

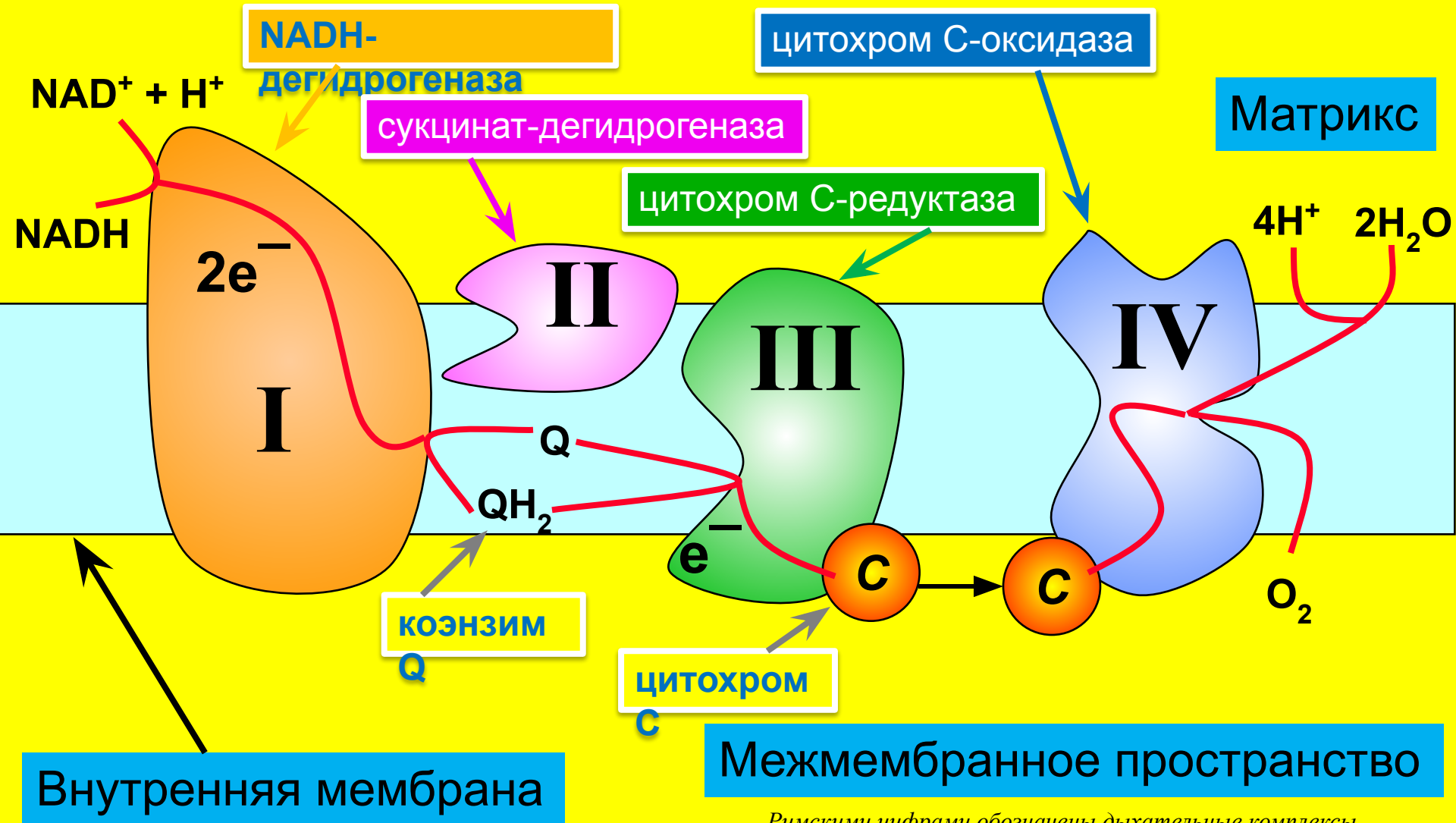
Биофизические основы патологии клетки

Свободные радикалы и болезни человека

Ю.А. Владимиров, А.Н. Осипов
2018

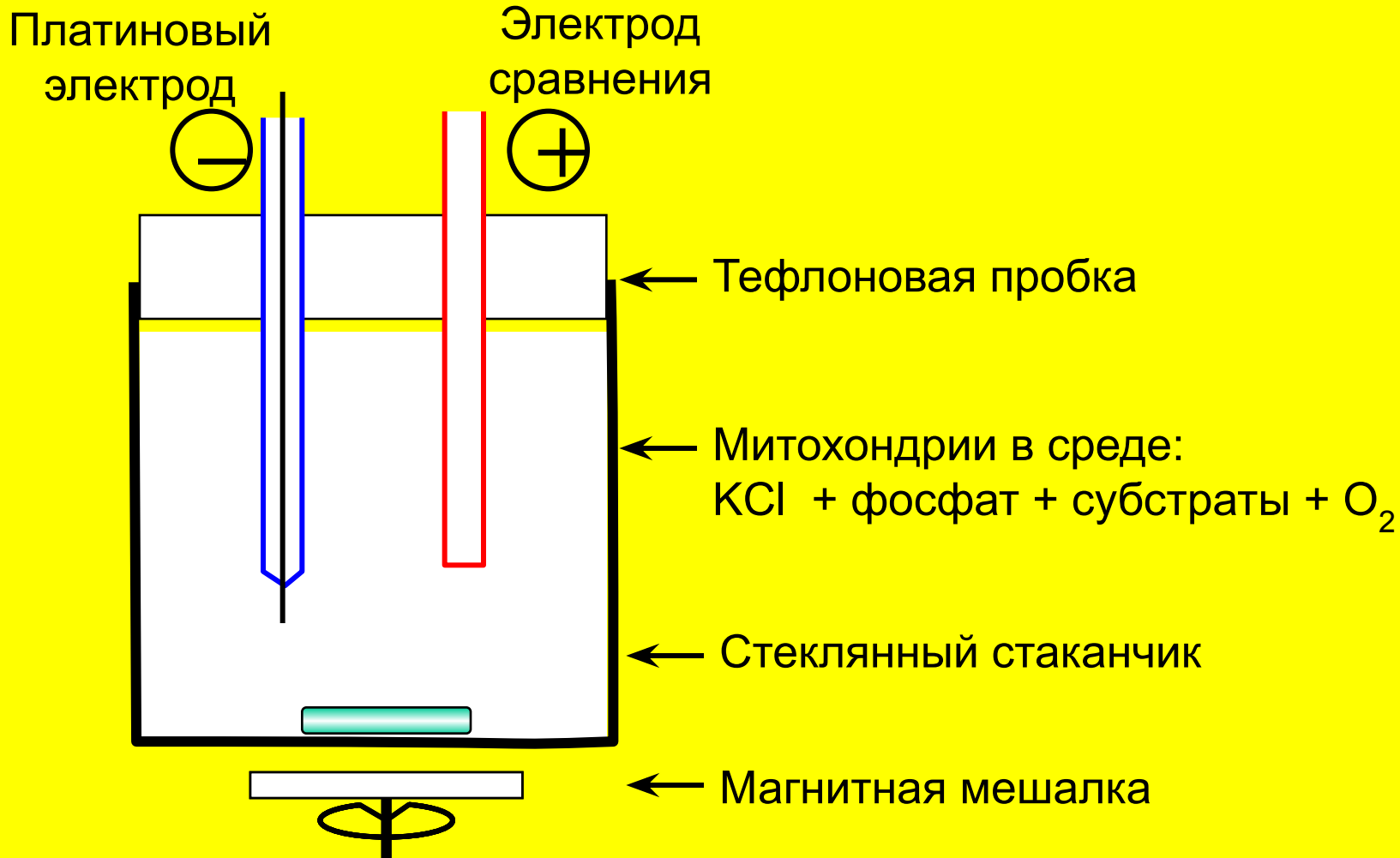
Механизмы нарушения работы МИТОХОНДРИЙ

Дыхательные комплексы митохондрий



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

Полярографический метод изучения дыхания митохондрий

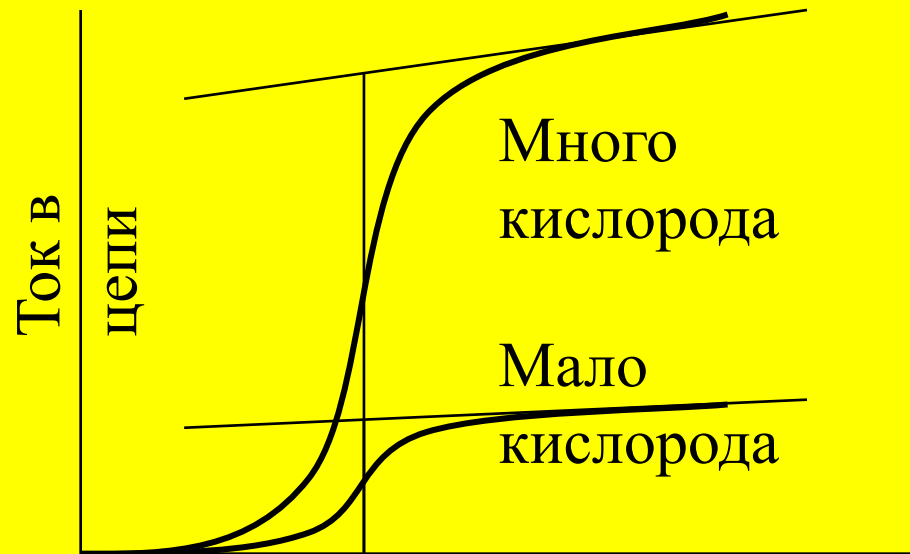
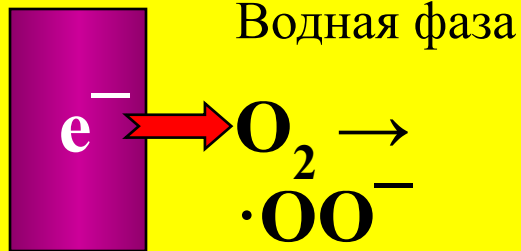


Полярографическая волна

Реакция на

катоде:

Pt - электрод



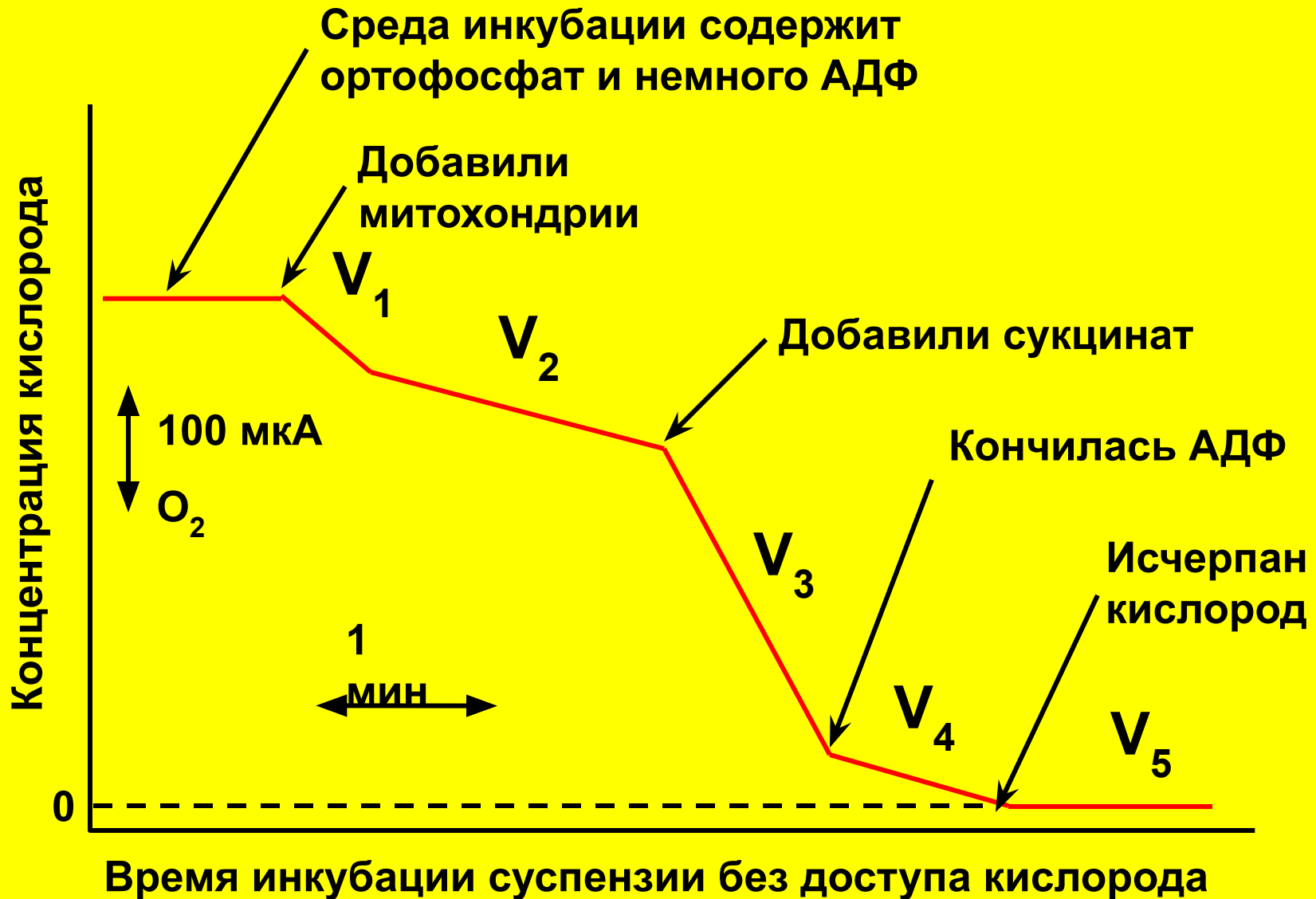
0,45 В

Потенциал на Pt-катоде



Калибровочная кривая

Потребление кислорода митохондриями в разных состояниях по Б. Чансу

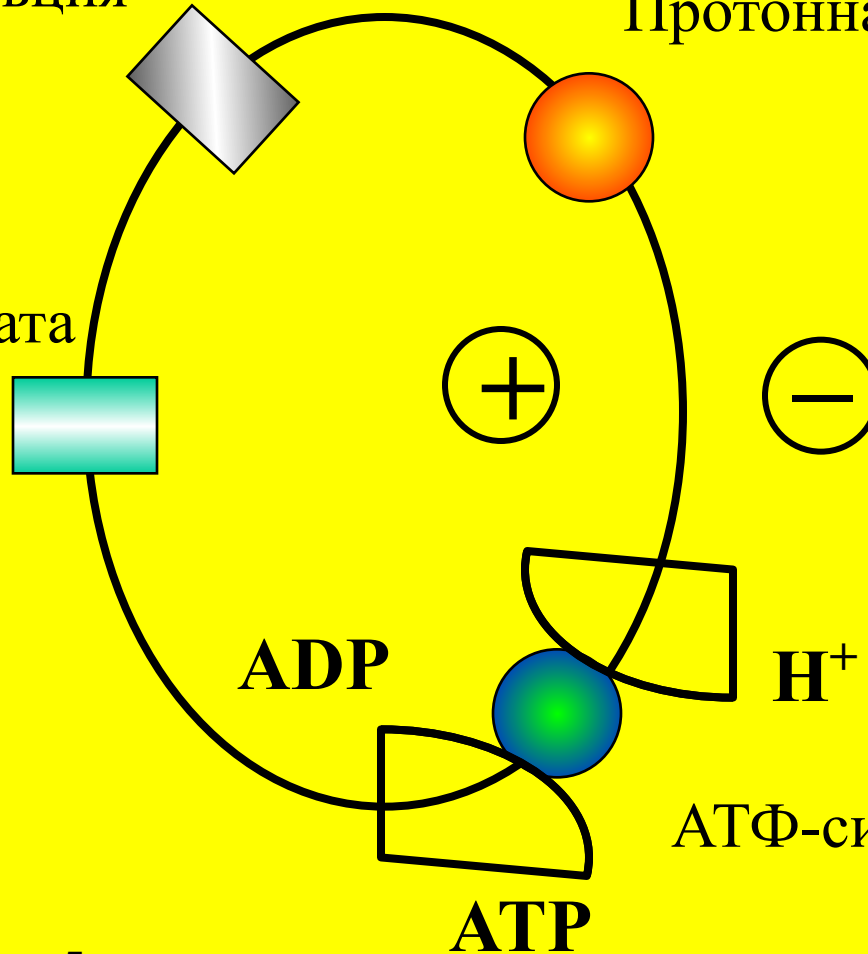
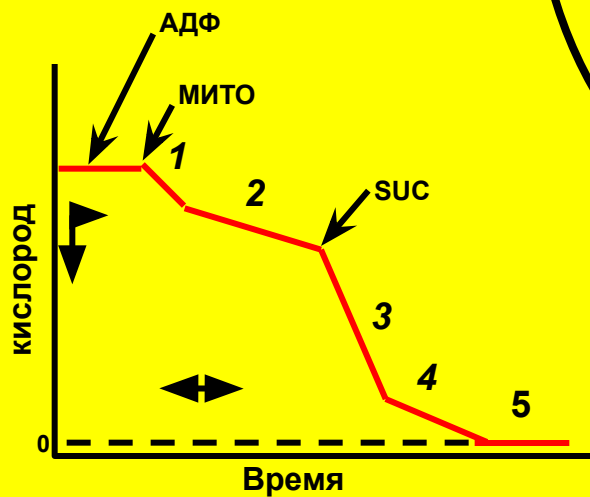


Состояние 2 - деэнергизованное

Переносчик кальция

Протонная помпа

Переносчик фосфата

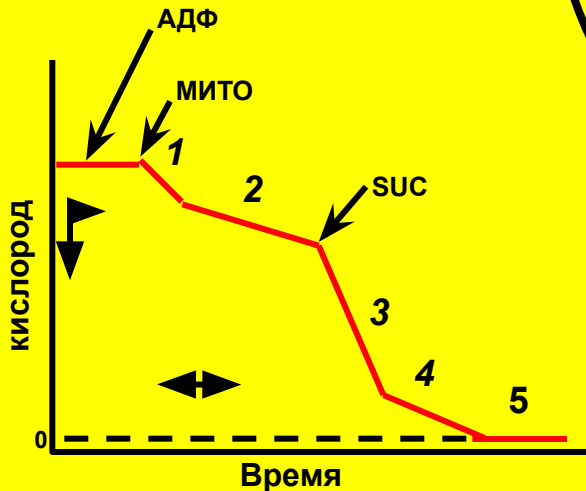


Состояние 3 - Фосфорилирующее

Переносчик кальция

Протонная помпа

Переносчик фосфата



ADP

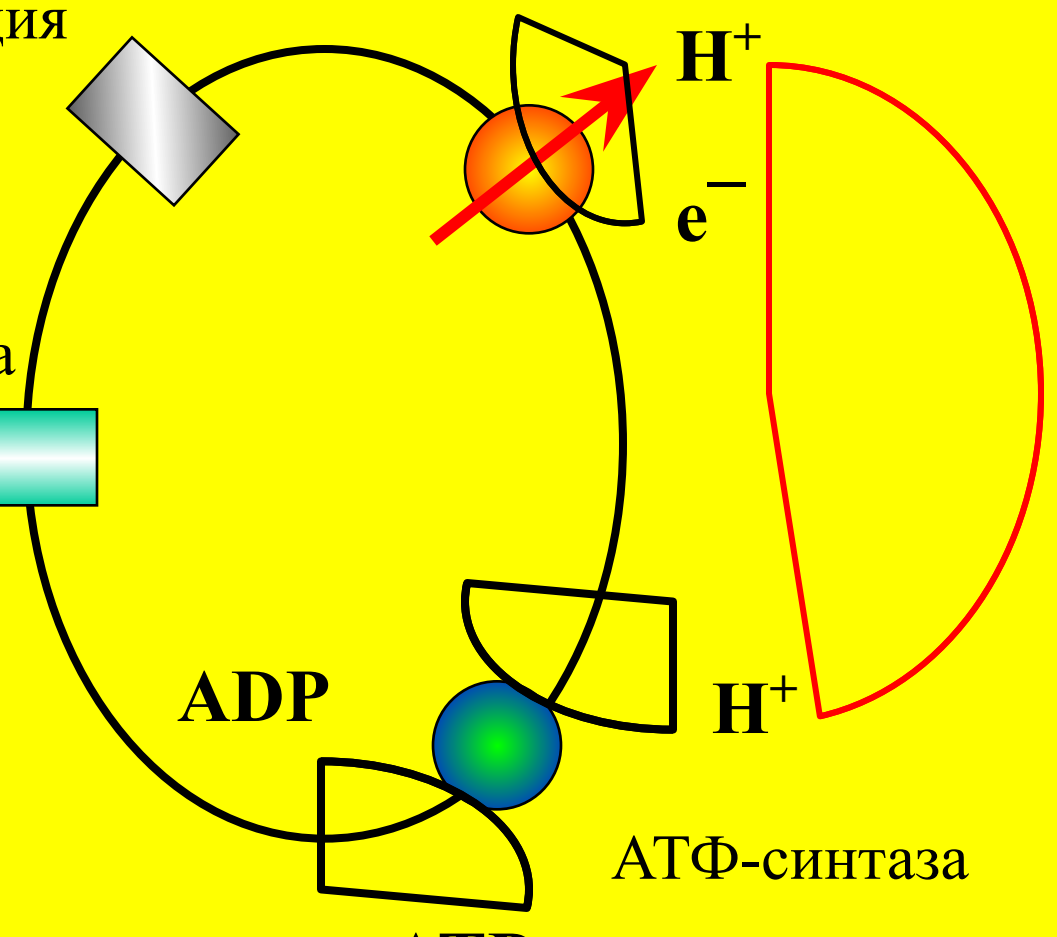
ATP

АТФ-синтаза

H^+

e^-

H^+

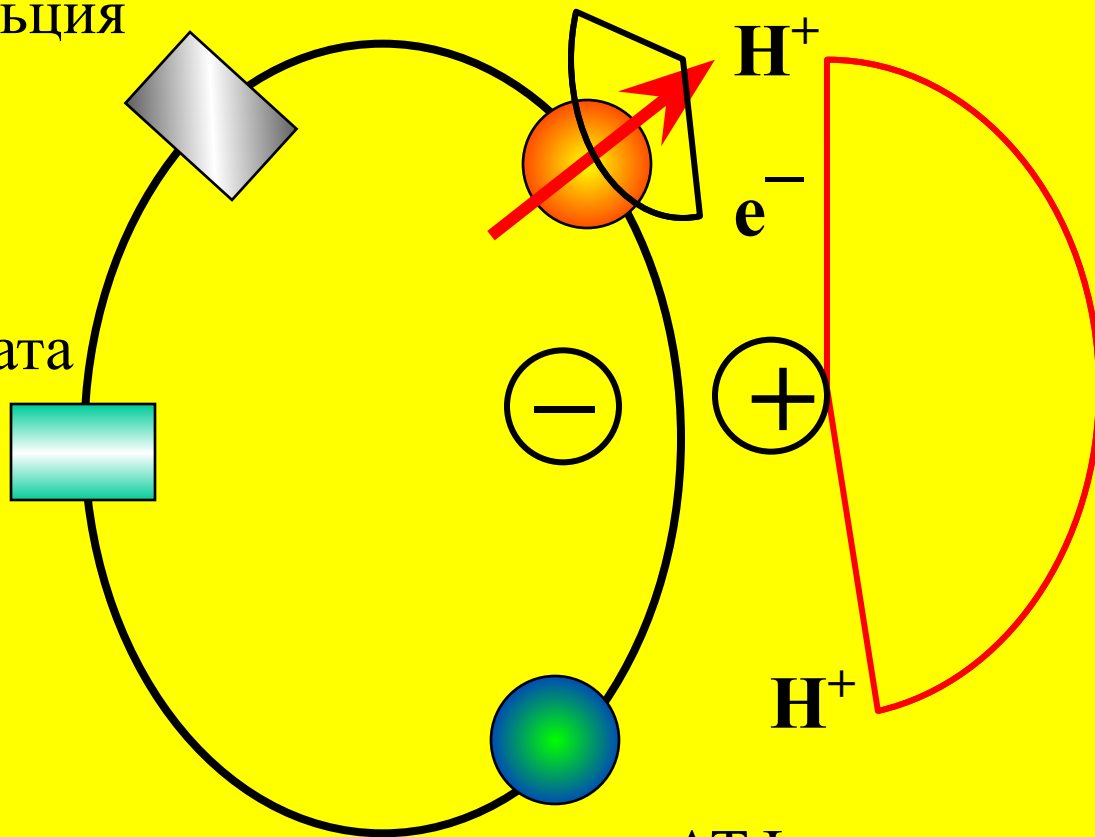
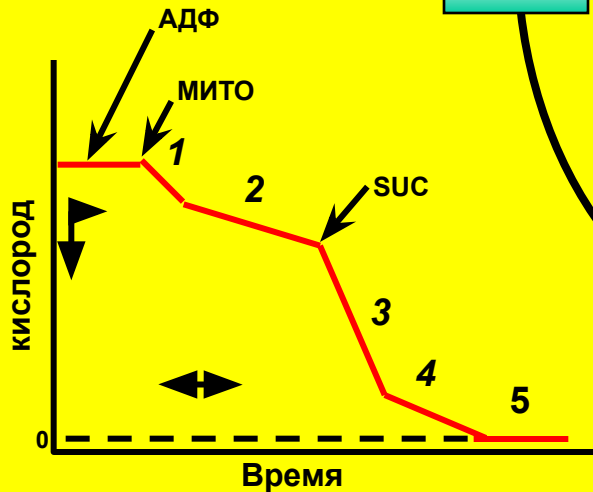


Состояние 4 – Энергизованное (Дыхательный контроль)

Переносчик кальция

Переносчик фосфата

Протонная помпа



H^+

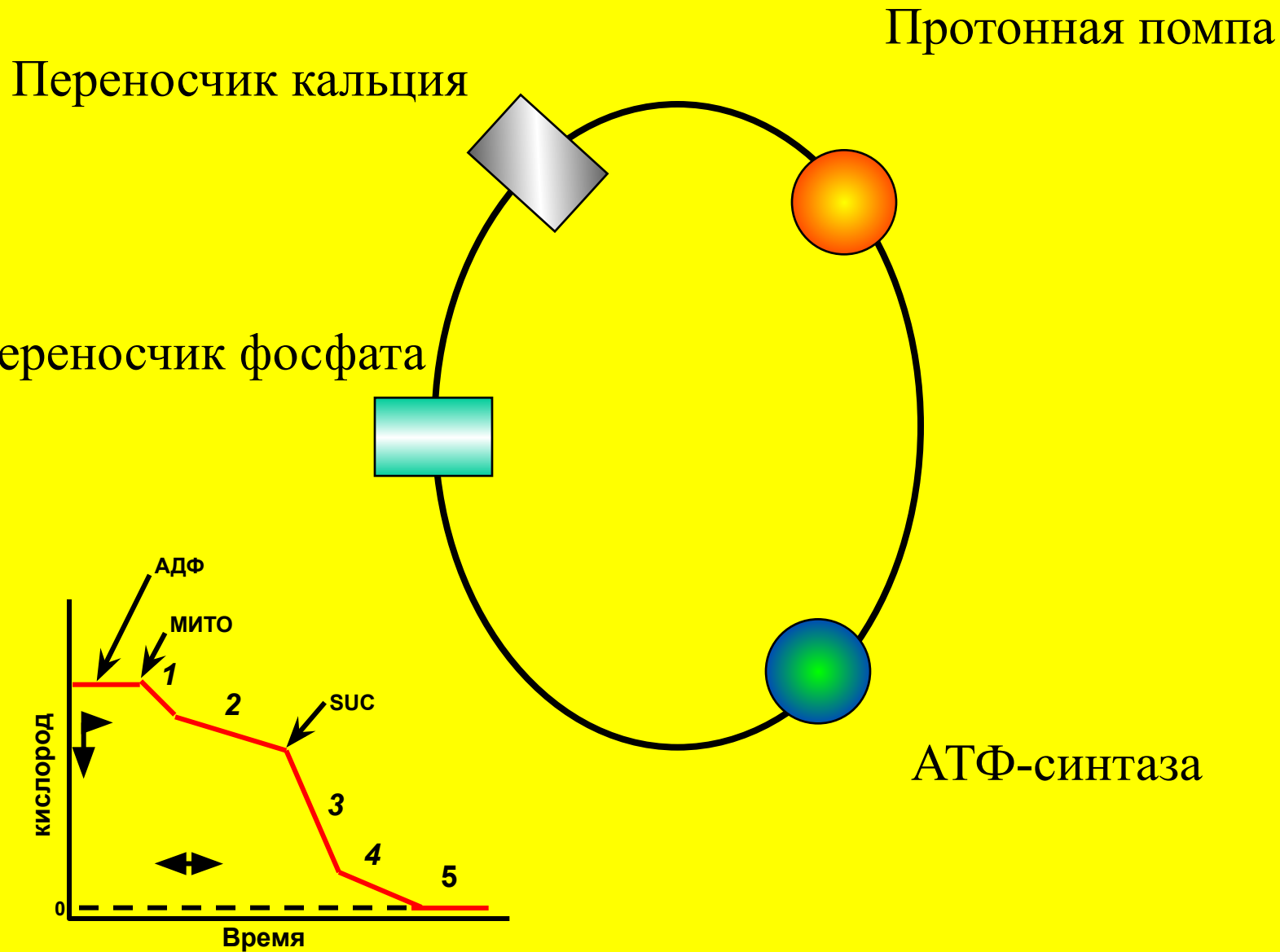
e^-

$\Delta\phi$
 ΔpH

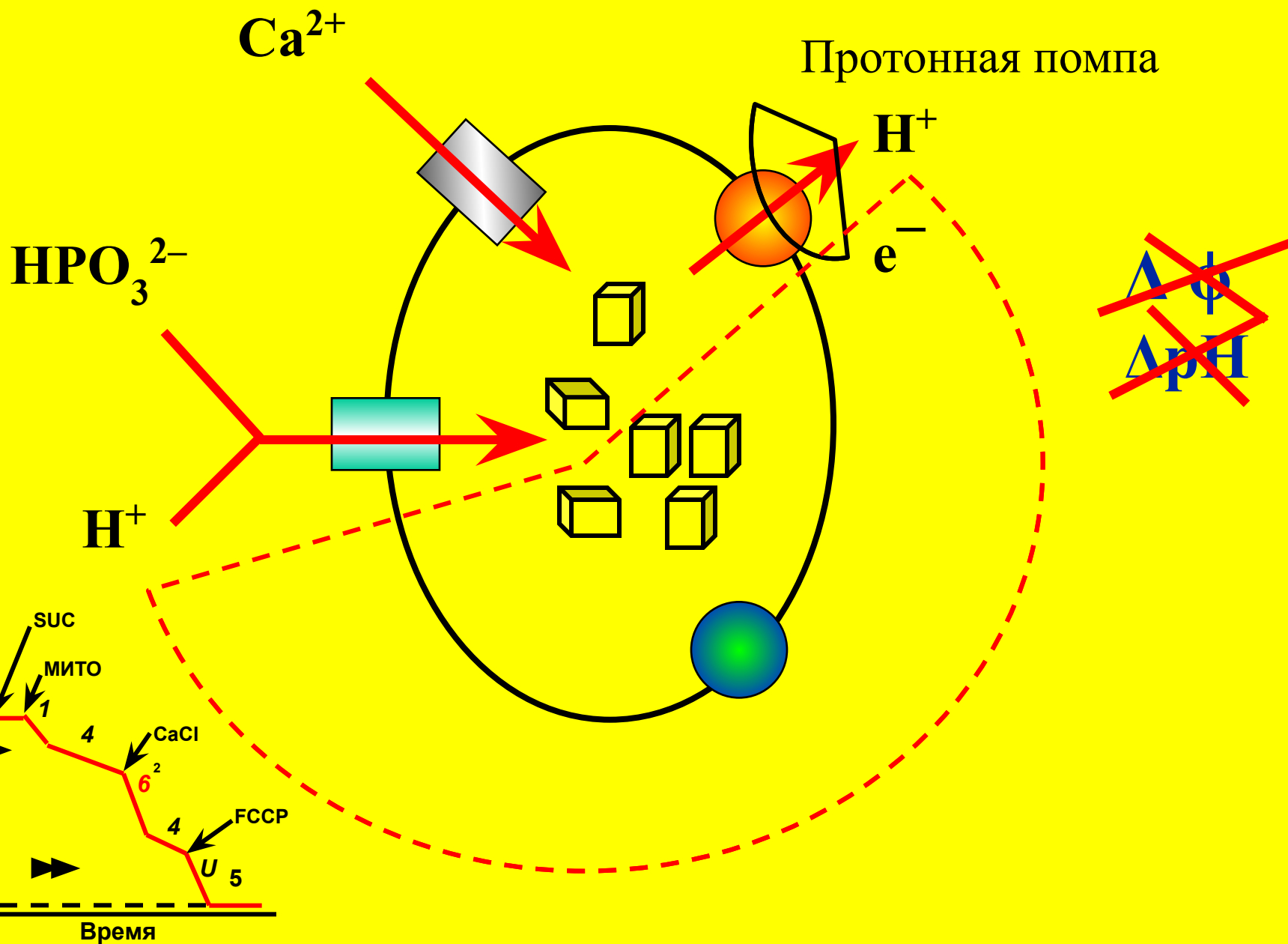
H^+

АТФ-синтаза

Состояние 5 – Анаэробное



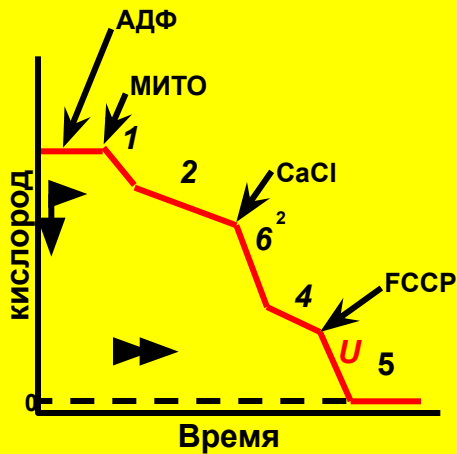
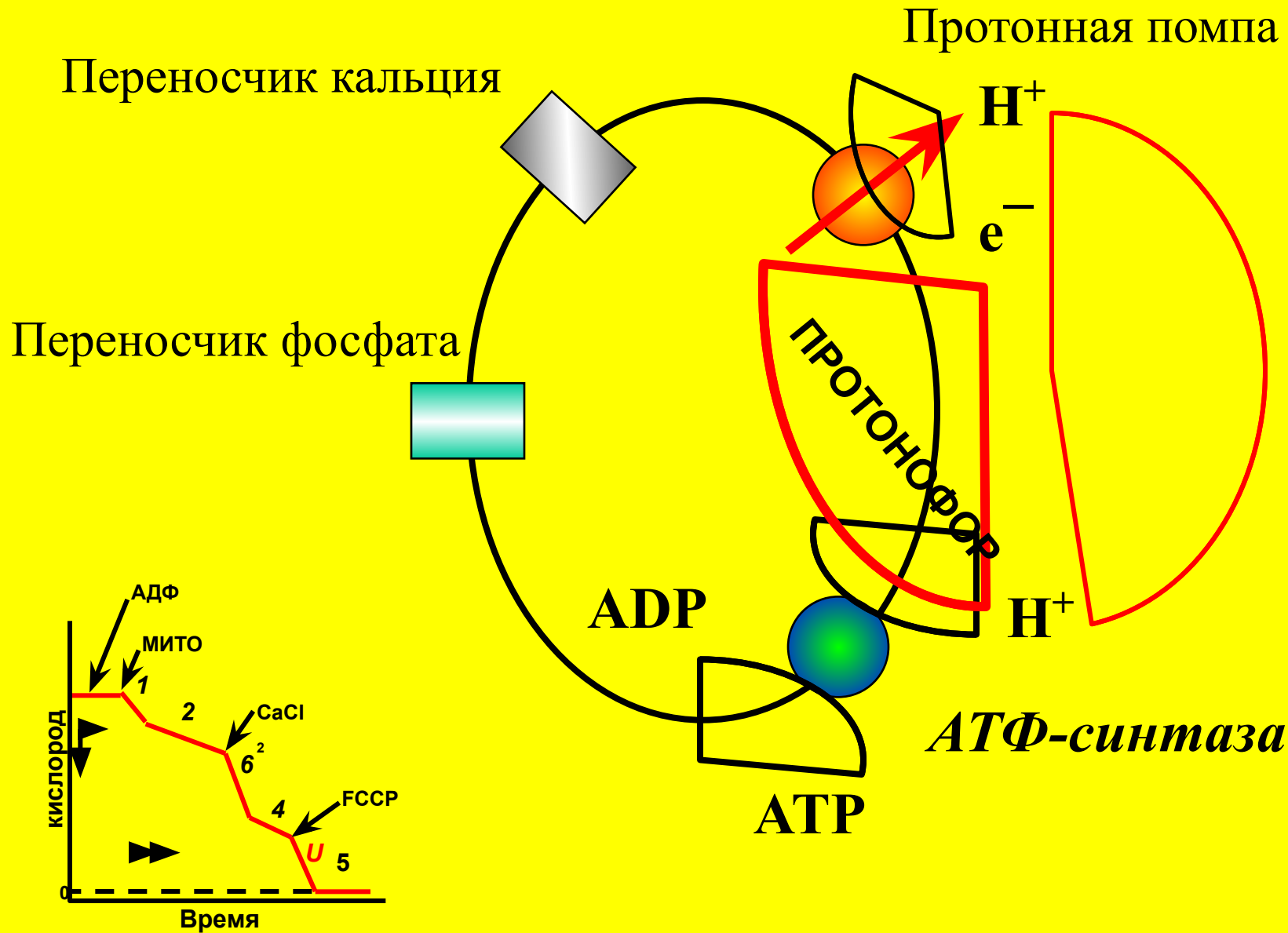
Состояние 6 – Транспорт ионов



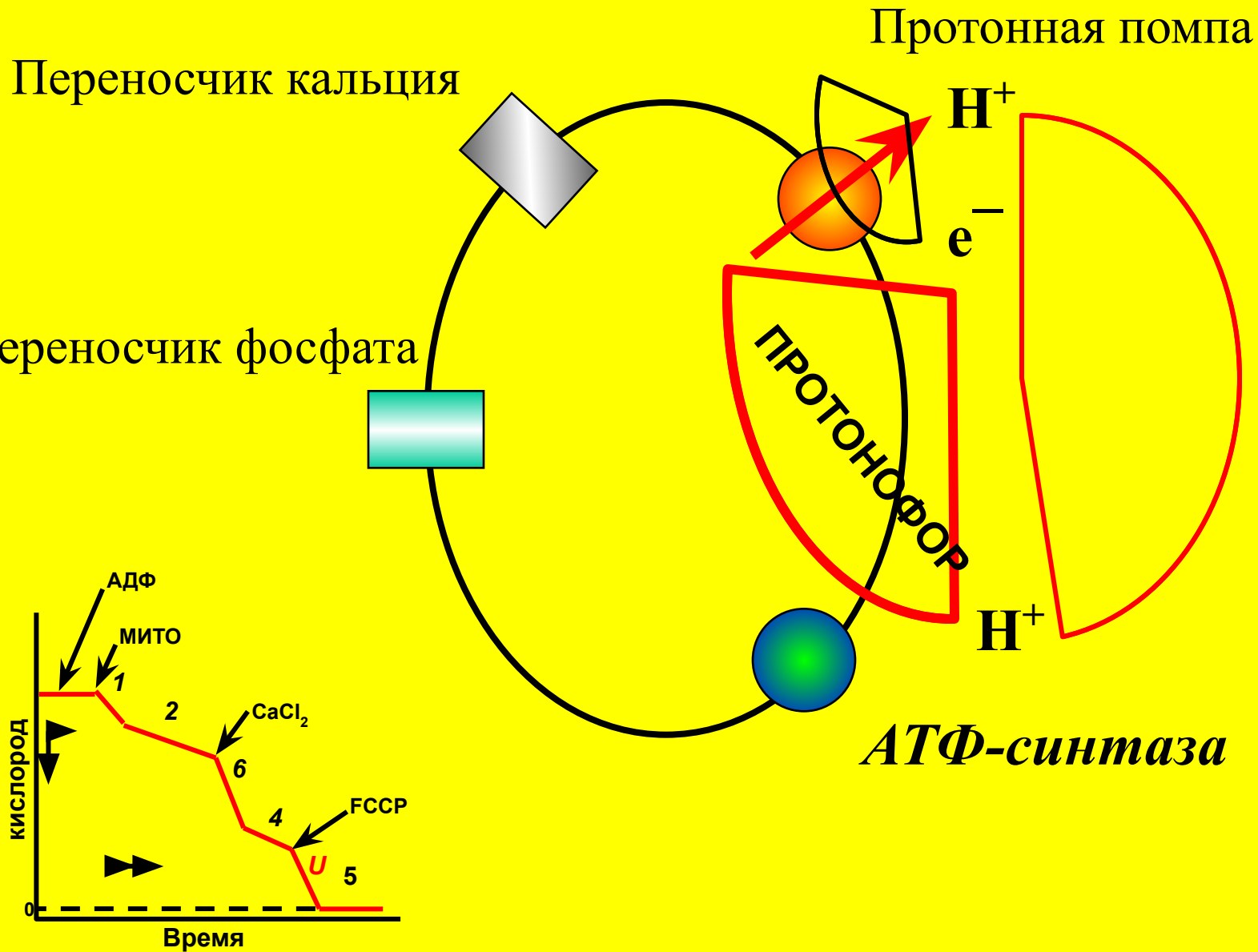
Потребление кислорода митохондриями при транспорте ионов



Разобщение фосфорилирования



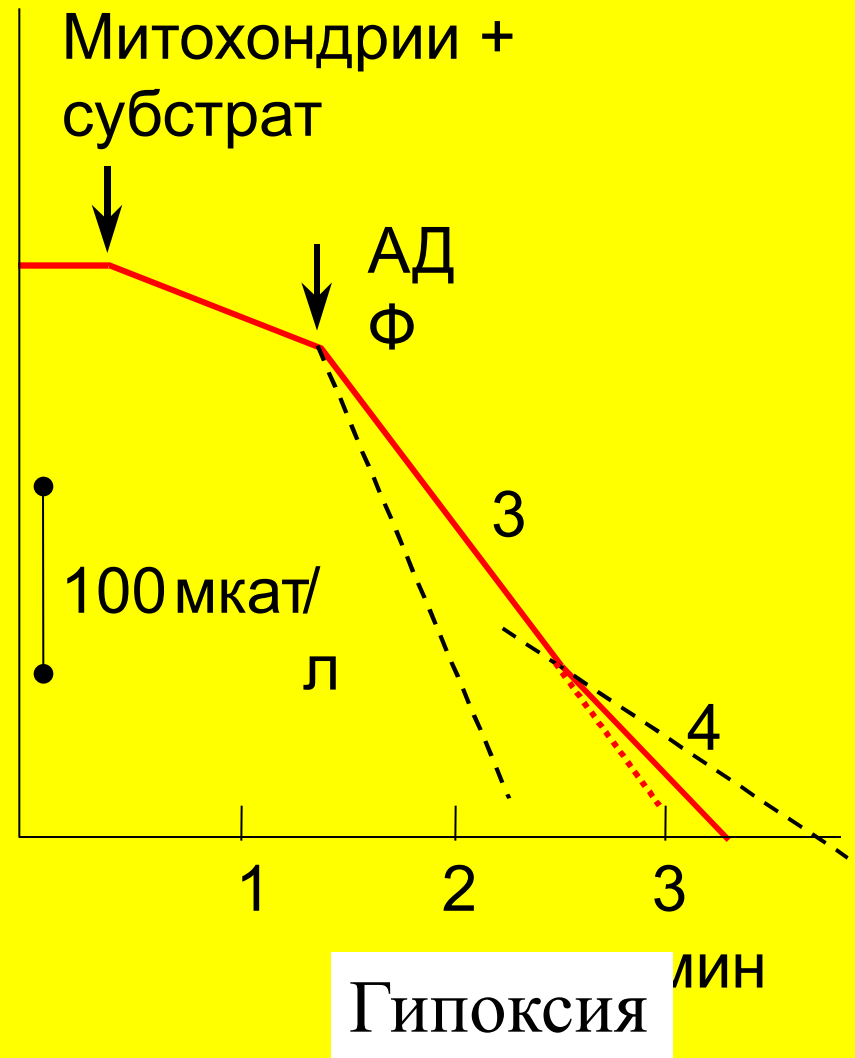
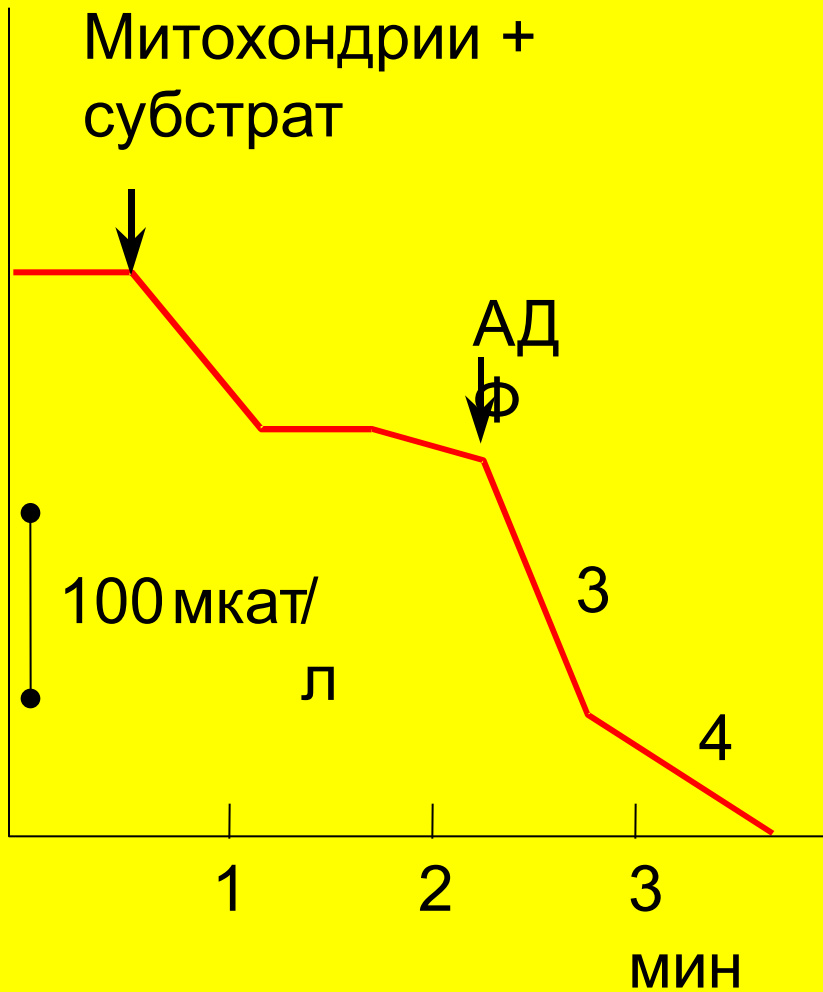
Состояние U - Разобщенное



Коэффициент Дыхательного контроля



Изменение свойств митохондрий при гипоксии ткани



Характеристика функциональных состояний

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

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

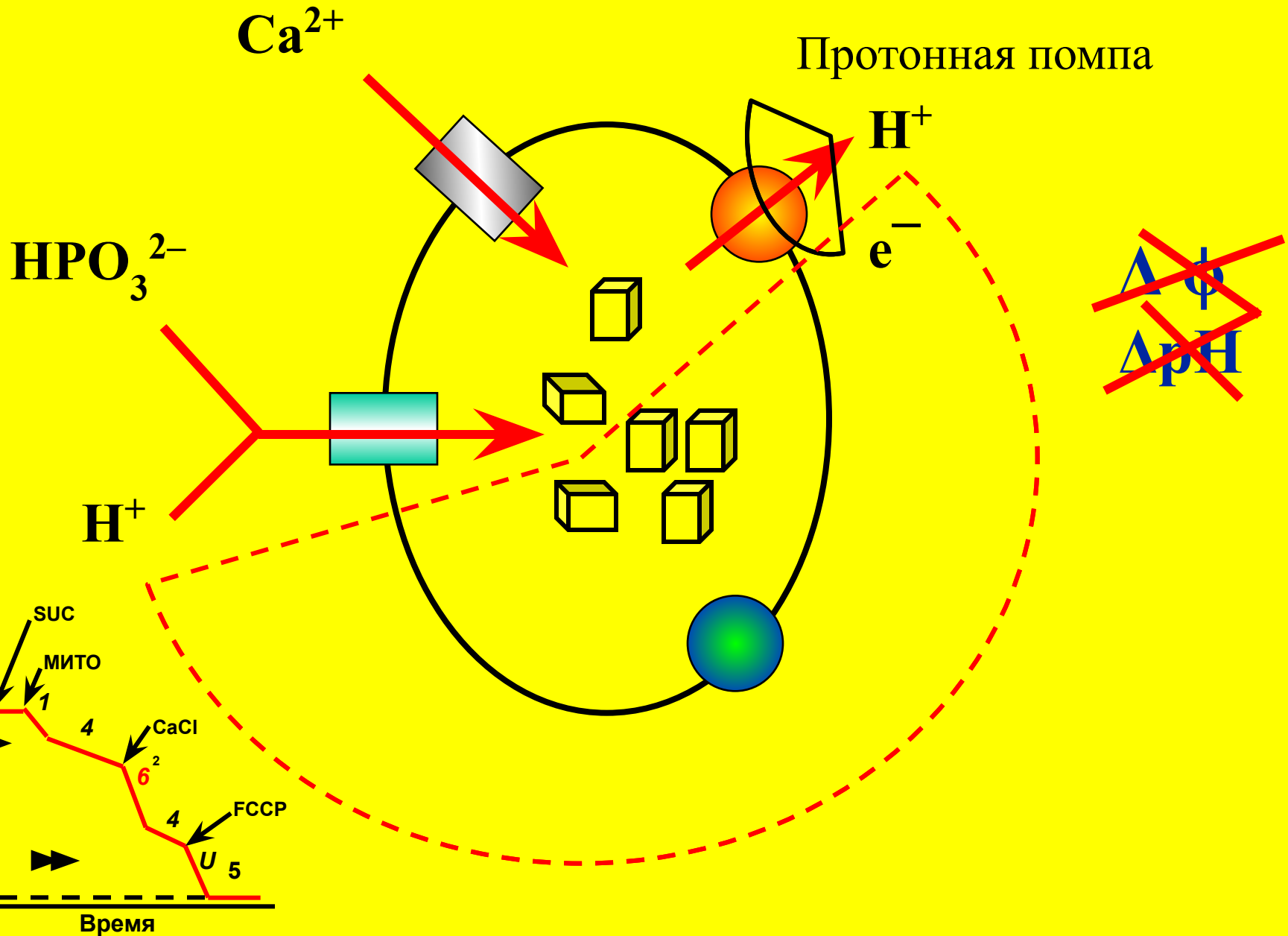
Состояние	Нарушен перенос электронов	Повреждена мембрана	Нарушен транспорт фосфата	Нарушен АТФ-АДФ обмен
2				
3	↓		↓	↓
4		↑		
5	—	—	—	—
6	↓		↓	—
U	↓		—	—

Нарушение структуры и функций МИТОХОНДРИЙ:

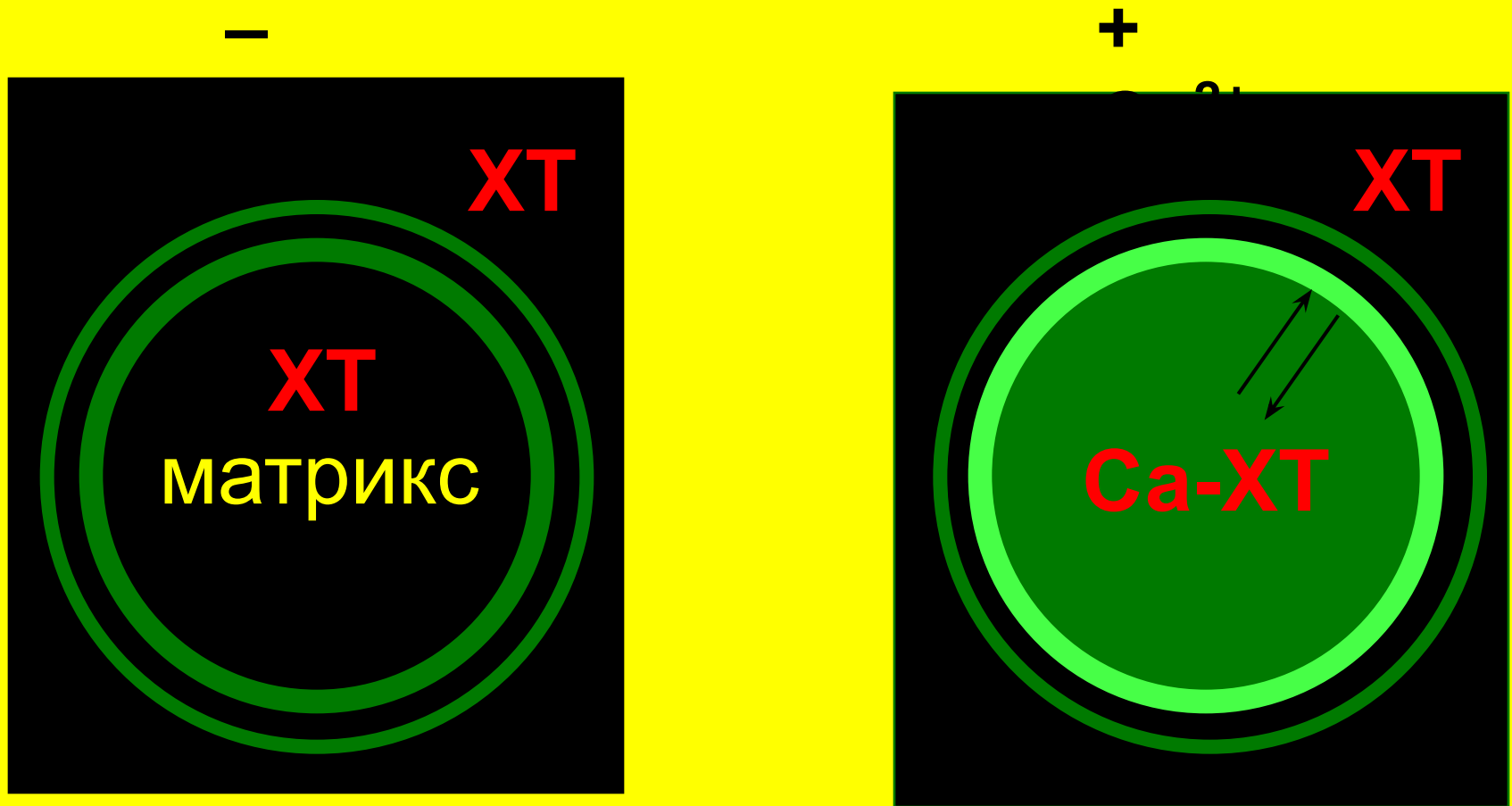
1. Снижение потребления кислорода
2. ...
3. ...
4. ...

Снижение кальций-аккумулирующей способности:

Состояние 6 – Транспорт ионов

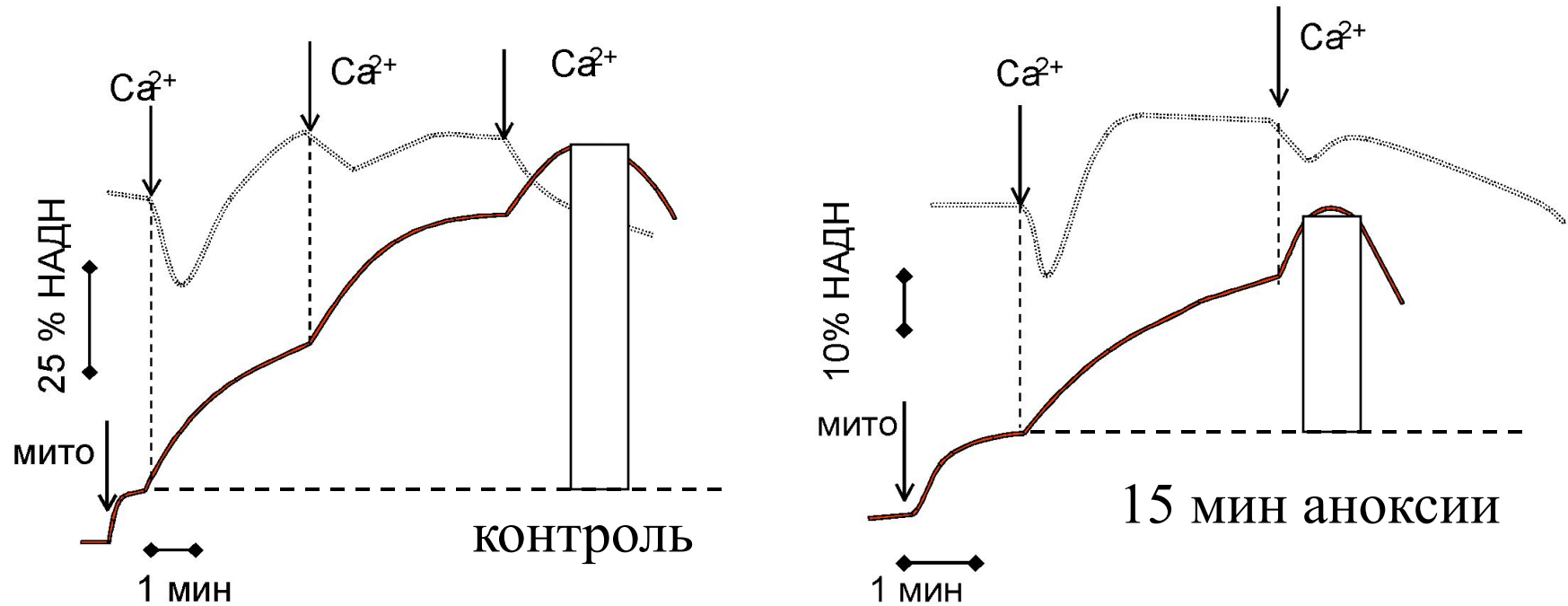


Причина роста флуоресценции хлортетрациклина при
накоплении Ca^{2+} в матриксе митохондрий



Внутренняя мембрана митохондрий

Кальций-аккумулирующая емкость МИТОХОНДРИЙ



..... Флуоресценция НАДН

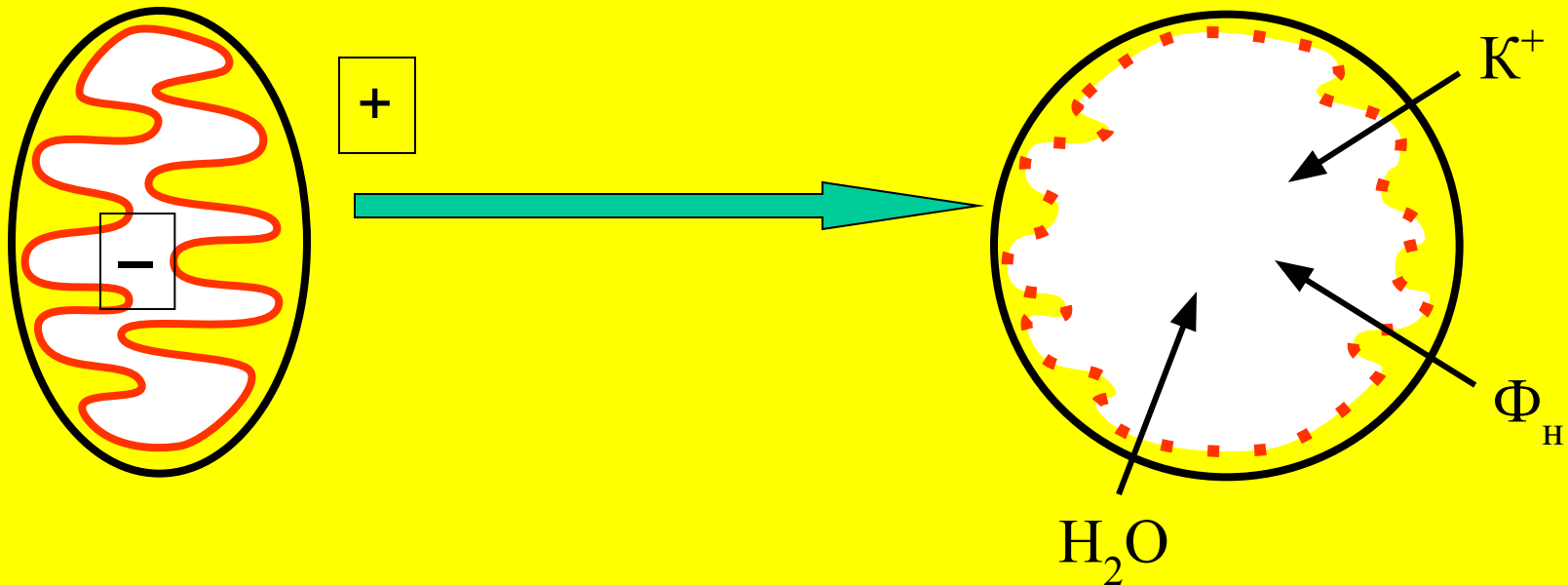
————— Флуоресценция Са-ХТЦ

Нарушение структуры и функций МИТОХОНДРИЙ:

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

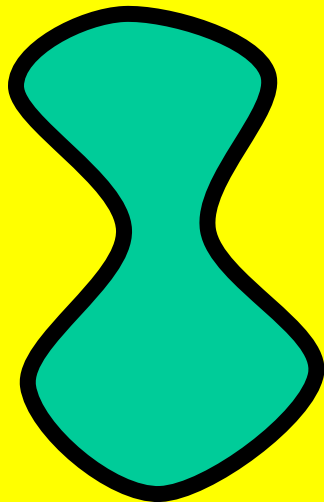
Повреждение митохондрий при гипоксии

Набухание митохондрий



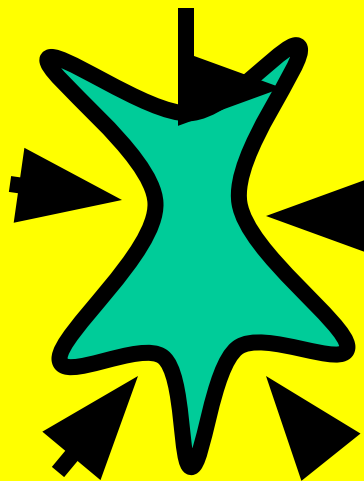
Поведение клетки и митохондрий в средах с разной осмотической концентрацией веществ

1



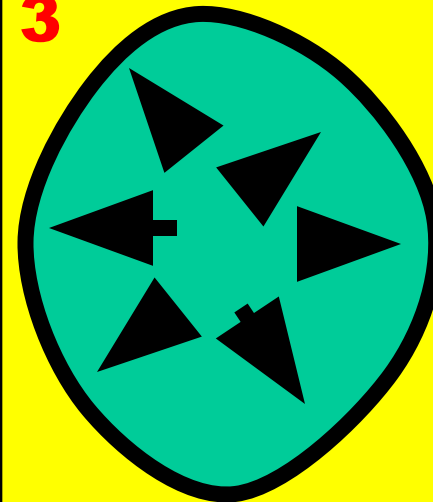
Изотони

2



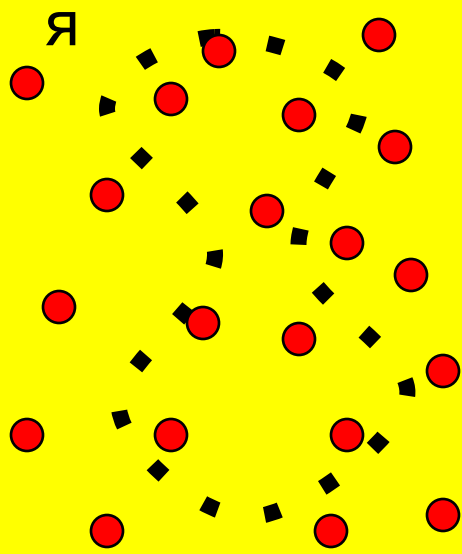
Гипертони

3

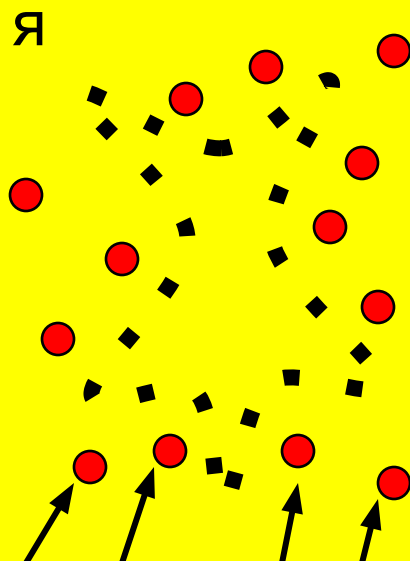


Гипотони

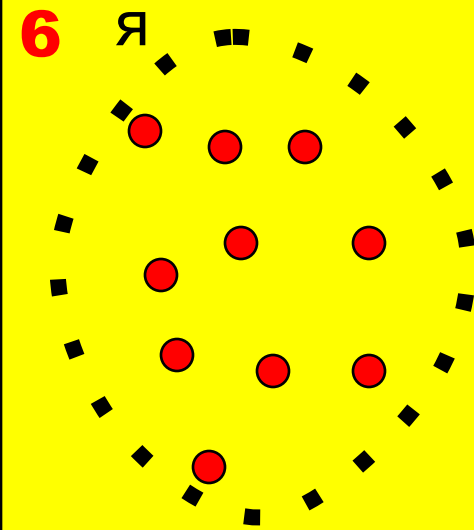
4



5



6



Осмотически-активные

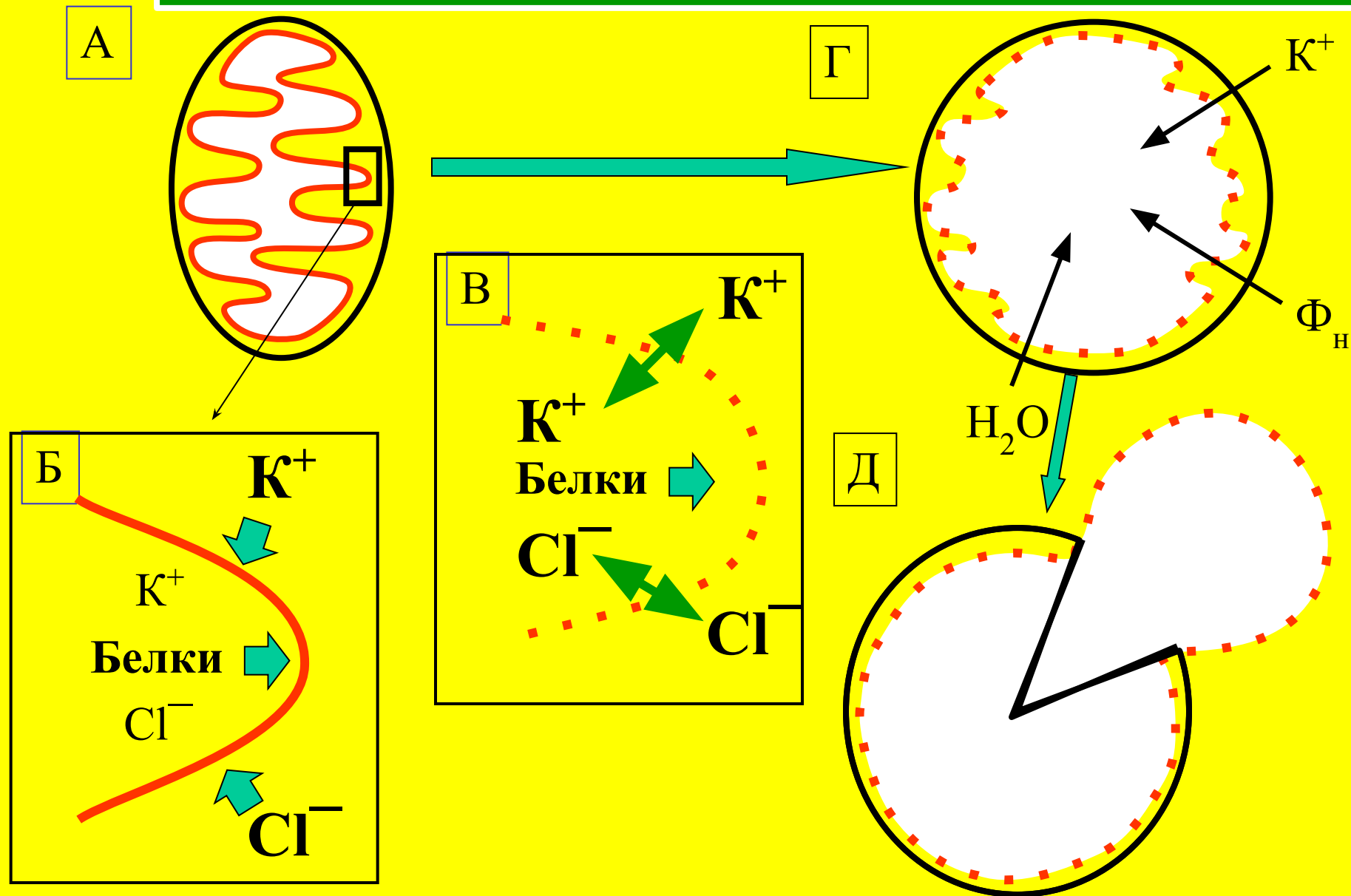
Типы набухания митохондрий:

А. Пассивное

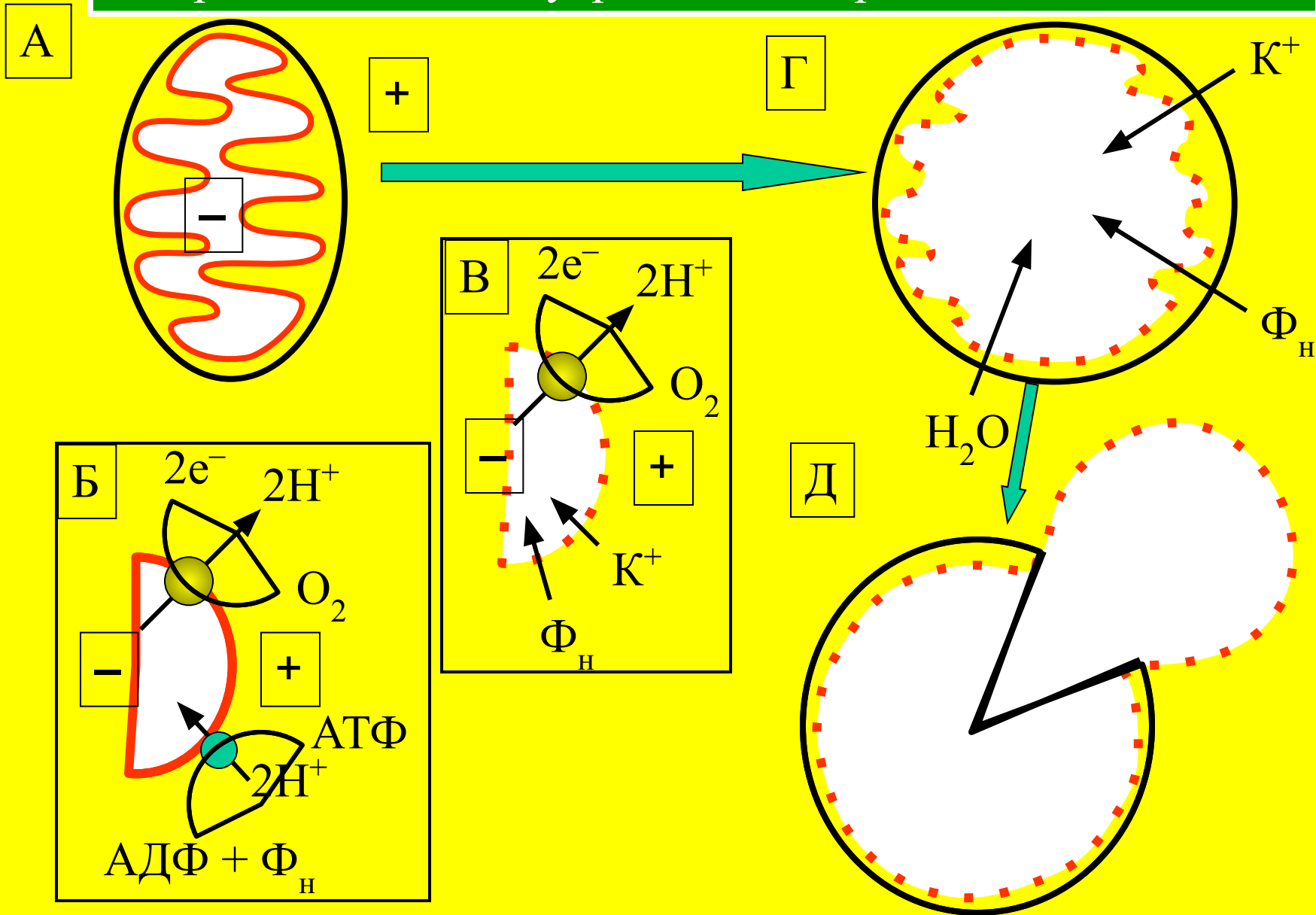
Б. Активное

- 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

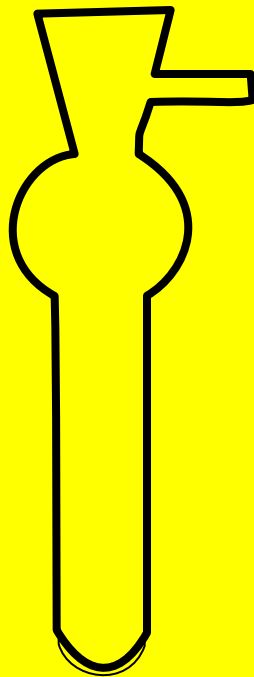
Условие повреждения митохондрий

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

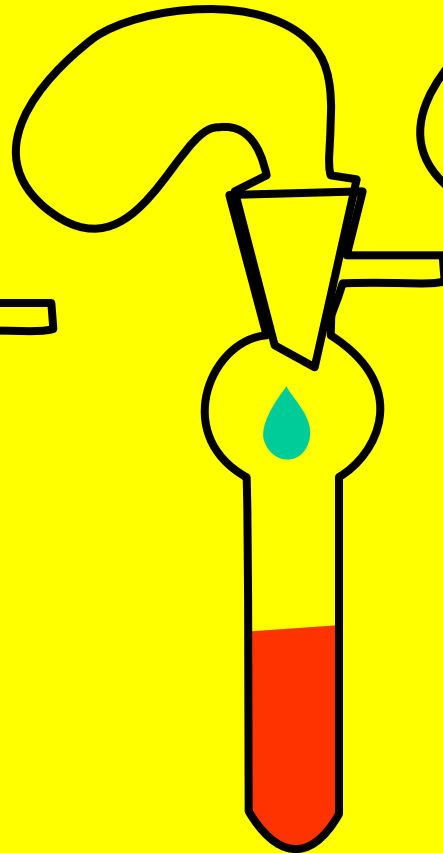
$+ \text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$

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

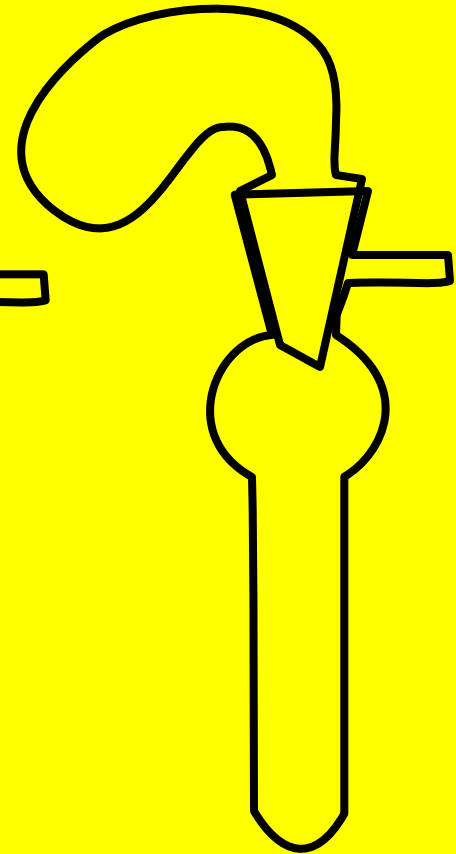
$- \text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Митохондрии интактны



Митохондрии повреждены



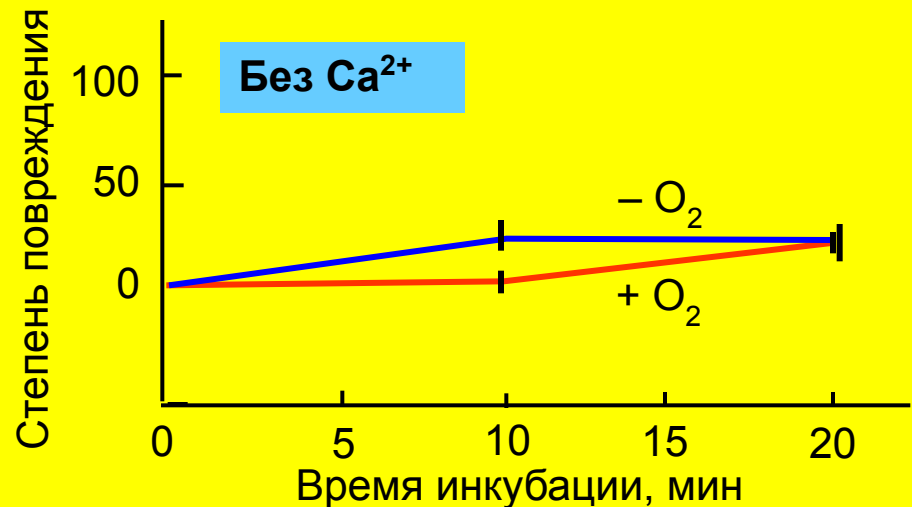
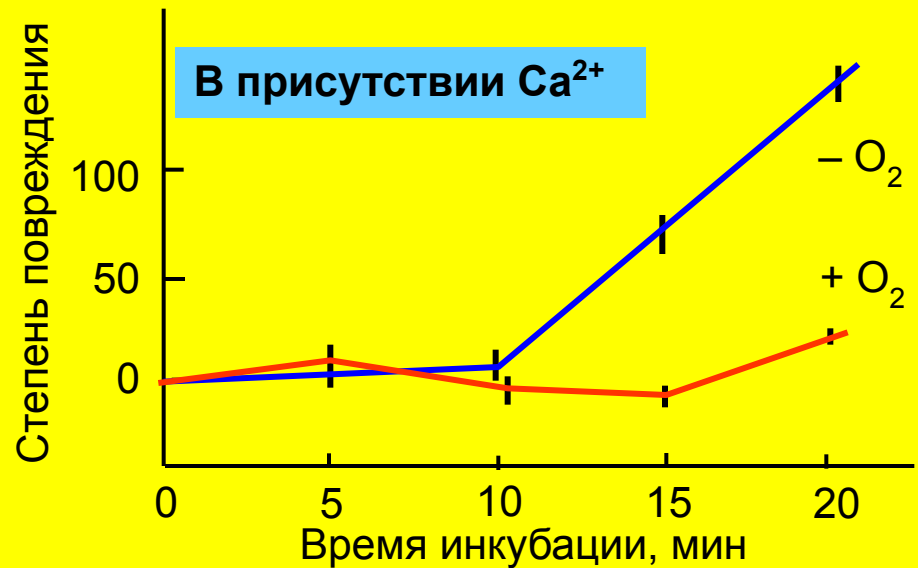
интактны

Условия повреждения выделенных митохондрий

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

Степень повреждения

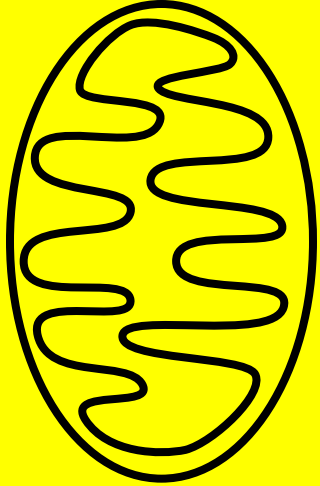
$$\left(\frac{R_0}{R_t} - 1 \right) \times 100\%$$



Почему митохондрии повреждаются ионами Ca^{2+} в анаэробных условиях?

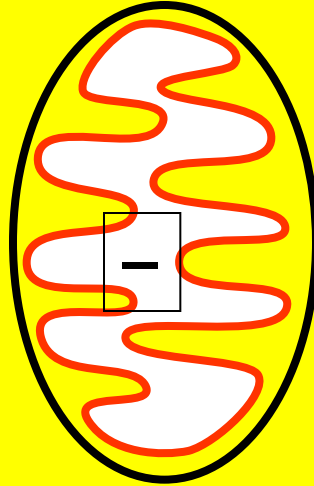
А

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



Б

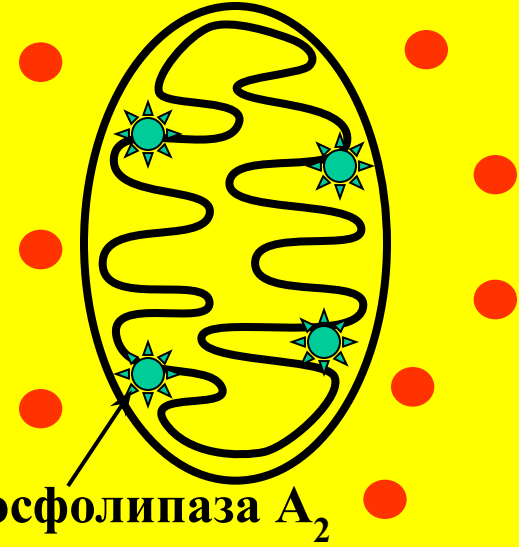
$-\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$



+

Д

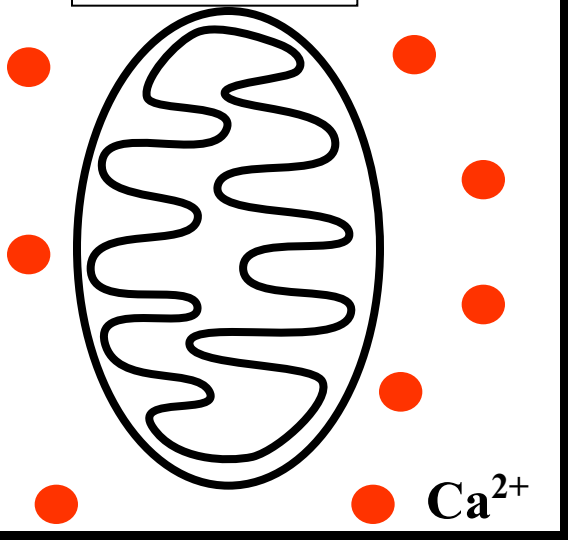
$+\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Фосфолипаза A_2

В

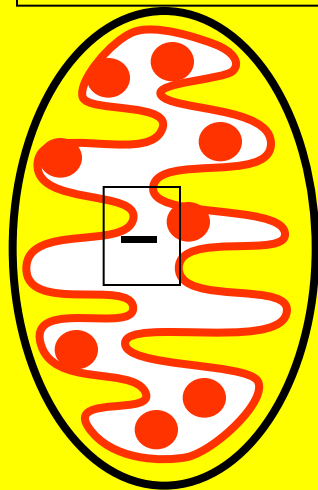
$+\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Ca^{2+}

Г

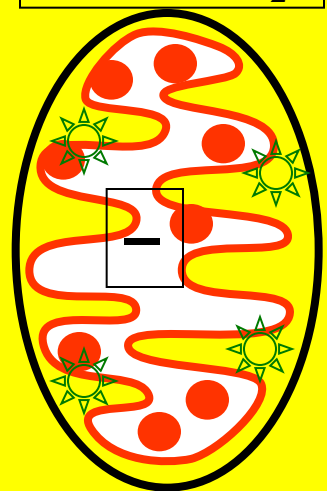
$+\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$



+

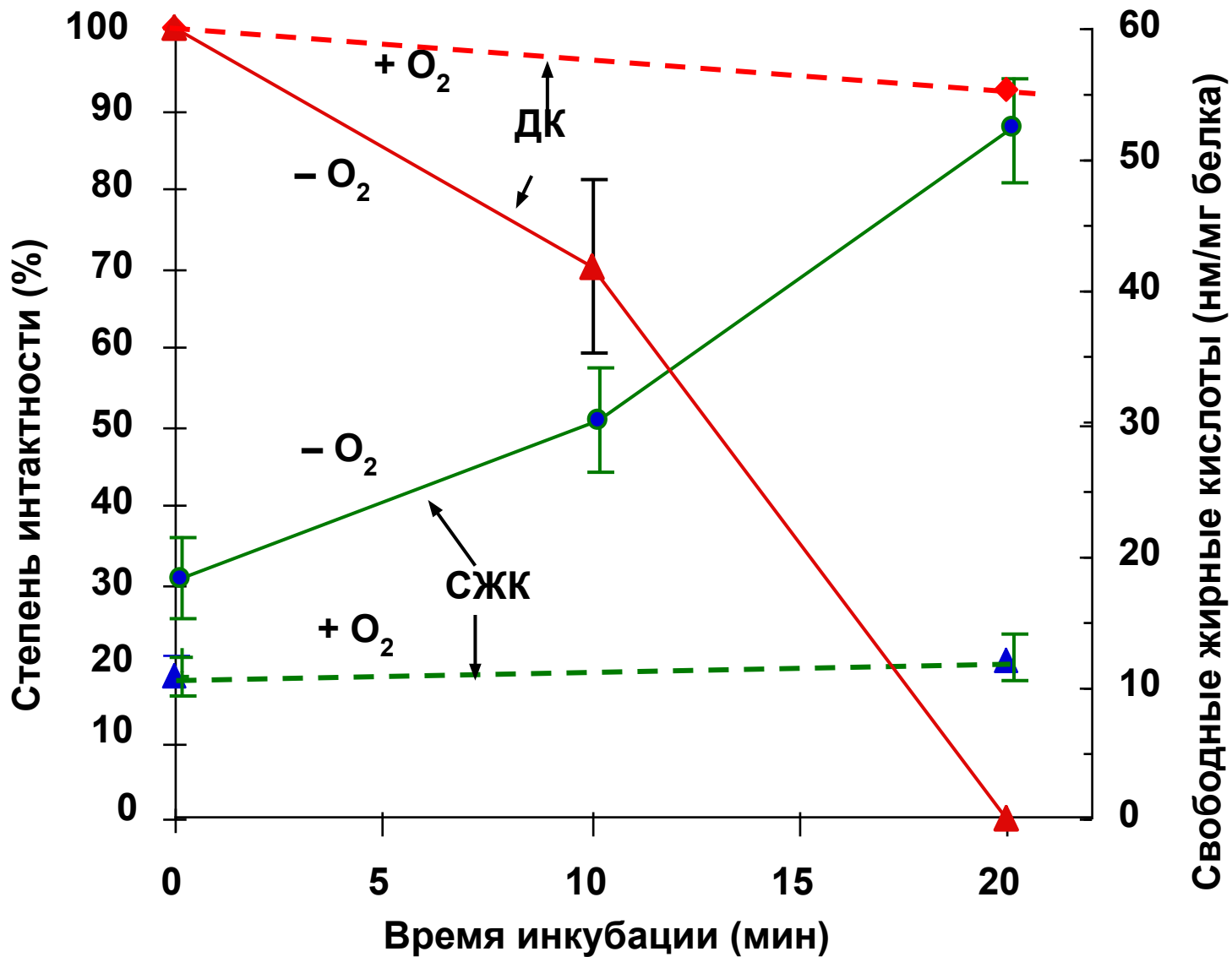
Г

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

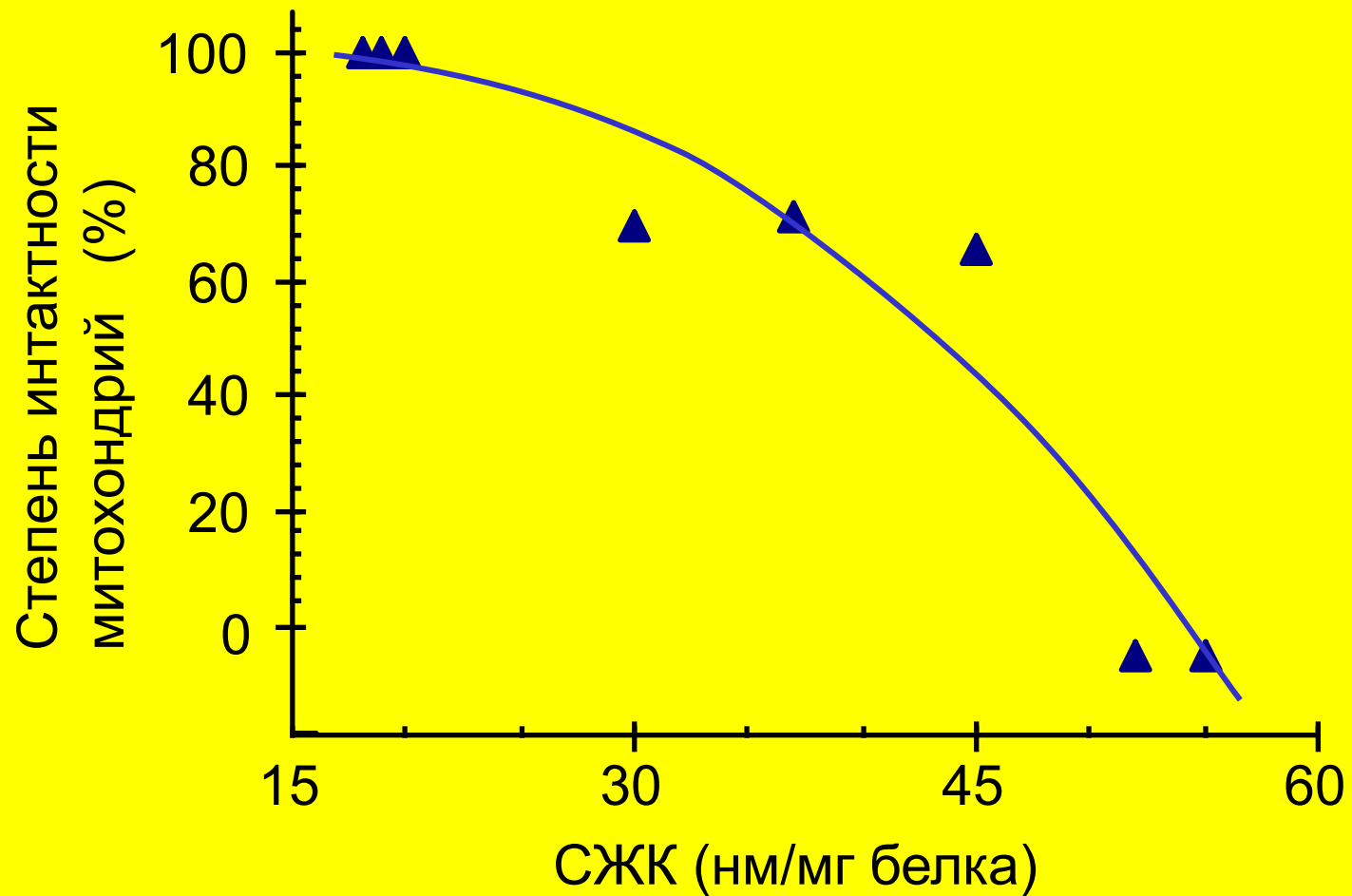


+

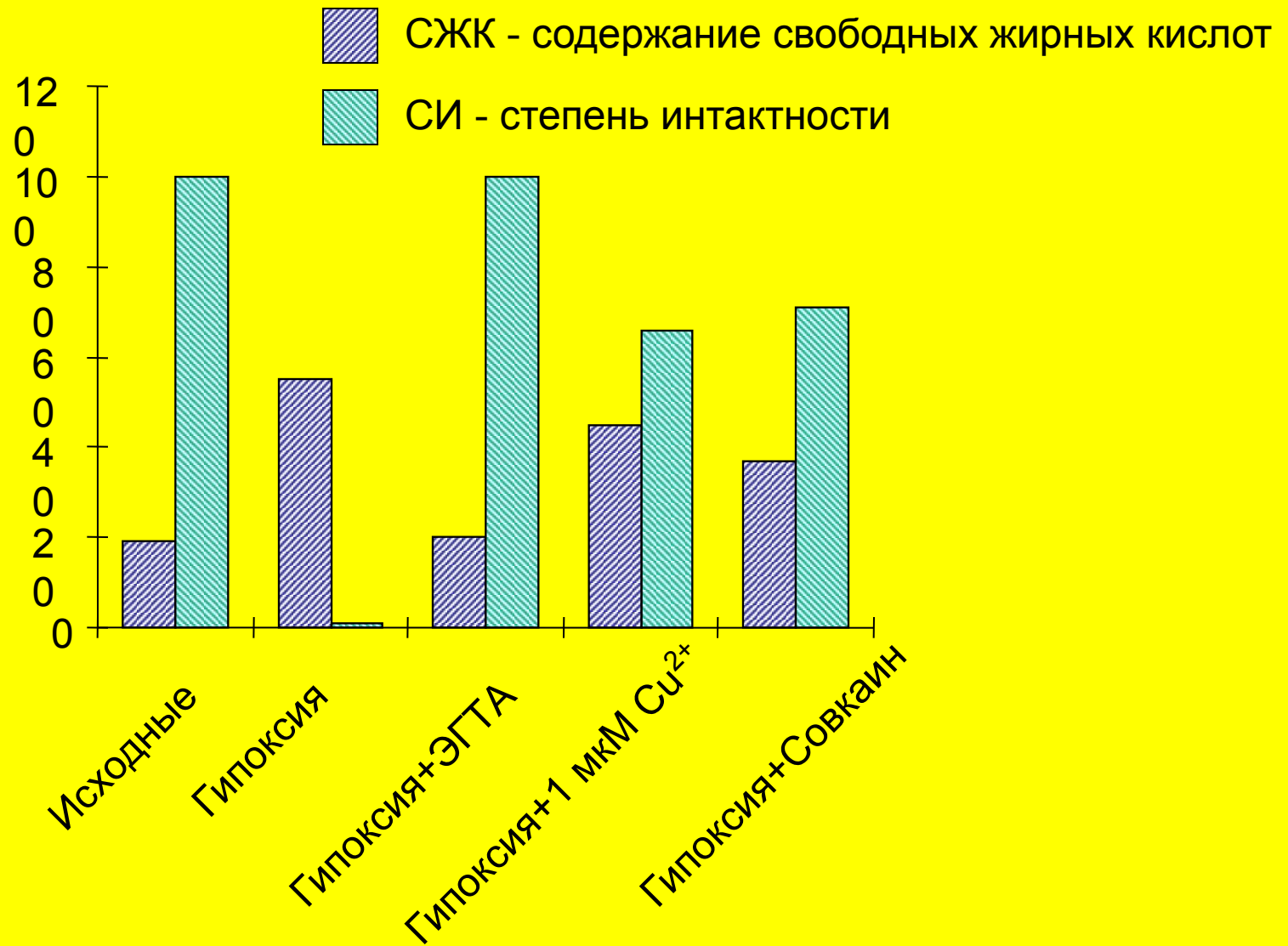
Накопление свободных жирных кислот (СЖК) и потеря дыхательного контроля (ДК) митохондриями при инкубации с ионами Ca^{2+}



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

