

MITOCONDRIA

Definiția; considerații generale

Mitocondria este un organit delimitat de un sistem de două membrane, cărui i se definesc patru elemente structurale și a cărei funcție de bază este producerea de ATP. Pentru realizarea acestei meniri mitocondria trebuie să fie capabilă de o permanentă interacțiune cu citosolul și, prin acesta, cu celelalte componente celulare. Practic mitocondria, prin capacitatea ei de a produce ATP, asigură atât *(i)* sporirea randamentului în acumularea energiei rezultate din metabolizarea produșilor de reacție ai glicolizei anaerobe (completează adică, pe căi aerobe, ceea ce inițiază glicoliza), cât și *(ii)* înmagazinarea, prin acest compus macroergic (ATP, ce funcționează ca monedă de schimb energetic în celule), a energiei eliberate din metabolizarea acizilor grași pe calea β -oxidării. Fenomenele menționate mai sus reprezintă căi de metabolizare energetică ce se petrec în condiții normale de nutriție. În condiții de nutriție dezechilibrată în metabolismul energetic pot intra și aminoacizii. Aceștia sunt transformați în materie primă pentru metabolismul energetic (glucoză, acizi grași), când reprezintă surplus alimentar, sau sunt metabolizați direct, pentru producerea de ATP, în situații de malnutriție. În ambele situații de dezechilibru alimentar amintite, celula încearcă să-și satisfacă, pe căi alternative, nevoile energetice. Dacă în condiții normale de metabolism energetic fenomenele se desfășoară în sensuri fiziologice, în situațiile extreme fenomenele pot devia către patologic.

În cele ce urmează vom discuta mitocondria în contextul proceselor celulare normale.

Repere istorice și aspecte morfologice

Deși Albert von Kölliker a descris încă din 1857 organitul în mușchi, se consideră că mitocondria a fost evidențiată pentru prima dată de Richard Altmann în 1890, care i-a și postulat autonomia genetică și funcțională. Altmann a semnalat prezența mitocondriei în limfocite, sub forma unor structuri fuxinofilice, poziționate lângă nucleu. Denumirea de mitocondrie a fost introdusă în 1903 de Carl Benda, pe baza morfologiei organitului: mitos – fir (din limba greacă), kondrion – granulă (tot din greacă). Colorația citochimică uzuală, în momentul de față, pentru evidențierea mitocondriei în preparatele histologice permanente este cea care folosește hematoxilina ferică Regaud. Prin această colorație citochimică, mitocondria se evidențiază sub forma unor structuri granulare cu aspectul unor scame, fire de ață. Colorațiile vitale, introduse încă din 1900 de Leonor Michaelis, prin folosirea verdelui Janus B, au permis, mult mai târziu, evidențierea plasticității morfologice a mitocondriei. Caracterul de colorant vital al verdelui Janus B este dat de capacitatea sa de a patrunde și de a fi oxidat în mitocondrie. Rezultatul este colorarea organitului în verde smarald. În momentul de față alți coloranți vitali (de exemplu rodamina 123, care devine fluorescentă prin oxidare intramitocondrială) sunt utili în observarea mitocondriei în celule vii. În acest fel a fost caracterizată plasticitatea mitocondriilor, adică posibilitatea acestora de a-și schimba forma, de a fuziona, sau fisiona și a fost evidențiată mobilitatea intracelulară a mitocondriilor. Acești coloranți vitali au permis, prin tehnicile actuale de microscopie de fluorescență, inclusiv microscopie confocală, să se observe morfologia labirintică și înrețelată a mitocondriilor dintr-o celulă.

Ultrastructura mitocondriei

Specificam, când am definit mitocondria că organitului i se definesc patru elemente ultrastructurale. Aceste elemente sunt ușor de evidențiat în preparatele standard de microscopie electronică. Care sunt și prin ce se caracterizează?

Pe preparatele electronomicroscopice, mitocondria se prezintă ca un organit învelit într-o membrană relativ bine întinsă, cu aspect trilaminat denumită **membrană mitocondrială externă**. În interiorul acesteia și separată de ea, se evidențiază o a doua membrană, tot cu aspect trilaminat, care însă este puternic faldurată, denumită **membrană mitocondrială internă**. Faldurile acestei membrane sunt denumite **criste** mitocondriale. Abundența și forma cristelor pot diferi de la un tip de celulă la altul. Forma lor este, de regulă, aceea de falduri, orientate perpendicular pe axul lung al organitului, dar cristele pot avea și aspect tubular (cu secțiunea circulară, sau triunghiulară) așa cum este cazul la celulele secretoare de hormoni steroidici. Au fost descrise, deasemenea, cristele orientate paralel cu axul lung al organitului. Indiferent de abundența, forma sau orientarea lor, cristele sunt o caracteristică ultrastructurală specifică membranei mitocondriale interne. Vom da în secțiunea "Funcțiile mitocondriei" și o explicație pentru această structurare a membranei mitocondriale interne.

Cele două membrane definesc două compartimente mitocondriale. Acestea sunt:

1. **compartimentul mitocondrial extern**, numit și **spațiu intermembranar**, reprezentând spațiul dintre cele două membrane mitocondriale și din axul cristelor și
2. **compartimentul mitocondrial intern**, denumit și **matrice mitocondrială**, care este constituit de spațiul din interiorul membranei mitocondriale interne, adică acel spațiu delimitat de membrana mitocondrială internă.

Matricea mitocondrială reprezintă cel mai complex compartiment, la nivelul său găsim un **ADN propriu**, fără capete libere, numit și ADN circular, chiar dacă forma sa nu este de cerc. Un alt element ultrastructural evidențiable în matricea mitocondrială sunt **ribosomii mitocondriali**.

Fiecare dintre elemente structurale definite mai sus are funcții bine fundamentate, prin care concură la buna realizare a rolului de bază al mitocondriei, producerea de ATP.

Înainte de a încheia mențiunile referitoare la aspectele ultrastructurale ale mitocondriei, merită să specificăm faptul că examinarea preparatelor în microscopie electronică de înalt voltaj (tehnică ce permite analiza unor secțiuni mai groase ale preparatelor biologice) a evidențiat aspectul prelung, adesea ramificat al mitocondriilor și pe această cale. Asta înseamnă că numărul mitocondriilor într-o celulă este mult mai mic decât am fi tentați să credem din examinarea preparatelor standard de microscopie electronică. Lucrul acesta este evidențiable și prin studiul de secțiuni seriate în microscopia electronică clasică, astfel încât mitocondriile care se evidențiau independent în unele secțiuni se dovedesc a se uni la nivelul altor secțiuni, adică se dovedesc a fi părți constitutive ale aceluiași element celular.

Principii metodologice pentru studiul mitocondriei

Analizarea contribuției celor patru elemente structurale la funcțiile mitocondriei presupune izolarea și purificarea lor. Lucrul acesta este favorizat de modul în care

mitocondria este structurată. Astfel, mitocondriile se pot ușor separa după omogenizarea celulelor, prin centrifugare diferențială, ca fracțiune de sine-stătătoare, fracțiunea mitocondrială, cea mai densă, după fracțiunea nucleară. Mitocondriile astfel obținute, supuse unui șoc hipoton se umflă, astfel încât membrana internă se poate distinde considerabil (mulțumită faldurării sale), în timp ce membrana externă se fragmentează veziculându-se. În acest fel, componentele compartimentului mitocondrial extern sunt deversate în mediu și rămân în supernatantul obținut prin depunerea la centrifugare a **mioplastului** (matricea învelită de membrana mitocondrială internă) și veziculelor de membrană externă. Analiza acestui supernatant ne aduce indicii asupra bagajului molecular și/sau macromolecular al acestui compartiment mitocondrial și sugestii asupra funcțiilor sale.

Resuspendarea sedimentului obținut din această primă centrifugare într-un mediu hiperton, va duce la condensarea mioplastului și la realizarea unei diferențe semnificative între densitatea lui și a veziculelor de membrană mitocondrială externă. Această diferență este exploatată pentru separarea printr-o a doua centrifugare, în condiții adecvate, a mioplastului care sedimentează, de membrana mitocondrială externă, care rămâne în supernatant (dacă se folosește centrifugarea diferențială), sau flotează ca fracțiune mult mai ușoară (dacă se folosește centrifugarea în gradient de densitate).

Pentru obținerea separată a componentelor mioplastului, adică pentru izolarea componentelor matricei mitocondriale, de cele ale membranei mitocondriale interne, sedimentul obținut la centrifugarea anterioară este supus unui al doilea șoc hipoton, sau, mai adesea, unei dezintegrări prin ultrasonicare, prin care membrana mitocondrială internă este fragmentată sub forma unor vezicule, iar componentele matricei sunt deversate în mediu. În sfârșit, prin centrifugarea în condiții corespunzătoare a materialului astfel obținut se obțin în sediment veziculele membranei interne, iar în supernatant materialul matricei. Subfracțiunile mitocondriale ale membranei externe și membranei interne se pot purifica prin spălare (resuspendări și recentrifugări) pentru reducerea contaminărilor cu componente ale compartimentului mitocondrial extern, respectiv ale matricei mitocondriale.

Prin procedeul descris mai sus, putem obține separat, cu înalt grad de puritate, cele patru elemente ultrastructurale ale mitocondriei, pentru a trece la studiul funcțiilor lor.

Funcțiile mitocondriei

Studiul compoziției moleculare a elementelor structurale ale mitocondriei a permis aprecierea rolului acestora în ansamblul funcționării organitului. Etapa ulterioară a constituit-o dovedirea faptului că procesele biologice intuite din analiza moleculară chiar se petrec la nivelul mitocondriei. În felul acesta au putut fi cunoscute atât funcțiile fiecărui element structural în parte, cât și modul în care acestea cooperează în realizarea preproceselor energetice prin care mitocondria își îndeplinește menirea.

Înainte de a trece la detalierea celor mai relevante aspecte referitoare la funcțiile mitocondriei, să enumerăm câteva dintre rolurile fiecărui element structural în parte.

Funcțiile membranei mitocondriale externe

Membrana mitocondrială externă, organizată conform modelului mozaic fluid, cu un raport lipide/proteine corespunzător celui general valabil, se caracterizează, înainte de toate, printr-o permeabilitate generoasă. Aceasta este datorată prezenței **porinelor** (vezi detalii asupra organizării structurale a acestora la "Proteinele membranare"), care permit

schimbul practic nerestricționat al moleculelor de până la 5000 daltoni între citosol și compartimentul mitocondrial extern.

Membrana mitocondrială externă are însă și roluri caracterizate prin specificități mai accentuate, cum ar fi preluarea de acizi grași din citosol. Aceasta se realizează prin preluarea acizilor grași de pe transportorii proteici din citosol (proteine care leagă acizi grași, prescurtat **FABP**, de la “**Fatty Acid Binding Protein**”) și esterificarea lor la acil-CoA, prin acțiunea **acil-CoA sintazei**. Acil-CoA este translocată pe versantul intermembranar unde este transformată sub acțiunea **carnitin-acil-transferazei I** în acil-carnitină, care, după aceea, este preluată de membrana mitocondrială internă, pentru a o transloca în matricea mitocondrială. Aceste fenomene au fost descrise mai detaliat la nivelul mitocondriilor cardiomiocitelor.

O funcție deosebită a membranei mitocondriale externe este aceea de deaminare oxidativă a aminelor biogene. Acest lucru se realizează prin acțiunea **monoamin-oxidazei**. În acest mod sunt inactivate epinefrina, norepinefrina, dopamina, sau serotonina, produșii de deaminare fiind apoi metabolizați la compuși care sunt excretați prin urină. Trebuie menționat aici că monoamin-oxidaza este enzima marker pentru membrana mitocondrială externă. Asta înseamnă ca ea se întâlnește în celulă numai la nivelul acestei membrane și poate fi folosită pentru aprecierea gradului de puritate al preparatelor de membrană mitocondrială externă.

Funcțiile compartimentului intermembranar

Compartimentul mitocondrial extern poate fi considerat ca un compartiment tampon între citosol și mioplast. La nivelul acestuia se creează practic un microclimat adecvat funcționării optime a mioplastului. Intuim, rememorând cele menționate asupra permeabilității membranei mitocondriale externe, că la nivelul compartimentului intermembranar nu există diferențe de concentrație față de citosol în privința moleculelor de până la 5000 de daltoni, respectiv pentru ionii anorganici aflați liberi în citosol. Pe de altă parte, la nivelul acestui compartiment mitocondrial se găsesc enzime care pregătesc o serie de metaboliți energetici esențiali funcționării mitocondrii.

Importantă, sub acest aspect, este prezența **adenilat-kinazei**, care transferă un fosfat de pe ATP pe AMP, conform reacției: $ATP + AMP = 2ADP$. Semnificația funcțională a acestei reacții o și justifică: se consumă o moleculă de produs finit al funcției mitocondriale (ATP) pentru crearea a două molecule de substrat; adică se creează premisele obținerii a două molecule de ATP, prin consumul uneia singure.

Tot la nivelul compartimentului intermembranar se găsesc și **nucleozid-fosfokinaze** care transformă nucleozidele în nucleotide, creând premisele obținerii unei diversități de compuși mocoergici.

Funcțiile matricei mitocondriale

La nivelul matricei mitocondriale se găsesc componentele necesare replicării, transcrierii și traducerii informației conținute de propriul ADN. Ce trebuie menționat este faptul că aceste informații stau la baza biosintezei a doar maximum 1% din proteinele necesare funcționării mitocondrii, restul fiind codificate de ADN-ul nuclear, sintetizate în citosol și importate de mitocondrie prin mecanisme ce vor fi descrise ceva mai jos (vezi secțiunea “Importul proteinelor din citosol în mitocondrie”). Ribosomii din matricea mitocondrială au structura și caracteristicile ribosomilor procariotici, deosebindu-se astfel de ribosomii din citosolul celulei. Enzimele necesare procesării ADN sunt, deasemenea, asemănătoare celor din procariote.

Importante pentru metabolismul energetic aerob, proprietatea esențială a mitocondriei, sunt însă bagajele enzimactice necesare **β -oxidării acizilor grași**. Aceste procese produc acetyl-CoA, materia primă pentru altă secvență de reacții importante în realizarea funcției de bază a mitocondriei. Aceste reacții constituie ceea ce este cunoscut sub numele de **ciclul acizilor tricarboxilici**, denumit și **ciclul acidului citric**, sau **ciclul Krebs**. Enzimele care operează în ciclul acizilor tricarboxilici sunt localizate în matricea mitocondrială, cu excepția succinat dehidrogenazei ce face parte integrantă dintr-un complex proteic aparținând membranei mitocondriale interne.

Ciclul Krebs folosește acetyl-CoA rezultată atât din β -oxidarea acizilor grași, cât și din prelucrarea oxidativă a piruvatului importat din citosol. În ceea ce privește importanța reacțiilor ce se petrec în cadrul acestui ciclu, pentru înțelegerea funcționării mitocondriei relevant este faptul că în cadrul procesului se reduc 3 molecule de NAD^+ și una de FAD, cu producerea NADH, respectiv FADH_2 , care reprezintă donorii de electroni pentru lanțul transportor de electroni, parte integrantă a procesului de fosforilare oxidativă ce are loc la nivelul membranei mitocondriale interne.

Funcțiile membranei mitocondriale interne

Membrana mitocondrială internă, deși organizată conform modelului mozaic fluid, reprezintă o excepție de la regulă în privința raportului dintre lipide și proteine. Ea conține 20-30% lipide și 70-80% proteine. Această compoziție dovedește accentuatul rol metabolic pe care această membrană îl are. Însă rolul de barieră al acestei membrane este, deasemenea, deosebit de important, pentru buna ei funcționare. Pentru a compensa parcă procentul mic de lipide, la nivelul acestei membrane se găsește un fosfolipid cu o hidrofobicitate mai accentuată, **cardiolipina**. Procentul de cardiolipină în membrana mitocondrială internă este în jur de 15.

Procesul esențial care se desfășoară la nivelul membranei mitocondriale interne este **fosforilarea oxidativă**. Pentru această funcție, în această membrană au fost evidențiate cinci complexe proteice, simbolizate prin cifre romane: I – V. Primele patru aparțin fenomenului pe care-l denumim **lanț transportor de electroni**, sau **lanț respirator**. Denumirile sunt sugestive în privința proceselor pe care aceste complexe proteice le realizează. Ele preiau electronii de la NADH, respectiv FADH_2 și îi poartă printr-o succesiune de centre oxido-reducătoare, sărăcindu-i treptat de energie (de unde numele de lanț transportor de electroni), cedându-i la sfârșit oxigenului (de unde numele de lanț respirator). Acest proces de transport și sărăcire în energie a electronilor este însoțit de pomparea de protoni din matrice către compartimentul mitocondrial extern. Capacitatea de a pompa protoni prin folosirea energiei preluate de la electronii transportați o au numai trei dintre cele patru complexe proteice și anume complexele I, III și IV. Complexul al II-lea introduce electroni în sistem luându-i de pe FADH_2 , fără a pompa electroni prin membrana internă.

Să încercăm o înțelegere mai profundă a proceselor detaliind aspecte legate de structurarea și operarea la nivelul acestor complexe proteice.

Lanțul respirator

În lanțul respirator operează complexele I – IV și două componente de legătură **ubiquinona** (care face legătura între complexul I, respectiv al II-lea și complexul al III-lea) și **citocromul c** (care face legătura între complexele al III-lea și al IV-lea).

Complexul I, numit și **complexul NADH-dehidrogenazei**, este cel care introduce în sistem electronii preluați de pe NADH. Este format din 42 (43 după unii autori) subunități proteice, din care 7 tipuri autonome (adică proteine codificate de ADN-ul

mitochondrial și sintetizate în matricea organitului, prin ribosomii proprii). Are o masă moleculară de peste 900 kD și conține un **centru flavinic** și **7**, sau **8 centre fier-sulf**. Centrele fier-sulf reprezintă cofactorii unor așa-numite **proteine fier-sulf**, în care raportul stoichiometric dintre ionii de fier și atomii de sulf este unitar. Centrele fier-sulf conțin fie 2Fe-2S, fie 4Fe-4S. Complexul I preia electronii de pe NADH, îi sărăcește în energie în mai mulți pași, prin trecerea lor de la un centru oxido-reducător la altul, sfârșind prin a-i preda ubiquinonei, numită și **coenzimă Q** (CoQ). Energia preluată de la electronii transportați este folosită pentru pomparea de protoni din matricea mitochondrială în spațiul intermembranar. Complexele lanțului respirator capabile să pompeze protoni se numesc complexe de conservare a energiei. Energia este conservată sub forma unui gradient electrochimic ce se generează la nivelul membranei mitochondriale interne, prin această pompare direcționată de protoni. Nu cunoaștem, până în prezent cu exactitate câți protoni sunt pompați de complexul I pentru fiecare electron transportat.

Complexul al II-lea, numit și **complexul succinat-dehidrogenazei**, este singurul complex al lanțului respirator care nu pompează protoni, deși are un domeniu transmembranar. Conține 1 centru flavinic, trei centre fier-sulf (unul atipic, 3Fe-4S) și un centru hemic. Centrul hemic este localizat într-un citocrom de tip b prin care întregul complex se inseră în membrană. Deși are un domeniu transmembranar, complexul succinat-dehidrogenazei nu pompează protoni. Complexul al II-lea introduce în sistemul lanțului respirator electronii preluați de la FADH₂, a căror energie este prea mare pentru a fi preluați la nivelul complexului I, predându-i CoQ.

Complexul al III-lea, numit și complexul **citocromilor b-c₁**, este cel mai bine cunoscut. Conține 11 subunități proteice (din care una autonomă), având o masă moleculară de ~240 kD. Funcționează ca dimer (2 x 240 kD). Conține 3 centre hemice (două pe citocromul b, unul pe citocromul c₁) și un centru fier-sulf (2Fe-2S, pe **proteina fier-sulf Rieske**). Preia electronii de la ubiquinonă, le reduce energia în câteva trepte și îi transferă pe citocrom c. Energia preluată de la electronii transferați este folosită, ca și în cazul complexului I, pentru pomparea de protoni din matrice în compartimentul extern. Conform celor ce cunoaștem până în prezent referitor la mecanismele de acțiune a acestui complex, pentru fiecare electron transportat sunt expulzați din matrice în spațiul intermembranar doi protoni.

Complexul al IV-lea, numit și **complexul citocromilor a-a₃**, sau complexul **citocrom-oxidazei**, este ultimul complex din lanțul respirator. Este format din 13 subunități proteice, dintre care 3 autonome, având o masă moleculară de 204 kD. Operează ca dimer (2 x 204 kD). Cele trei proteine autonome formează nucleul funcțional al complexului, care este înconjurat de 10 subunități mici codificate de ADN-ul nuclear. Ca situri oxido-reducătoare conține 2 centre hemice (unul pe citocromul a, celălalt pe citocromul a₃) și două centre cu Cu²⁺. Unul dintre cele două centre cuprice (Cu_A) este cel ce preia electronii din amonte. Complexul preia electronii de la citocrom c, le reduce energia (pompând pe baza energiei acumulate protoni) și îi inseră pe oxigen cu formarea de apă. Complexul structurează două canale transmembranare prin care pompează câte un proton pentru fiecare electron transportat. Aceste canale sunt denumite D, respectiv K, întrucât la nivelul lor sunt conservați un rest aspartat, respectiv lizină. În zona mediană transmembranară a canalului D se află un rest glutamat (E₂₄₂), deasemenea conservat în decursul evoluției. Acest rest glutamat este esențial în pomparea protonilor. Nu ne sunt cunoscute încă detaliile mecanismului de pompare, cu atât mai mult cu cât protonii se pare că trebuie să treacă printr-o barieră hidrofobă în calea lor. Ca și în cazul complexelor I și al III-lea, sensul de pompare este dinspre matrice către compartimentul extern.

Evident că toate cele trei complexe ale lanțului transportor de electroni, ce conservă energia preluată de la electroni prin pomparea de protoni, (complexele I, al III-lea și al IV-lea) sunt transmembranare. Altfel, nu ar fi posibilă operarea lor ca pompe protonice.

ATP sintaza

Procesul fosforilării oxidative se încheie cu producerea de ATP. Acest lucru este realizat de **complexul al V-lea**, numit și **ATP sintază**, sau **F₁F₀ATP-ază**. Acest complex are tot o poziționare transmembranară și folosește gradientul protonic creat de lanțul respirator, disipându-l pentru a lega o grupare fosfat la ADP. El acționează ca o turbină și acțiunea sa este reversibilă, putând hidroliza ATP și pompa protoni, în cazul în care gradientul se inversează (de unde și denumirea alternativă de F₁F₀ATP-ază).

ATP sintaza are arhitectură asemănătoare unui băț de tobă, cu trei părți componente: cap, gât și trunchi. Capul sferic, voluminos este orientat spre matricea mitocondrială. Trunchiul este constituit de porțiunea transmembranară a complexului, iar gâtul face legătura între celelalte două părți. Această structurare spațială a ATP sintazei a fost evidențiată și în microscopie electronică prin colorarea negativă a **particulelor submitocondriale**. Particulele submitocondriale sunt fragmente veziculate de membrană mitocondrială internă, întoarsă pe dos. Acestea se obțin prin sonicarea fracțiunii mitocondriale urmată de centrifugare, pentru a le izola de celelalte componente din preparat. Particulele submitocondriale colorate negativ (adică al căror contur este desenat de polimeri anorganici, cu nuclei grei, care se adsorb de componentele organice fără a le penetra, adică fără a le impregna) dovedesc prezența, pe versantul matriceal al membranei interne, a unor structuri sferice, voluminoase, atașate de membrană. Aceste structuri nu sunt altceva decât capetele și gâturile ATP sintazei, numite și **componenta F₁** (F de la "Factor"). Această componentă s-a dovedit a fi cea catalitică. Izolată prin desprinderea de componenta transmembranară (**componenta F₀**), componenta F₁ poate hidroliza ATP.

Complexul ATP sintazei conține, se pare, 16 proteine diferite, dintre care 2 sunt dovedite ca autonome. Complexul are o masă moleculară de peste 500 kD. Aranjarea proteinelor în cadrul complexului este o problemă care necesită pentru elucidare studii structurale de mai mare succes în viitor. Totuși organizarea subunităților proteice la nivelul componentei F₁ este mai bine cunoscută. Capul și gâtul ATP sintazei sunt formate din 5 subunități notate simbolic cu α , β , γ , δ și ϵ . Raportul stoichiometric al acestor subunități la nivelul componentei F₁ este: 3:3:1:1:1. Subunitățile α și β sunt omologe, ambele putând lega nucleotide, dar numai subunitatea β prezintă activitate catalitică. Celelalte trei subunități contribuie la atașarea structurii globulare $3\alpha+3\beta$ la componenta transmembranară. Componenta F₀, transmembranară, structurează un canal protonic prin care este disipat gradientul realizat de lanțul respirator. Fluxul protonic prin acest canal reprezintă forța motrice pentru producerea ATP din ADP și fosfat. Deși principal cunoaștem că ATP sintaza operează ca o turbină și există dovezi experimentale cum că structura globulară ($3\alpha+3\beta$) a capului se rotește în raport cu porțiunea transmembranară, detaliile mecanismului nu sunt încă elucidate. Rotirea implică trei pași a câte 120°. În timpul acestei rotiri, cei trei heterodimeri $\alpha\beta$, care formează trei situri active ale componentei catalitice, trec succesiv prin **trei stări diferite**: deschisă, laxă și strânsă. Aceste trei stări corespund: lipsei nucleotidului și fosfatului în siturile de legare (starea deschisă), legării ADP-ului și fosfatului (starea laxă), respectiv ATP-ului legat (starea strânsă). Se pare că energia este necesară numai pentru ocuparea siturilor cu ADP

și fosfat, respectiv eliberarea de ATP, nu și pentru formarea de ATP, adică pentru legarea fosfatului la ADP.

Transportul metaboliților

Pentru a ne face o imagine completă asupra funcțiilor membranei mitocondriale interne, trebuie să amintim și rolul său în transportul metaboliților energetici. Exemplele de transport pe care le vom specifica folosesc gradientul electrochimic de la nivelul membranei ca forță motrice.

Astfel, piruvatul și fosfatul sunt preluate din compartimentul mitocondrial extern (de fapt din citosol, întrucât concentrația acestor compuși este identică în cele două spații) prin **transportori simport**, alături de protoni. Așadar, pentru transportul către matrice al piruvatului și fosfatului este disipat gradientul protonic. Rezultă că gradientul protonic format prin acțiunea complexelor proteice ale lanțului transportor de electroni nu este folosit exclusiv pentru producerea de ATP, ci și pentru transportul unor metaboliți.

Important este să reținem și modul prin care sunt transportați prin membrana mitocondrială internă alți doi metaboliți energetici esențiali: ADP-ul către matrice, respectiv ATP-ul către citosol. Acești doi compuși sunt transportați la schimb, deci printr-un **transportor antiport**, care disipează potențialul de la nivelul membranei mitocondriale interne, cu minusul pe versantul matriceal. Prin intrarea unei molecule de ADP și ieșirea uneia de ATP se introduc în matrice trei sarcini negative și sunt expulzate patru, deci potențialul membranei este redus.

Din aspectele detaliate mai sus referitor la importanța funcțională a membranei mitocondriale interne, putem deduce o explicație pentru organizarea sa sub formă de cristă. Faldurarea acestei membrane îi sporește considerabil suprafața, deci mărește funcționalitatea ei, fiind posibile mai multe procese simultan pentru același volum al organitului.

Teoria chemiosmotică

Modalitățile de operare a componentelor membranei mitocondriale externe au fost inteligent și succint formulate încă din 1961 în **postulatele teoriei chemiosmotice**, de către Peter Mitchell. Confirmarea acestora, prin dovezile experimentale acumulate ulterior, au făcut din autor, în 1978, un laureat al Premiului Nobel în chimie. Patru sunt enunțurile acestor postulate:

1. Lanțul respirator este transportor de protoni, generând la nivelul membranei mitocondriale interne un gradient electrochimic;
2. ATP sintaza produce ATP prin disiparea gradientului protonic;
3. Membrana mitocondrială internă conține transportorii ce asigură traficul metaboliților ;
4. Pe căi nespecifice membrana mitocondrială internă este practic impermeabilă la protoni și, în general, la ioni.

Din cele prezentate mai sus, cât și din cele ce stipulează cele patru postulate ale teoriei chemiosmotice, rezultă că buna cooperare dintre acțiunea lanțului respirator cu activitatea ATP sintazei (cooperare numită **cuplare chemiosmotică**) este esențială pentru o eficientă producere de ATP, adică pentru metabolismul energetic mitocondrial. Orice disipare nespecifică a gradientului protonic prin membrana mitocondrială internă afectează randamentul producerii de ATP. Orice agent decuplant afectează funcționarea

mitocondriilor. Există totuși o situație fiziologică în care se folosește decuplarea parțială la nivelul fosforilării oxidative. Acest lucru se întâmplă în mitocondriile celulelor adipoase brune. Membrana mitocondrială internă, în aceste celule, conține un decuplant fiziologic numit **termogenină**. Termogenina este o proteină transmembranară care structurează un canal protonic. Ea transformă energia acumulată de acțiunea lanțului respirator în gradientul protonic, în energie termică. Prezența termogeninei la nivelul mitocondriilor din adipocitele brune explică de ce organismele tinere, în care țesutul adipos brun este bine reprezentat, sunt mai rezistente la frig decât organismele mature.

Importul proteinelor din citosol în mitocondrie

Analizele proteomice (**proteomia** – “proteomics” – se definește ca disciplină comună biochimiei și biologiei celulare care se ocupă cu studiul proteinelor dintr-un tip celular, sau dintr-o structură celulară) au evidențiat faptul că celulele umane conțin în mitocondrii cam 1500 de proteine diferite. Dintre acestea, doar maxim 1% sunt codificate de sistemul genetic propriu al mitocondrii. Celelalte proteinele sunt codificate de ADN-ul din nucleul celulelor, sunt sintetizate ca precursori în citosol și sunt importate prin mecanisme specifice, care se desfășoară în principal post-traducere. În această secțiune vom aborda aspecte legate de aceste mecanisme de import.

Precursorii proteinelor mitocondriale, produși în citosol, pot fi împărțiți în două categorii: *(i)* proteine cu secvențe semnal N-terminale, clivabile (numite și presecvențe) și *(ii)* proteine cu semnale de țintire diverse, aflate în profunzimea lanțului polipeptidic.

Din prima categorie fac parte proteinele destinate matricei mitocondriale, ca și un număr de proteine ale membranei interne și ale spațiului intermembranar. Presecvențele sunt, de regulă, formate din 10 – 30 de aminoacizi care formează un α -helix cu caracteristici amfipate. O față a acestui α -helix este hidrofobă, cealaltă este hidrofilă purtând sarcini pozitive (resturi lizininice și/sau argininice).

Din cea de-a doua categorie fac parte proteinele membranei mitocondriale externe, multe proteine ale compartimentului mitocondrial extern și cea mai mare parte a proteinelor transmembranare ale membranei mitocondriale interne (de exemplu transportorii de metaboliți). Aceste proteine sunt sintetizate fără a conține secvențe clivabile. Asta înseamnă că ele au aceeași secvență primară ca proteinele mature, chiar dacă structura lor cuaternară diferă, ele fiind menținute într-o stare extinsă până la definitivarea importului și integrarea lor în locul de destinație.

Importul se realizează prin complexe proteice transmembranare care preiau proteinele pe baza recunoșterii secvențelor semnal și le translochează prin mecanisme specifice. Ca și în cazul translocării din membrana reticulului endoplasmic și complexe de translocare din membranele mitocondriale se numesc **transloconi**. Există, pe de o parte, transloconi în membrana mitocondrială externă **TOM** (de la “Translocase of the Outer Membrane”) și, pe de altă parte, transloconi în membrana mitocondrială internă **TIM** (de la “Translocase of the Inner Membrane”).

Translocazele membranei mitocondriale externe

Oricare ar fi tipul de proteină importată, ea trebuie să treacă mai întâi prin TOM. Complexul TOM conține 7 subunități proteice. Dintre acestea, trei subunități sunt dovedite a avea rol de receptori pentru proteinele importate (**Tom20**, **Tom22** și **Tom70**), una formează canalul de translocare (**Tom40**), fiind o proteină multipas cu domeniul transmembranar organizat sub formă de butoiăș cu doage (β -pliuri antiparalele), iar trei subunități, mai mici, ajută fie la translocare (**Tom5**), fie în asamblarea și stabilitatea

complexului TOM (**Tom6** și **Tom7**). Toate subunitățile amintite mai sus sunt transmembranare. Deși complexul TOM operează în importul tuturor proteinelor, mecanismele sunt diferite în funcție de categoria căreia acestea aparțin. Ceea ce este un lucru comun este faptul că, întrucât importul este preponderant un proces post-traducere, lanțurile polipeptidice destinate a ajunge în mitocondrie sunt complexate de **șaperone citosolice (Hsp70 și Hsp90)** care, pe de o parte le împiedică să agrege, iar pe de altă parte, le menține într-o conformație desfășurată, care ușurează importul.

Proteinele cu presecvențe clivabile sunt recunoscute de domeniile citosolice ale Tim20 (printr-o depresiune hidrofobă din structura receptorului) și Tim22 (care se atașază la suprafața pozitivă a secvenței semnal). După legarea pe receptori, proteinele importabile sunt transferate, prin intermediul proteinei mici Tom5, porului de translocare format de Tom40. Tom40 nu formează un simplu por pasiv în timpul translocării, ci se pare că are un rol activ, prin interacțiunile pe care le stabilește cu lanțul polipeptidic în decursul translocării. După translocare, secvența semnal amfipată este legată de domeniul intermembranar al subunității Tom22, care o ghidează către transportorul corespunzător al membranei interne. Ce se întâmplă mai departe cu aceste proteine vom descrie ceva mai jos, la “Translocazele membranei mitocondriale interne”.

Proteinele destinate a ajunge în membrana mitocondrială externă sunt recrutate tot prin Tim20 și Tim22. Dacă ele sunt unipas, se pare că în cursul translocării, în momentul în care secvența hidrofobă necesară integrării în bistratul lipidic pătrunde în canalul transloconului, are loc eliberarea lor în membrana externă. Este suficientă astfel, după câte cunoaștem până în prezent, mașinăria complexului TOM. Proteinele care sunt multipas (cum sunt porinele), după translocarea prin TOM, sunt predate unei alte mașinării de sortare și asamblare în bistrat, **SAM** (de la “**Sorting and Assembly Machinery**”), care face exact ce îi indică numele. Complexului SAM i-au fost descrise, până în momentul de față, două subunități: **Mas37** și **Sam50**. Deficiența mitocondrii în Mas37 s-a dovedit a împiedica importul de proteine integrale ale membranei externe structurate ca butoiașe, fără a afecta importul proteinelor purtătoare de presecvențe clivabile, sau al proteinelor cu rol de transportori de metaboliți ai membranei interne. Sam50 prezintă mare omologie cu o proteină a membranelor bacteriene (**Omp85**, Omp de la “**Outer membrane protein**”), cu rol posibil în integrarea de proteine în membrana bacteriană. Astfel, mecanismul de inserarea a proteinelor cu structură de butoiaș în membrana externă pare a fi conservat de la bacterii, la mitocondriile eucariotelor.

Precursorii transportorilor de metaboliți, destinați a ajunge în membrana mitocondrială internă și care prezintă multiple secvențe hidrofobe ce vor forma domeniul transmembranar, sunt translocați de complexul TOM printr-un mecanism ușor diferit. Principala diferență constă în faptul că aceste proteine sunt recunoscute și recrutate de Tom70. Interacțiunea este controlată de Hsp70 și Hsp90, care aduc și predau proteina complexului TOM. Preluarea este făcută prin mai multe molecule Tom70, care leagă simultan un precursor, probabil pentru a-l desprinde de șaperone fără riscul agregării. Ulterior, acești precursori puternic hidrofobi sunt predați canalului de translocare structurat de Tom40. Această predare se pare că implică trecerea prin Tom20, Tom22 și Tom5, cum se întâmplă și cu celelalte proteine. Totuși, după translocarea prin membrana externă acești precursori sunt preluați de un complex de două proteine mici ale spațiului intermembranar (Tim9-Tim10), cu rol asemănător șaperonelor, fiind apoi predați transloconului specific din membrana mitocondrială internă. Această implicare a complexului Tim9-Tim10 constituie o altă diferență între mecanismele corespunzătoare diverselor categorii de proteine importate.

Translocazele membranei mitocondriale interne

În membrana mitocondrială internă sunt prezenți doi transloconi implicați în import: **TIM23** (care continuă translocarea proteinelor cu presecvențe clivabile) și **TIM22** (care preiau și integrează în membrana internă transportorii de metaboliți).

Transloconul TIM23 este constituit din trei subunități transmembranare esențiale: Tim50, Tim23 și Tim17. Tim50, prin domeniul său intermembranar, consistent ca dimensiune, preia preproteinele de la complexul TOM și le ghidează către canalul de translocare format de Tim23, căruia le predă. Tim17 este strâns atașat lui Tim23 și, probabil, influențează activitatea canalului de translocare. Subunitatea Tim23 posedă două domenii: *(i)* segmentul amino-terminal, aflat în spațiul intermembranar, cu rol în recunoașterea presecvenței amfipate și *(ii)* domeniul carboxi-terminal, care structurează canalul transmembranar al transloconului. Inserarea lanțului polipeptidic care este transferat depinde strict de prezența potențialului membranei mitocondriale interne. Acest potențial exercită și un efect electroforetic asupra încărcăturii pozitive din secvența semnal. Mai departe, ce se întâmplă cu preteinele translocate de TIM23 depinde de destinația lor.

Unele preproteine conțin o secvență hidrofobă care acționează ca stop transfer. Acestea sunt eliberate în planul membranei mitocondriale interne, în momentul în care secvența hidrofobă patrunde în canalul transloconului.

Majoritatea proteinelor preluate de TIM23 ajung însă în matricea mitocondrială. Acestea necesită, pentru definitivarea translocării, cooperarea transloconului cu o mașinărie cu rol de motor al importului, notată prescurtat cu **PAM** (de la “**P**resequence translocase-**A**ssociated **M**otor”). Complexul PAM este structurat în principal de proteine periferice. Trei sunt proteinele esențiale din structura PAM: **Tim44**, care leagă și aduce la nivelul transloconului cea de-a doua componentă, **șaperona mitocondrială Hsp70** și factorul de schimb nucleotidic **Mge1**, care schimbă ADP cu ATP pe Hsp70. La acestea se adaugă două proteine intrinseci: **Pam18** (cu rol în stimularea activității ATP-azice a Hsp70) și **Pam16** (care complexează Pam18 și o atașază la TIM23). Practic PAM, în forma ei activă, este parte integrantă a transloconului. Deși nu se cunoaște secvența exactă a etapelor în activitatea PAM, este clar că el asigură energia necesară translocării precursorilor cu presecvență clivabilă. Alături de aceste evenimente, asupra proteinelor matriceale importate acționează o peptidază (notată prescurtat **MPP**, de la “**M**itochondrial **P**rocessing **P**eptidase”), ce clivează secvența semnal. MPP este o metaloproteinază ce conține două subunități (α , respectiv β). Ulterior aceste proteine proaspăt importate sunt preluate de alte șaperone mitocondriale (în particular Hsp60 și Hsp10) care le asistă pentru adoptarea conformației corecte, cea care le asigură funcția.

TIM22 operează în inserarea proteinelor transmembranare multipas (în principal transportorii metaboliților) în membrana mitocondrială internă. Complexul TIM22 conține: **Tim12**, o proteină periferică (orientată pe versantul intermembranar al membranei mitocondriale interne), cu rol în acostarea complexului Tim9-Tim10, aducătorul proteinei importate, pe care o preia de la TOM; **Tim22**, care formează canalul de translocare și care prezintă omologie cu Tim23; **Tim18** și **Tim54** ale căror funcții nu sunt încă definite. Atât translocarea lanțului polipeptidic, cât și împachetarea și eliberarea laterală a proteinei în bistratul lipidic sunt dependente de potențialul membranei mitocondriale interne, deși detaliile referitoare la mecanisme nu ne sunt, deocamdată, cunoscute.

În sfârșit, membrana mitocondrială internă posedă și o mașinărie de inserare a a proteinelor preluate din matrice. Această mașinărie este nimită prescurtat **OXA**. OXA este mai puțin cunoscută în detaliu, dar i-au fost identificate câteva subunități, între care **Oxa1**, ce prezintă omologie cu proteina bacteriană YidC. Această mașinărie operează

asupra proteinelor hidrofobe sintetizate în mitocondrie, sau asupra câtorva proteine importate din citosol și care ajung în matricea mitocondrială, pentru a urma apoi calea de inserare specifică bacteriilor.

Fără îndoială că mitocondria păstrează încă surprize referitor la posibile noi componente ale transloconilor, sau la mecanismele de sortare, translocare, asamblare și inserare în structurile de destinație a proteinelor precursorare. Cum mitocondria joacă un rol critic în moartea celulară programată, prin eliberarea unor componente moleculare ale spațiului intermembranar care participă în mecanismele apoptotice, este tentant să ne gândim că transloconii (în special TOM și SAM), prin canalele pe care le structurează pot fi implicați (în anumite condiții, prin cooperarea cu seturi diferite de proteine accesorii) în permeabilizarea membranei mitocondriale externe.

Mitocondria și apoptoza

Deși este stabilită implicarea mitocondriei în procesele apoptotice, mecanismele prin care aceasta controlează apoptoza nu sunt încă pe deplin elucidate. Ceea ce se cunoaște cu certitudine sunt fapte care evidențiază participarea mitocondriei la procesele apoptotice, prin participarea pe **calea cascadei caspazelor**. Denumirea de **caspaze** (“caspases”) pentru această familie de proteine vine de la “cysteinyl aspartate-specific proteases”. Caspazele sunt principalii efectori în moartea celulară programată.

Inițial s-a considerat că mitocondriile rămân neschimbate în timpul apoptozei. Acum știm că mitocondria suferă modificări morfologice în apoptoză. Cele mai frecvente anomalii constau în **reducerea dimensiunilor**, cu **sporirea densității matricei**, modificare denumită **picnoză mitocondrială**. Aceste condensări au fost evidențiate și confirmate ca evenimente timpurii în apoptoză. Mai mult, în apoptoza indusă prin deprivarea de factor de creștere neurală (NGF, de la “Nerve-Growth Factor”) la neuronii simpatici, picnoza mitocondrială este reversibilă. Alte modificări apar în ceea ce privește distribuția mitocondriilor în celulă. Dacă în celulele normale mitocondriile sunt dispersate în toată celula, în celulele apoptotice ele se redistribuie, aglomerându-se perinuclear. Se pare că acest lucru se datorează defectelor din relația lor cu kinezinele ce le permite dispersarea în citoplasmă pe baza unui transport dependent de organizarea microtubulilor.

Totuși, faptul că mitocondria se definește tot mai pregnant ca punct de control al apoptozei, se datorează modificărilor mitocondriale de la nivel molecular și biochimic. Rezultatul este dezorganizarea membranelor mitocondriale cu eliberarea în citosol de componente intramitocondriale (citocrom c, endonucleaze G, AIF – “Apoptosis-Inducing Factor”). Prezența citocromului c în citosol este un semnal de evoluție apoptotică a celulei. Citocromul c prin legarea de un factor de activare a apoptozei **Apaf-1** (Apaf, de la “Apoptotic-protease activating factor”), determină formarea unui oligomer cu o structură simetrică în spițe de roată, conținând 7 complexe Apaf-1–citocrom c, numit **apoptosom**. Butucul central al apoptosomului este format prin unirea capetelor amino-terminale ale moleculelor de Apaf-1, iar spițele din restul lanțului polipeptidic, care, după interacțiunea cu citocromul c, expune un sit de legare ATP și trece dintr-o conformație pliată într-una extinsă. Apoptosomul, la rândul său, leagă prin butucul central, format din Apaf-1, **procaspază 9** pentru care favorizează o dimerizare sub o formă extinsă, activă ce-i determină autoliza și activarea. Legarea Apaf-1–procaspază 9 se realizează prin domeniile **CARD** (de la “CAspase Recruitment Domain”) ale celor două tipuri de proteine. Caspaza 9 activată lizează **procaspaza 3** activând-o și declanșând fenomenele apoptotice din calea caspazelor.

Afectarea membranelor mitocondriale, cu eliberarea de citocrom c, este realizată de modificarea echilibrului între o serie de factori pro- și anti-apoptotici din **familia proteinelor Bcl-2**. Raportul între nivelul expresiei **factorilor anti-apoptotici** ca Bcl-2, Bcl-X_L și a **factorilor pro-apoptotici** ca Bax, Bak, Bid (Bid operează pe calea caspazelor, fiind trunchiat la **t-Bid** de **caspaza 8**) este cel care are efect asupra membranelor mitocondriale. Creșterea expresiei factorilor pro-apoptotici are ca rezultat permeabilizarea membranelor mitocondriale, cu eliberarea de componente care determină apoptoza celulară. Detaliile mecanismului permeabilizării nu sunt cunoscute, deși este dovedită capacitatea factorilor pro-apoptotici de a structura pori în bistraturi lipidice artificiale (liposomi), sau în membrana mitocondrială externă.

Pentru permeabilizarea membranei mitocondriale externe prin acțiunea factorilor pro-apoptotici sunt considerate trei posibile căi.

Una dintre acestea o reprezintă capacitatea factorilor pro-apoptotici (demonstrată până în prezent doar pentru Bax) de a oligomeriza. Această capacitate poate reprezenta un mecanism prin care factorii pro-apoptotici din familia proteinelor Bcl-2 pot structura megacanaluri. Capacitatea de oligomerizare este datorată prezenței în aceste proteine a unor domenii **BH** (de la "**Bcl-2 Homology**"). Există patru tipuri de domenii BH (BH1 – BH4). Factorii anti-apoptotici ai familiei Bcl-2 conțin toate aceste domenii, pe când factorii pro-apoptotici (Bax, Bak) sunt lipsiți complet de domeniul BH4, sau la nivelul acestuia sunt ample modificări (lipsește o conservare ridicată a domeniului). Există și factori pro-apoptotici care conțin numai domeniul BH3 (Bid, Bad). Cum aceste caracteristici structurale influențează activitatea membrilor acestei familii, astfel încât să fie convertită de la anti- la pro-apoptotică, rămâne să se stabilească.

O altă cale de permeabilizare a membranei mitocondriale externe o reprezintă capacitatea Bax și t-Bid (factori pro-apoptotici) de a altera (de a descrește) stabilitatea planară a bistratelor fosfolipidice. Acest lucru nu a fost observat în cazul Bcl-X_L, factor anti-apoptotic al familiei. Prin reducerea tensiunii planare a bistratului lipidic, Bax și t-Bid ar putea induce formarea de întreruperi în continuitatea bistratului lipidic, sub forma unor pori, cu reorganizări moleculare specifice, sau ar putea organiza complexe lipide-proteine cu deschideri suficient de largi în structura membranei, care să permită proteinelor din compartimentul mitocondrial extern să difuzeze în citosol, într-o gamă foarte mare de gabarite moleculare (citocrom c - ~12kD, adenilat kinază - 25,2kD, AIF – 57kD, Hsp60 – 60kD, sulfat-oxidază - 104kD).

A treia cale o reprezintă posibilitatea Bax și Bak de a modifica permeabilitatea porinelor din membrana mitocondrială externă. Când liposomii cu porine reconstituite au fost incubati cu Bak, sau Bax a fost indusă deschiderea porilor. Prin porii astfel deschise, citocromul c, marcat cu fluoresceină, a trecut nestingherit. Prin contrast, în experimente similare conduse cu folosirea Bcl-X_L, a fost înregistrată închiderea porilor, ceea ce poate explica activitatea anti-apoptotică a unora dintre membrii familiei.

Care dintre aceste căi va fi confirmată, sau dacă realitatea biologică implică o cale ce combină toate aceste direcții pe criterii dependente de anumite condiții concrete în care procesul apoptotic se poate desfășura, sunt probleme care își așteaptă răspuns. În momentul de față, din studii pe liposomi, cunoaștem că nici Bax, nici Bak și nici porinele nu pot singure să formeze canale permeabile pentru citocrom c.

Cele trei posibile căi descrise fac parte din **teoria structurării de canale** în membrana mitocondrială externă, pentru explicarea pierderilor de componente intermembranare. Există și o a doua teorie, **teoria ruperii membranei externe**, care stipulează că pierderile s-ar datora umflării mitocondrii, cu destinderea membranei interne și fragmentarea celei externe, ca la orice șoc hipoosmotic. Fără a intra în detalii

asupra acestei teorii, punctăm doar un contra-argument: procesul apoptotic decurge cu consum energetic care necesită funcționalitatea mitocondriei, chiar dacă aceasta poate fi afectată sub aspectul randamentului.

Originea mitocondriei

Ultrastructura deosebită a mitocondriei care se organizează pe baza unui sistem de două membrane a incitat biologii celulari care și-au pus întrebări legate de originea acestui organism. Apariția mitocondriei a reprezentat un eveniment definitoriu în evoluția celulelor eucariote. **Teoria endosimbiotică** reprezintă un model privind originea mitocondriei care în momentul de față este unanim recunoscut deoarece este susținut de multe argumente. Teoria a fost emisă de mai bine de un secol de însuși Richard Altmann. Teoria presupune că acum milioane de ani, când atmosfera terestră își modifica proprietățile fizico-chimice, îmbogățindu-se în oxigen, o celulă aerobă a fost endocitată de o alta anaerobă produsul acestei endocitoze câștigând o mai bună capacitate de acomodare la noile condiții. Rezultatul a fost supraviețuirea prin simbioză. În favoarea acestei teorii se pronunță următoarele realități biologice:

1. Prezența cardiolipinei, fosfolipid abundent în membranele bacteriilor, în membrana mitocondrială internă;
2. Prezența porinelor în membrana mitocondrială externă (porinele au fost pentru prima dată evidențiate în peretele unor bacterii);
3. Existența ADN-ului propriu, circular (fără capete libere) așa cum este ADN-ul procariotelor;
4. Caracteristicile ribosomilor din matircea mitocondrială: 70S (ca și ribosomii procariotelor);
5. Sinteza proteică sensibilă la cloramfenicol (ca cea din procariote) și insensibilă la cicloheximidă (cicloheximida blochează sinteza proteică pe ribosomii din citosolul eucariotelor);
6. ARN-polimerază sensibilă la rimfamycină (ca la procariote);
7. Capacitatea proprie de a se divide.

Rezumat

Putem sintetiza cele prezentate mai sus despre mitocondrie prin:

- mitocondria este un organit cu o arhitectură deosebită, structurat pe baza unui sistem de două membrane;
- cele patru elemente structurale ale mitocondriei cooperează pentru asigurarea funcției de bază a organitului: producerea de ATP;
- funcționarea mitocondriei este sintetizată prin postulatele teoriei chemiosmotice;
- funcția respiratorie este asigurată de complexe enzimatice ale lanțului transportor de electroni;
- alimentarea cu electroni a lanțului respirator o face ciclul Krebs prin NADH și FADH₂;
- disiparea gradientului protonic, format de lanțul transportor de electroni, reprezintă forța motrice pentru producerea de ATP la nivelul ATP sintazei;
- cuplarea/decuplarea lanțului respirator cu/de fosforilarea ADP reprezintă mecanismul celular de comutare: ATP/căldură;
- deși mitocondria are propriul său bagaj genetic, cea mai mare parte a proteinelor necesare funcționării organitului este codificată de ADN-ul nuclear; ele sunt sintetizate

- pe poliribosomi liberi în citosol și importate prin mecanisme de translocare post-traducere;
- mitocondria joacă un rol important în controlul proceselor apoptotice;
 - biogeneza mitocondrială nu presupune producerea *de novo* a organitului.

Bibliografie

- Saraste M (1999) Oxidative phosphorylation at the *fin de siècle*. *Science* **283**, 1488-1493.
- Cecchini G (2003) Function and structure of complex II of the respiratory chain. *Annu Rev Biochem* **72**, 77-109.
- Li P, Nijhawan D, Wang X (2004) Mitochondrial activation of apoptosis. *Cell* **S116**, S57-S59.
- Desagher S, Martinou J-C (2000) Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol* **10**, 369-377.
- Wiedemann N, Frazier AE, Pfanner N (2004) The protein import machinery of mitochondria. *J Biol Chem* **279**, 14473-14476.
- Gray MW, Burger G, Lang BF (1999) Mitochondrial evolution. *Science* **283**, 1476-1481.