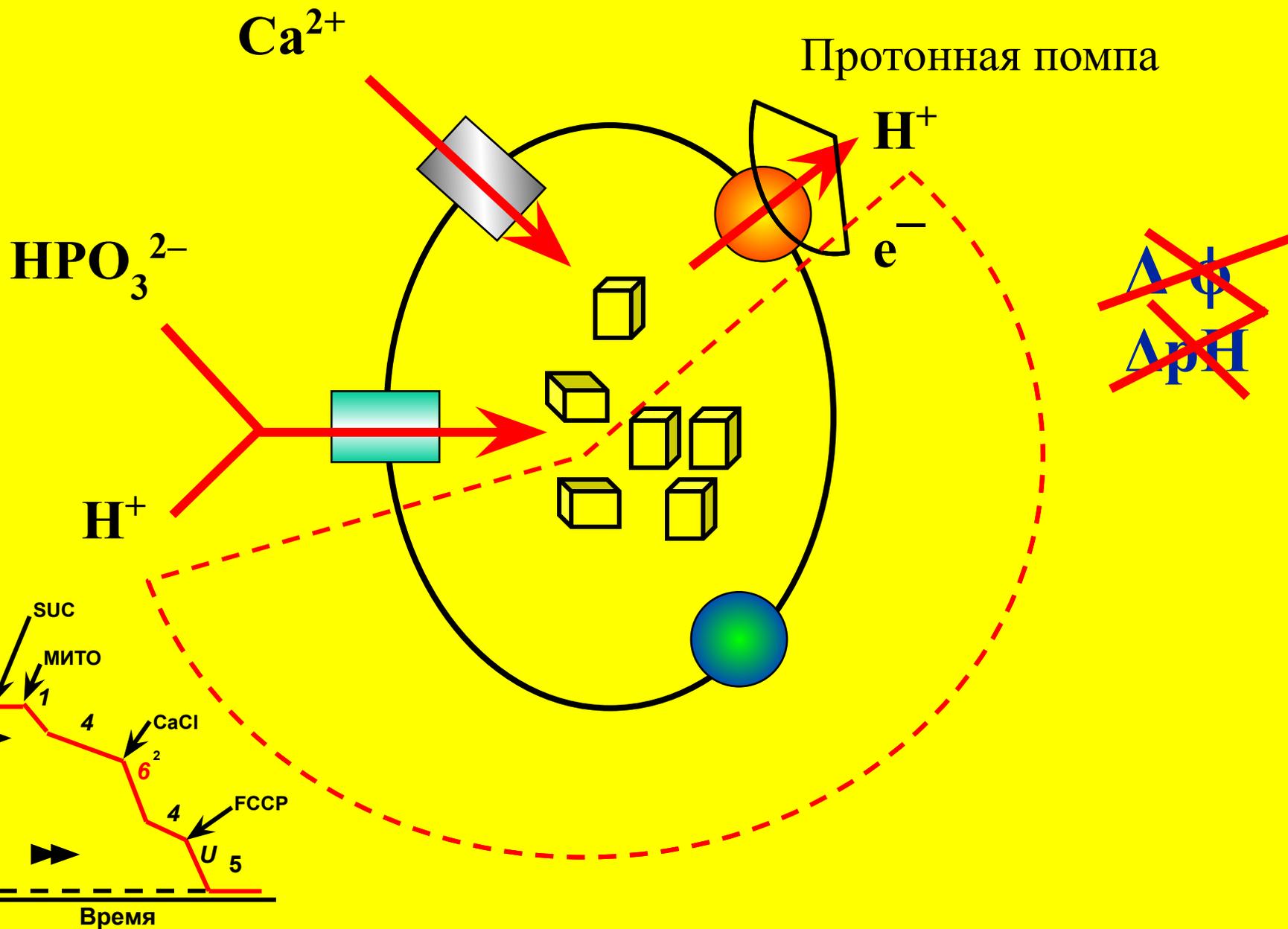
Состояние	Нарушен перенос электронов	Повреждена мембрана	Нарушен транспорт фосфата	Нарушен АТФ-АДФ обмен
2				
3	↓		↓	↓
4		↑		
5	—	—	—	—
6	↓		↓	—
U	↓		—	—

# Нарушение структуры и функций МИТОХОНДРИЙ:

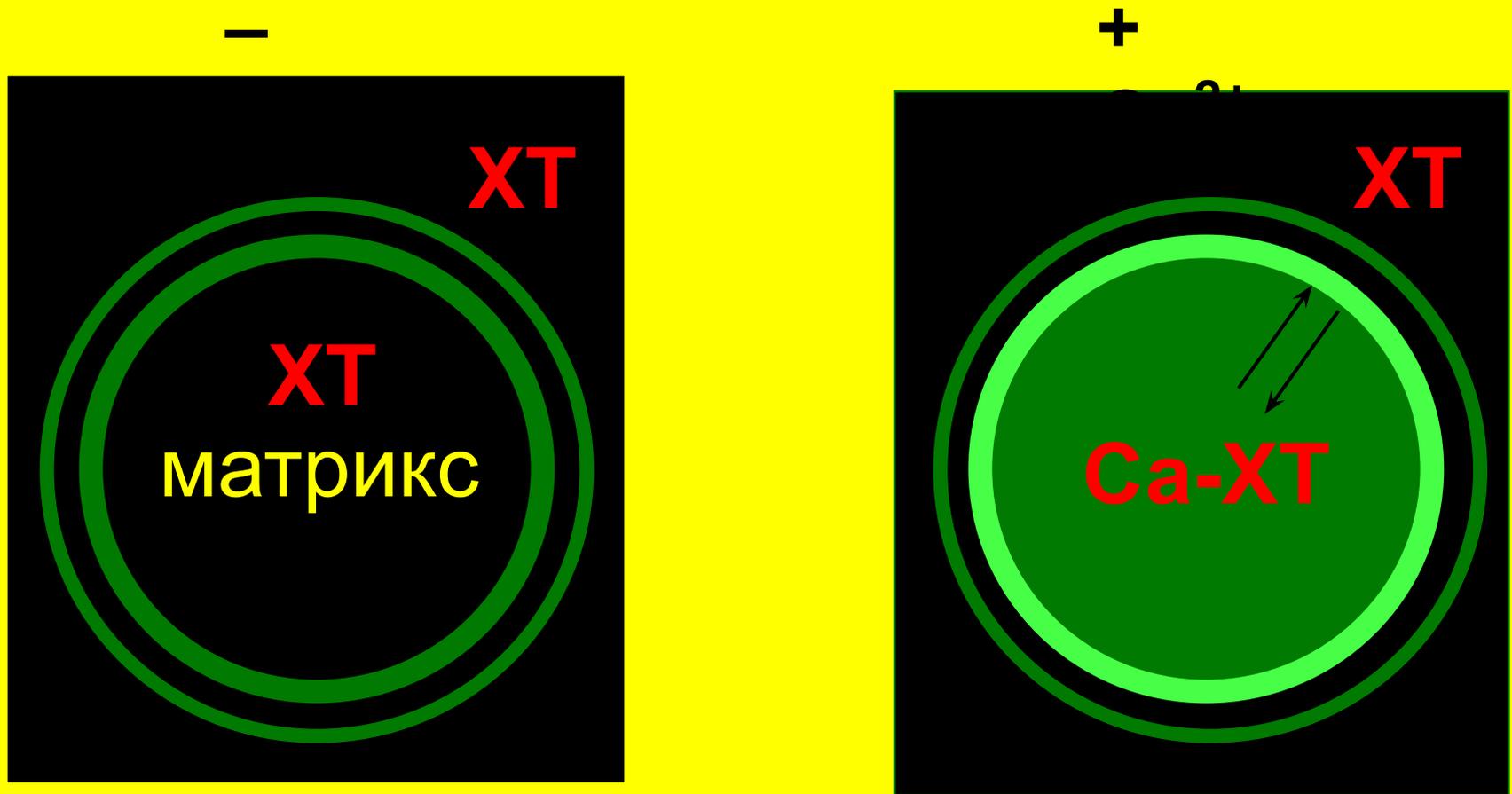
1. Снижение потребления кислорода
2. ...
3. ...
4. ...

**Снижение кальций-аккумулирующей способности:**

# Состояние 6 – Транспорт ионов

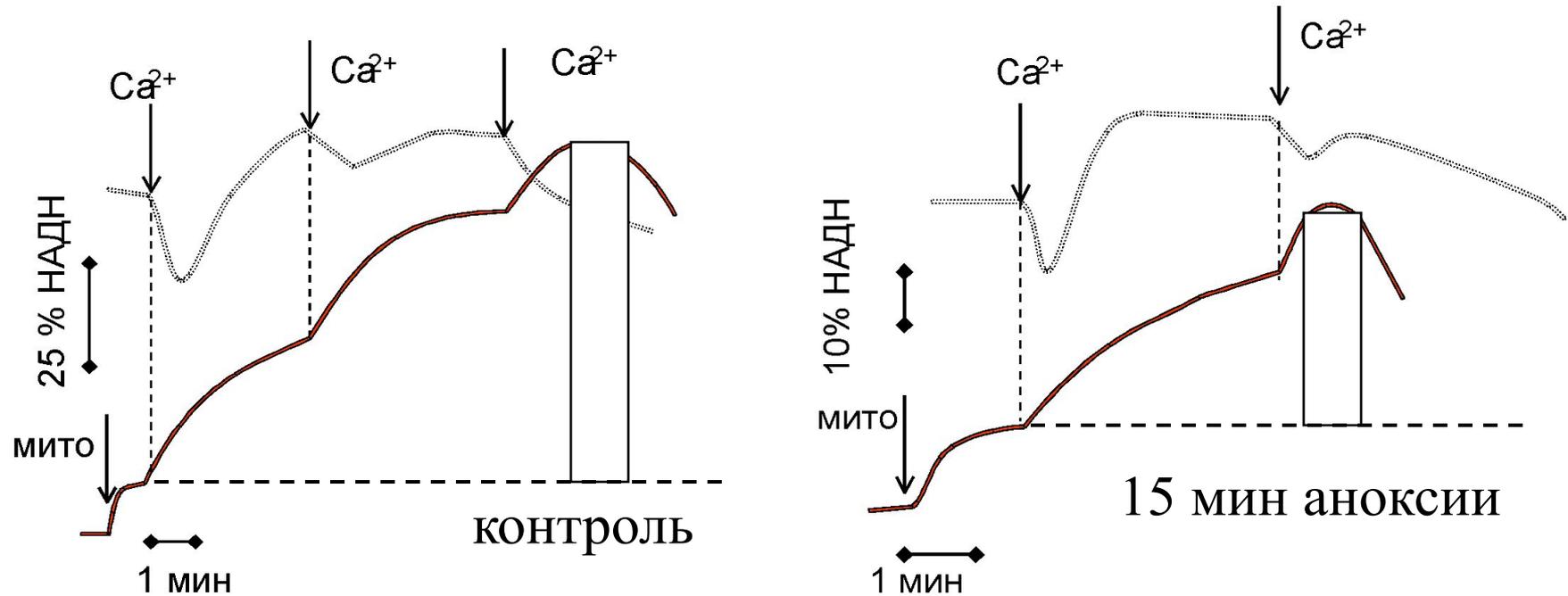


Причина роста флуоресценции хлортетрациклина при  
накоплении  $\text{Ca}^{2+}$  в матриксе митохондрий



Внутренняя мембрана митохондрий

# Кальций-аккумулирующая емкость МИТОХОНДРИЙ



..... Флуоресценция НАДН

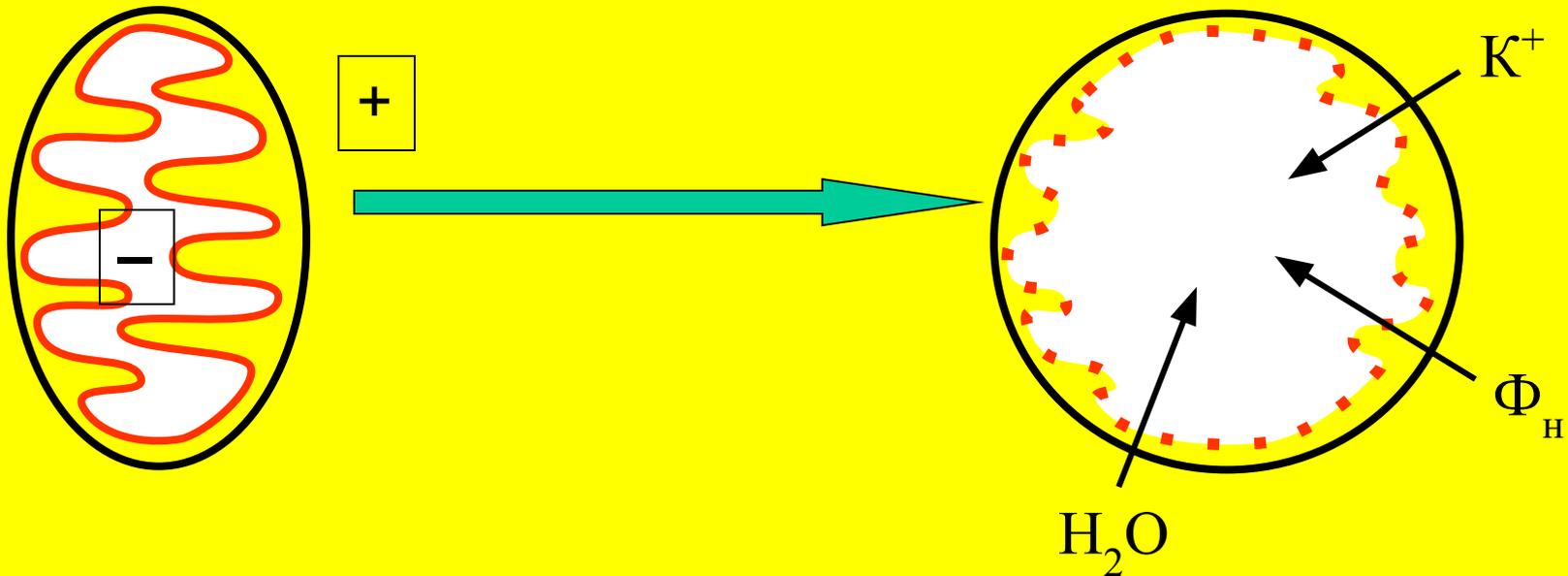
————— Флуоресценция Са-ХТЦ

# Нарушение структуры и функций МИТОХОНДРИЙ:

1. Снижение потребления кислорода
2. Снижение кальций-аккумулирующей способности
3. ...
4. ...

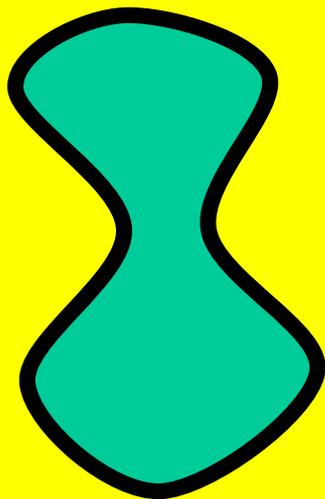
# Повреждение митохондрий при гипоксии

## Набухание митохондрий



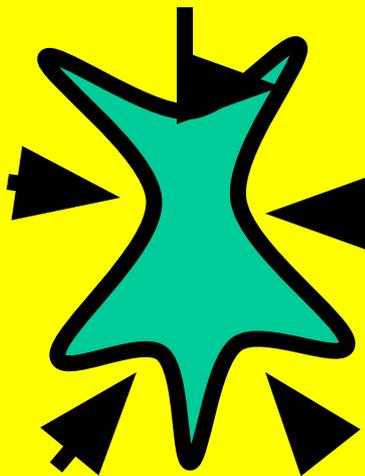
Поведение клетки и митохондрий в средах с разной осмотической концентрацией веществ

1



Изотони

2



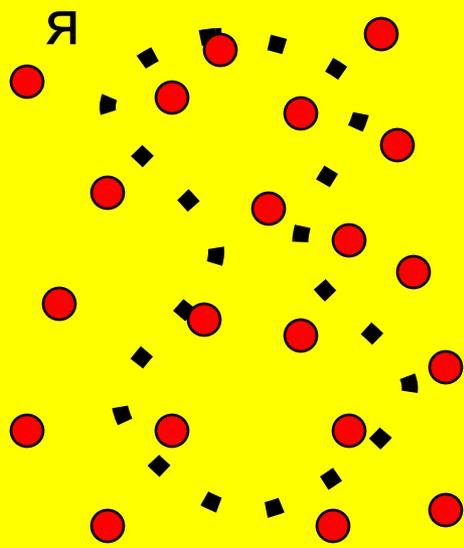
Гипертони

3

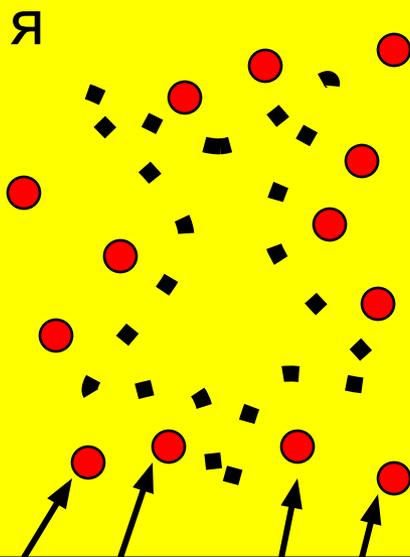


Гипотони

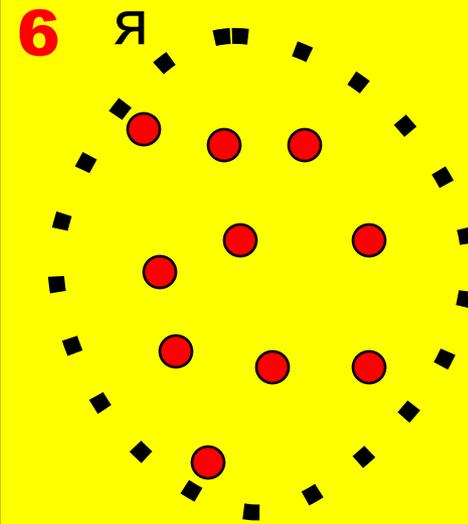
4



5



6



Осмотически-активные

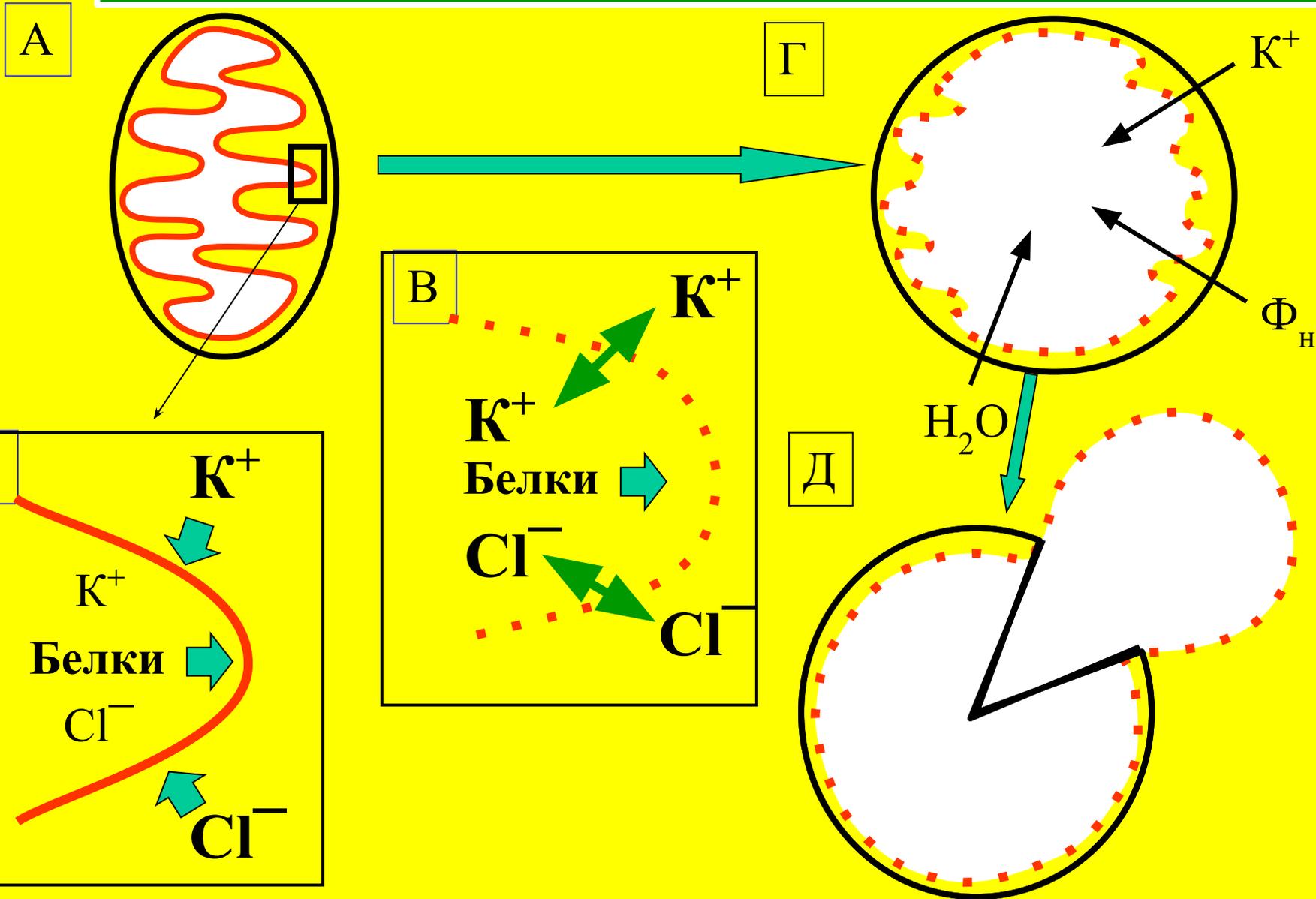
# Типы набухания митохондрий:

**А. Пассивное**

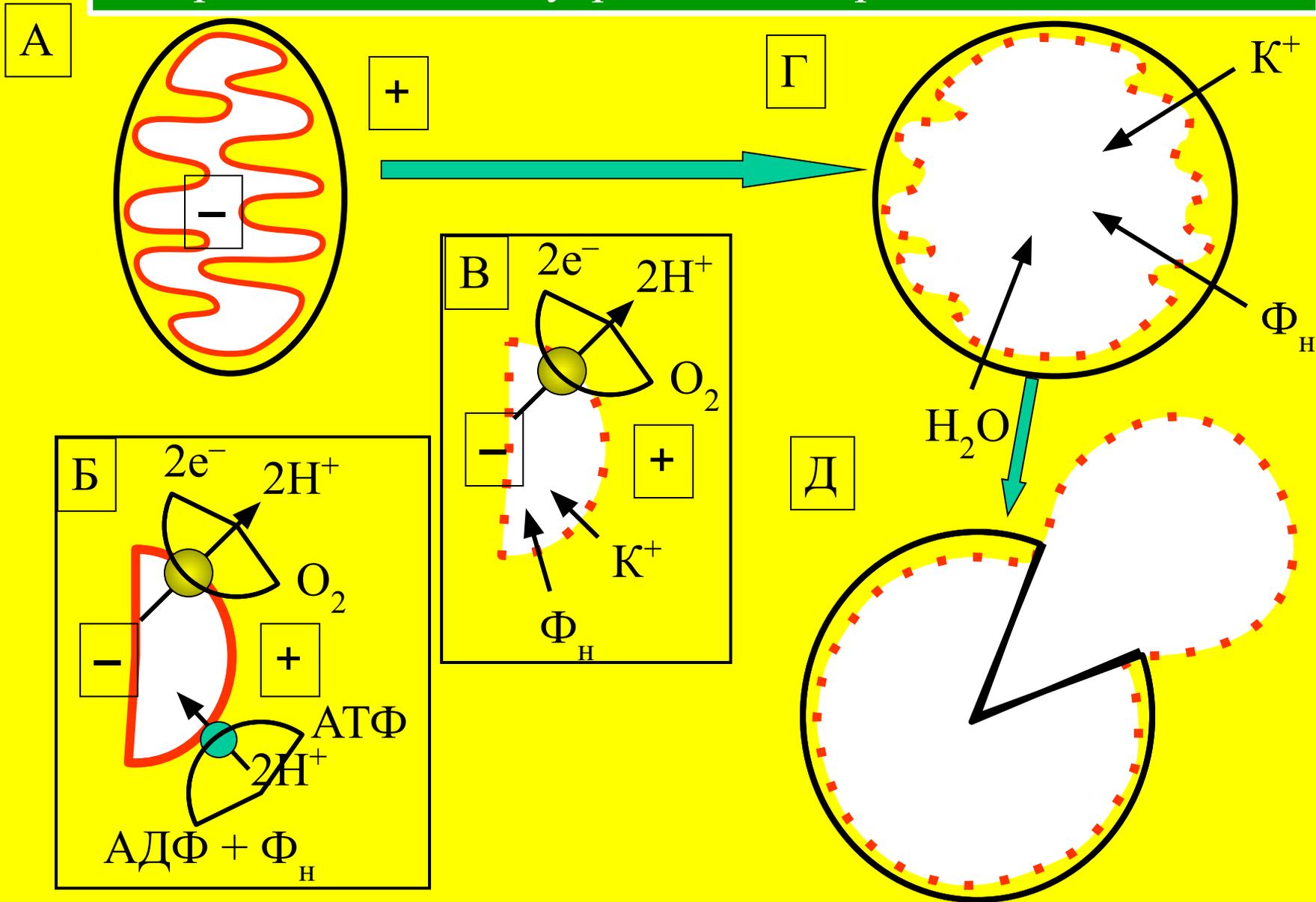
**Б. Активное**

- 1. Спонтанное набухание S-swelling**
- 2. При действии валиномицина V-swelling**
- 3. При действии детергентов D-swelling**
- 4. При пероксидации липидов P-swelling**

# Пассивное набухание митохондрий при повреждении внутренней мембраны



# Активное набухание митохондрий при увеличении проницаемости внутренней мембраны для катионов



# Нарушение структуры и функций МИТОХОНДРИЙ:

1. Снижение потребления кислорода
2. Снижение кальций-аккумулирующей способности
3. Увеличение проницаемости внутренней мембраны
4. Набухание митохондрий

# Моделирование гипоксического повреждения

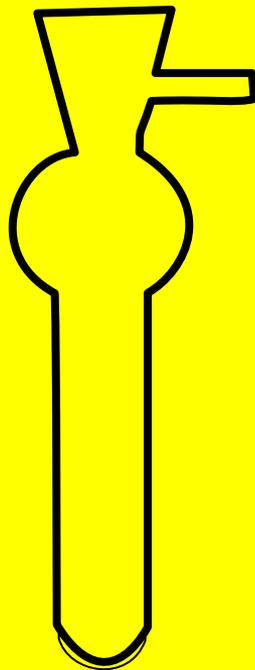
# Условие повреждения митохондрий

$- \text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$

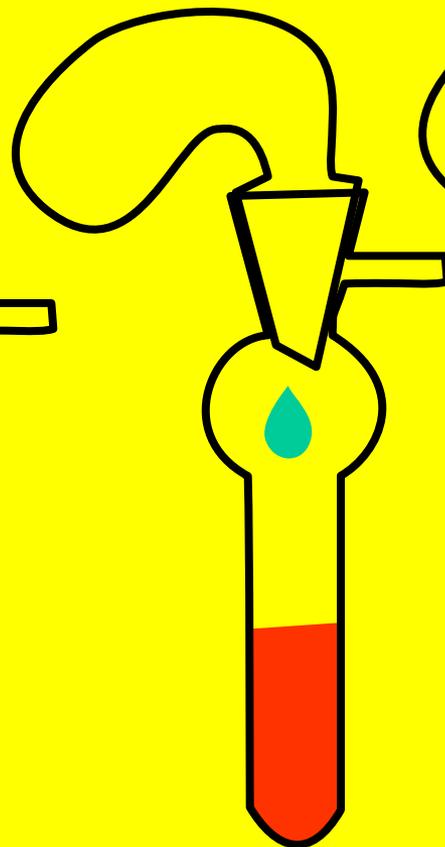
$+ \text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$

$+ \text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$

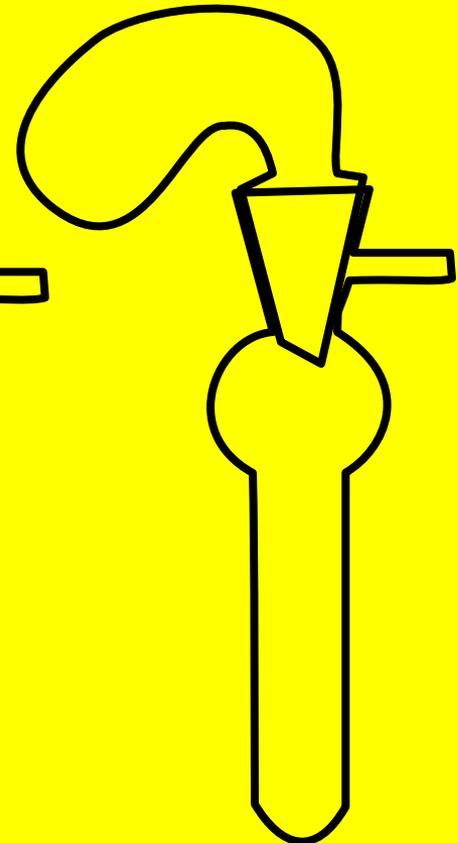
$- \text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Митохондрии интактны



Митохондрии повреждены



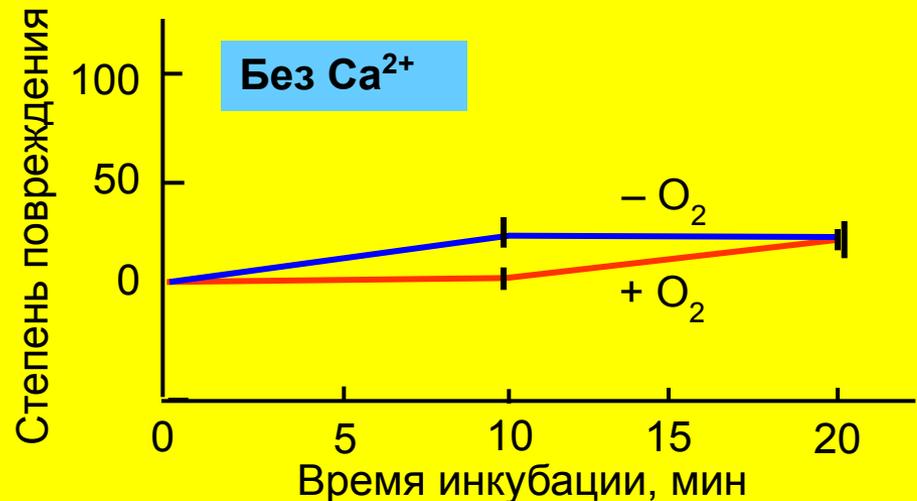
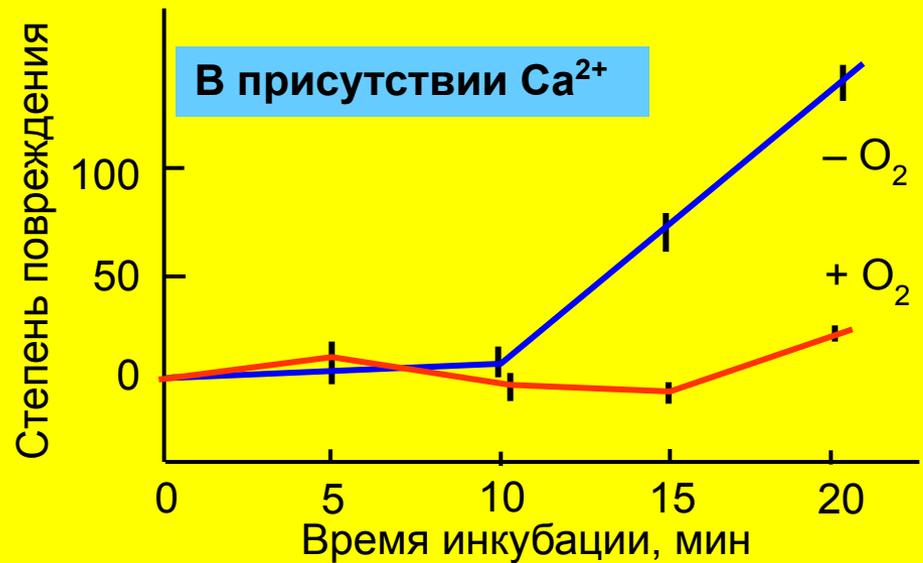
интактны

# Условия повреждения выделенных митохондрий

За степень повреждения принята обратная величина коэффициента дыхательного контроля, по отношению к исходной в %, минус 100 %.

Степень повреждения

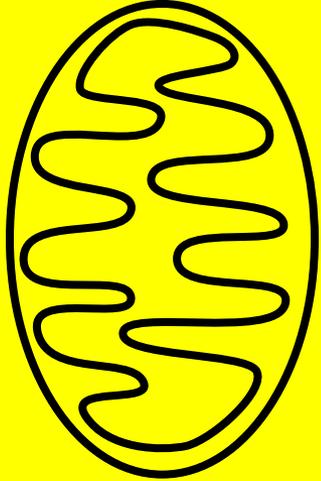
$$\left( \frac{R_0}{R_t} - 1 \right) \times 100\%$$



# Почему митохондрии повреждаются ионами $\text{Ca}^{2+}$ в анаэробных условиях?

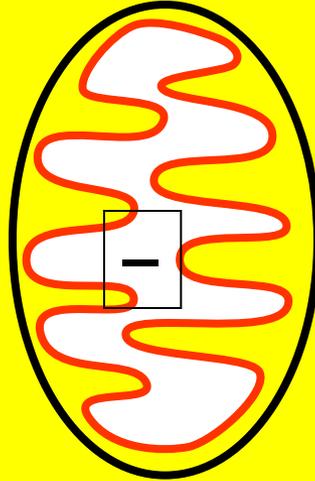
А

$-\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Б

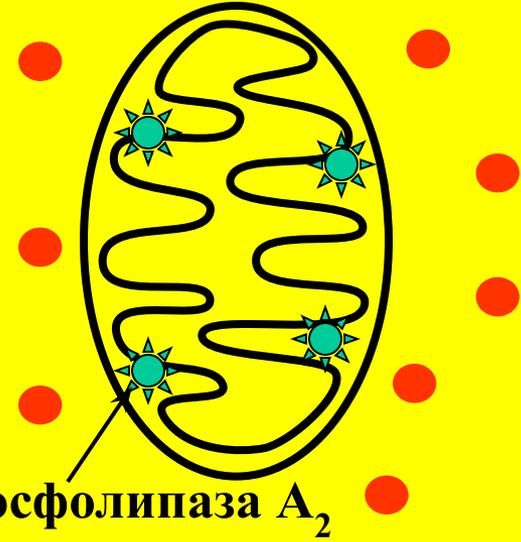
$-\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$



+

Д

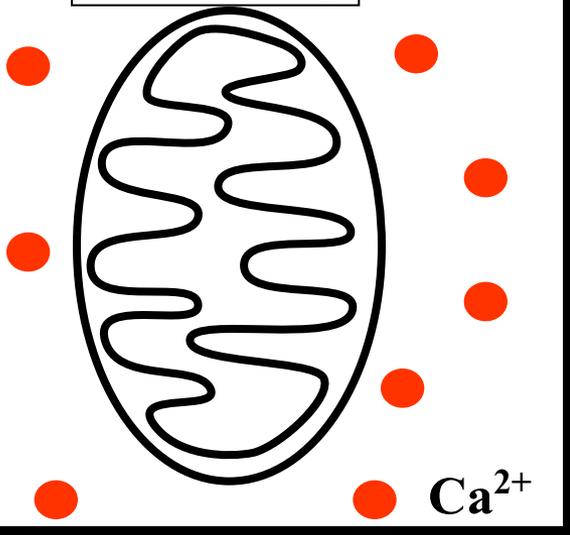
$+\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Фосфолипаза  $\text{A}_2$

В

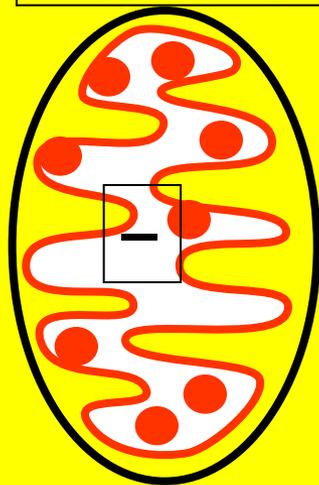
$+\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



$\text{Ca}^{2+}$

Г

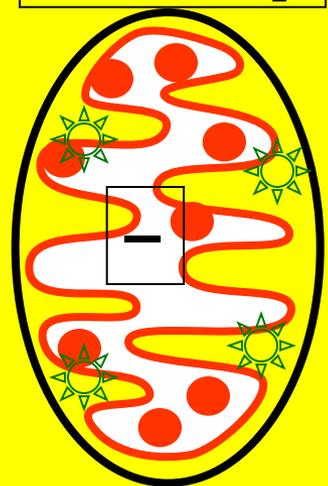
$+\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$



+

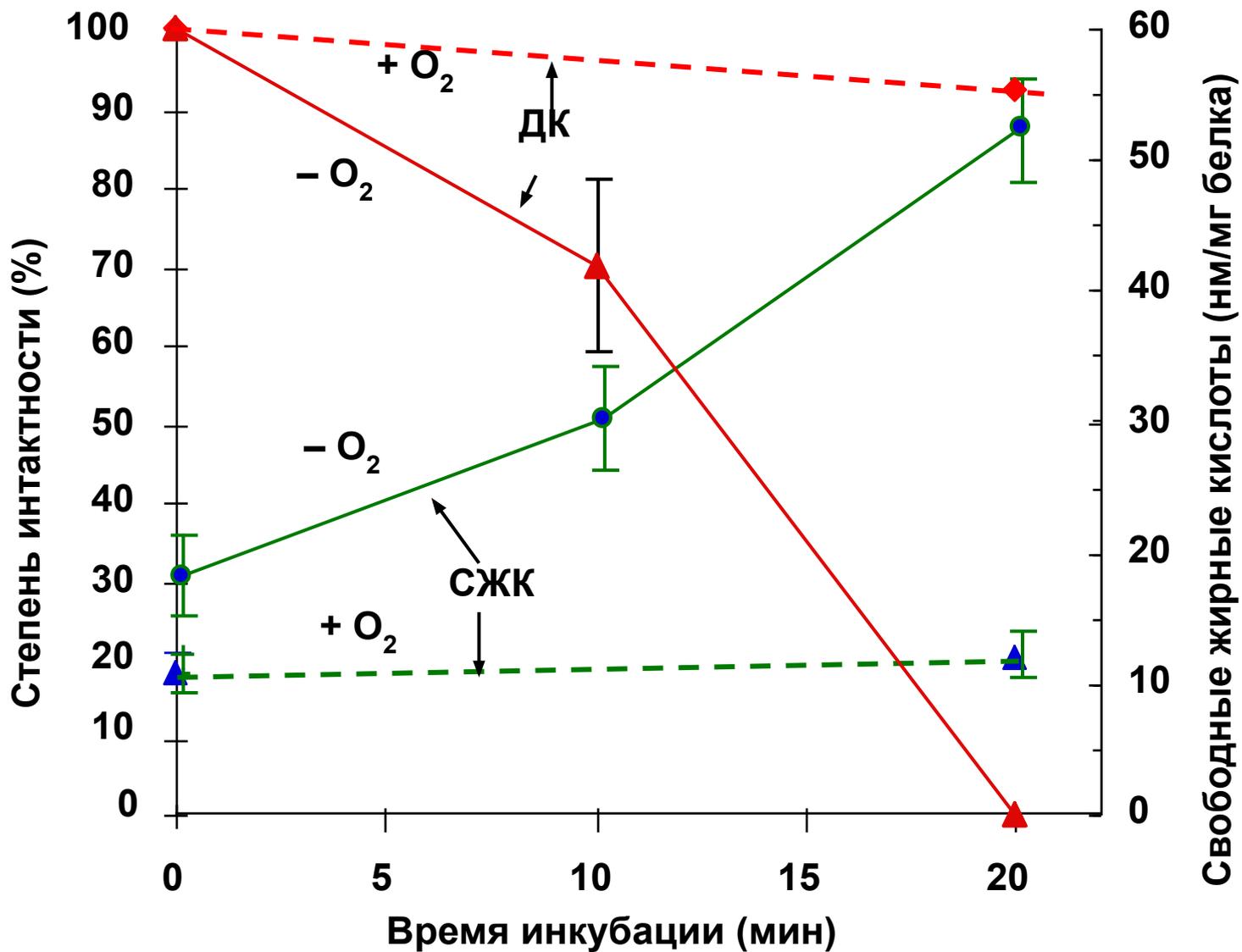
Г

$+\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$

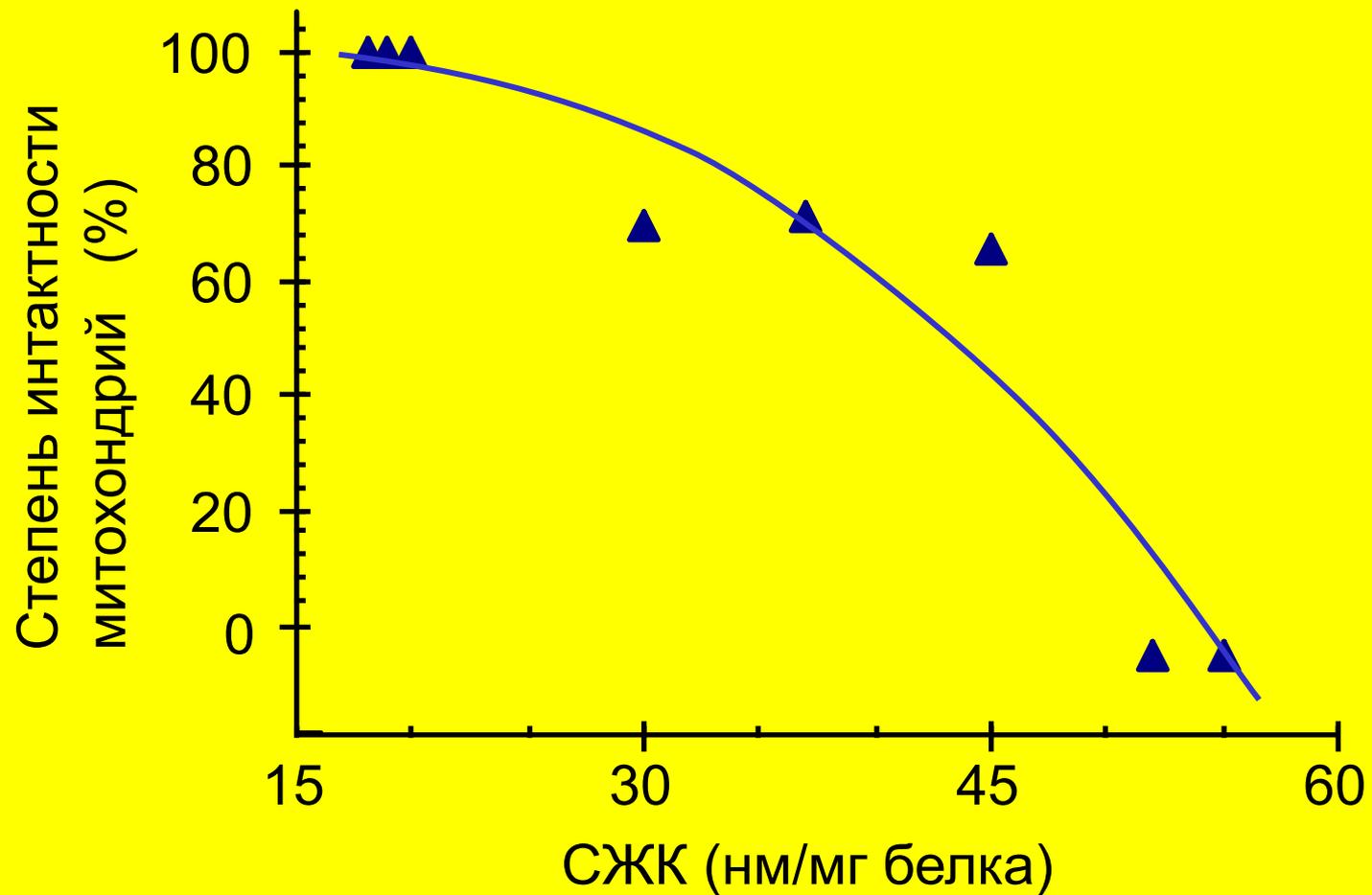


+

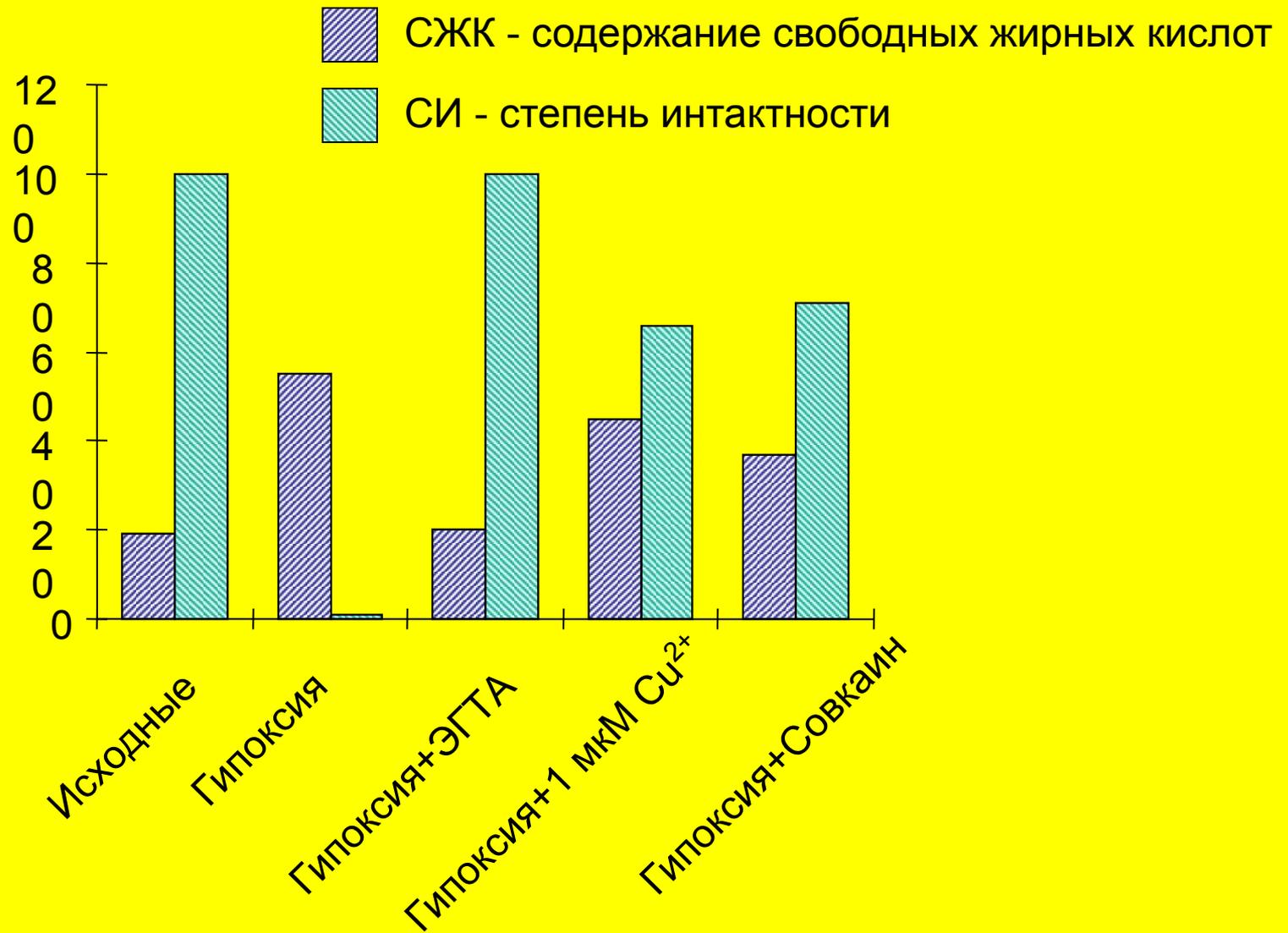
# Накопление свободных жирных кислот (СЖК) и потеря дыхательного контроля (ДК) митохондриями при инкубации с ионами $\text{Ca}^{2+}$



# Корреляция между содержанием СЖК и ИНТАКТНОСТЬЮ МИТОХОНДРИЙ



# Влияние ингибиторов фосфолипазы $A_2$ на накопление $Ca^{2+}$ и интактность митохондрий



# Порочный круг клеточной патологии

Увеличение внутриклеточного содержания кальция и нарушение биоэнергетических функций митохондрий являются общими признаками для клеток, поврежденных в результате действия самых различных неблагоприятных факторов. Эти два события – не простое следствие других изменений в поврежденных клетках: они лежат **в основе нарушения** функций поврежденных клеток и могут рассматриваться как **главные звенья** в цепи событий, приводящих к развитию неспецифической реакции клеток на повреждение.

# Порочный круг в патологии клетки

