

7. MITOCONDRIILE ȘI ROLUL LOR FIZIOLOGIC

Mitocondriile au fost descoperite în 1882 de **W. Flemming**, iar 1904 **Fr. Mewes** a introdus noțiunea de **condrion**, înțelegându-se totalitatea mitocondriilor dintr-o celulă. Condriozomii sunt prezenți în toate celulele vegetale și animale; la bacterii lipsesc.

Sub aspectul morfologic condriozomul poate avea forme filamentoase (condrioconte), forme de granule (mitocondrii) sau de șiruri de granule (condriomite)

Aceste forme trec de la una la alta, în timpul diferitelor faze de dezvoltare a celulei. Numărul condriozomilor diferă la diferite tipuri de celule. La om o celulă somatică conține, în medie 300 de condriozomi, unele celule având până la 1000 condriozomi. În prezent, este acceptată ideea că numărul condriozomilor într-o celulă este proporțional cu intensitatea metabolismului celulei respective. O celulă secretoare nectariferă are un număr mare de condriozomi decât o celulă cu funcție pasivă.

J. E. Varner (1965) au constatat că o mitocondrie trăiește doar 8 zile. Prin studiile făcute de **D. L. Green** (1961) se stabilește o strânsă legătură între structura și funcția mitocondriei.

O mitocondrie este alcătuită din membrană, sistemul de criste sau tubuli și matricea sau conținutul interior (Fig. 29). Membrana prezintă două straturi: unul extern neted și altul intern, prevăzut cu numeroase prelungiri, sau pliuri, multe criste mitocondriale (**G. E. Palade**, 1953) Între cele două straturi se găsește un spațiu perimitocondrial. Cristele mitocondriei compartimentează interiorul în numeroase spații și îi măresc foarte mult suprafața, ceea ce permite absorbția unui mare număr de molecule enzimatice, intensifică procesele biochimice care se petrec în interiorul mitocondriei. La unele celule în locul cristelor se găsește un mare număr de tubuli, care de asemenea măresc suprafața internă a mitocondriei. La plante sunt mai frecvente mitocondriile cu tubuli și mai rare acelea prevăzute cu criste mitocondriale.

Fig. 29. Structura mitocondriei (după Dornell și colab., 1991)

Pe suprafața internă a cristelor mitocondriale se observă la microscopul electronic formațiuni granulare numite *oxizomi* în care se găsesc *citocromi*. Aderența oxizomilor la suprafața cristelor mitocondriale permite înțelegerea mai bună a funcției condriozomului. Numărul cristelor sale sau a tubulilor, la diferite tipuri de celule, dă indicații cu privire la activitatea respiratorie a condriozomului și activitatea fiziologică a celulei. Este posibil ca numărul condriozomilor și a cristelor mitocondriale sau a tubulilor să fie mai mare în celulele florilor sau în celulele meristemate din vârful de creștere care au o activitate fiziologică intensă.

Multă vreme cristele mitocondriale au fost considerate formațiuni exclusive ale membranei interne. **F.S. Sjostrand** (1953) a dovedit că există legătură între cristele mitocondriale și membranele interne numai pe o porțiune restrânsă având forma unui peduncul.

Înmulțirea mitocondriilor se face pe mai multe căi și anume: prin înmugurire din formațiuni inițiale de origine necunoscută sau prin diviziune sau ștrangulare. Cea mai probabilă este diviziunea mitocondrială. **K. Mulhenthaler** (1959).

Cunoașterea funcției fiziologice a condriozomilor a fost dedusă din compoziția chimică a acestora. Acest fapt a fost posibil după izolarea lor din citoplasmă. Cercetându-se conținutul lor biochimic s-a constatat prezența tuturor enzimelor ciclului Krebs și cele ale fosforilării oxidative. Dehidrogenaza se găsește numai în mitocondrii. Mai sunt prezenți citocromii, care sunt hemoproteine cu rol catalizator al respirației celulare, oxidaze și citocromoxidaze. Transportul electronilor în condriozomi se face cu ajutorul unui lanț de flavoproteine. Mitocondriile reprezintă “uzinele energetice” în care se eliberează energia acumulată în legăturile chimice ale substanțelor organice și care se depozitează apoi în legături **macroergice** fosfatice, de tipul ATP, prin procesul de fosforilare oxidativă. ATP-ul este sursa universală de energie celulară.

Până în prezent nu se poate explica transportul energiei (încorporate în ATP) din stroma condriozomilor în citoplasma celulară, și de aici la diferite organe unde se consumă. În acest important proces fiziologic desigur complicat, structura moleculară a membranelor mitocondriale, joacă un rol deosebit de important:

Fig.30. Reacțiile chimice din interiorul mitocondriei

Studiul activității fiziologice a diverselor fracțiuni mitocondriale obținute prin fragmentarea mitocondriilor permite determinarea rolului fiecărui constituent al mitocondriilor în activitatea întregii mitocondrii.

La nivelul **matrixului** mitocondrial se efectuează oxidarea acizilor grași (helixul lui Lynem).

Tot la nivelul matrixului are loc oxidarea Acetil-Co-A (ciclul Krebs) Se mai poate observa în matrix și concentrarea granulelor opace de cationi bivalenți sub formă de fosfați și proteine contractile care sunt responsabili cu umflarea și contracția mitocondriilor.

Membranele mitocondriale controlează schimbul între hialoplasmă și mitocondrii; 20% din proteinele care le compun sunt reprezentate prin enzime.

Din sistemele enzimatice puse în evidență unele participă la transportul activ al substanțelor între mitocondrii și hialoplasmă altele catalizează lanțul respirator și fosforilarea ADP - ului. După cercetări recente oxizomii de 85Å pe membranele interne fiind formate din enzime ale lanțului respirator. Se crede că în aceste granule enzimele sunt dispuse unele lângă altele în ordinea de suscesione care corespunde reacțiilor diferite din lanțul respirator.

Mitocondriile sunt organite care utilizează energia eliberată din oxidarea metaboliților oxidabili pentru regenerarea ATP -ului. În general, acest substrat “combustibil” este format din molecule mici (acid piruvic, acid cetoglutaric, acid oxalic, acizi grași) dizolvate sub formă de soluții în hialoplasmă. În aceste condiții mitocondriile găsesc direct în hialoplasmă “combustibil” uniform repartizat.

Repartizarea mitocondriilor în celulă este determinată de repartizarea ATP -ului în diferite regiuni ale celulei. Deci în celulă există structuri care conțin

cantități mari de ATP și în jurul acestora se observă îngrămădirea mitocondriilor. Energia furnizată de ATP-ul mitocondrial are utilizare diversă, cum este ilustrat de repartizarea ei în diferite celule. Se găsesc în vecinătatea ribozomilor, care sintetizează proteine sau se îngrămădesc în jurul structurilor contractile cum sunt flagelii sau lângă membranele plasmice ale celulelor care au rol în schimburile cu mediul extern.

Desfășurarea normală a proceselor vitale presupune consumarea unei mari cantități de energie.

În reacțiile metabolice care consumă oxigen se descompune substratul, metabolitul și se formează CO_2 , H_2O și energie. Etapele de descompunere sunt realizate de enzime specifice. Unele din acestea, consumă energie (fosforilarea) altele eliberează energie necesară celulei.

Fazele descompunerii sunt următoarele:

1. Descompunerea substanțelor organice prin hidroliză, în molecule mai mici (oze, acizi grași, AA, glicerol) cu eliberarea unei cantități mici de energie.
2. Prin *desmoliza moleculelor organice*, rezultă, CO_2 și **Error! Bookmark not defined.** și o cantitate mare de energie. Ansamblul acestor reacții de desmoliză formează oxidarea celulară sau respirația celulară.

7. 1. Oxidarea biologică

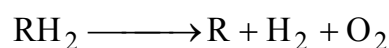
Oxidarea substratului prin fixarea directă a oxigenului practic nu se produce CO_2 degajat de plante care respiră în atmosferă cu O_2 izotop marcat (O_2^{18}) nu conține oxigen marcat. Deci, oxigenul nu oxidează direct carbonul substratului.

Dacă, însă, glucoza conține O_2^{18} atunci CO_2 degajat este C^{18}O_2 , adică provine dintr-un substrat prin proces de *decarboxilare*.

Luarea CO_2 de pe substrat sau decarboxilarea începe de la acizii **alfa-cetonici**, rezultați din degradarea glucidelor, lipidelor și protidelor.

Acizii alfa-cetonici sau alfa-cetoacizii intră în procese catabolice ale ciclului Krebs îi sub acțiunea **carbohidrazelor**, sunt degradați până la CO_2 și H_2O . În aerobioză decarboxilarea este însoțită de **dehidrogenare**, este deci o *decarboxilare oxidativă*.

În procesul respirației oxidarea se realizează, prin pierdere de hidrogen (dehidrogenare):



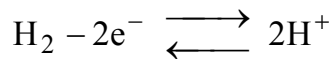
Pierderea de hidrogen a substratului “în vivo” este singura formă de oxidare a metaboliților în cursul descompunerii lor.

Astfel, de exemplu sub acțiunea unei enzime dehidrogenaza, **acidul succinic** prin pierdere de hidrogen se transformă în acid fumaric. Hidrogenul luat de pe substrat nu se eliberează ci trece pe un acceptor de hidrogen. Acesta

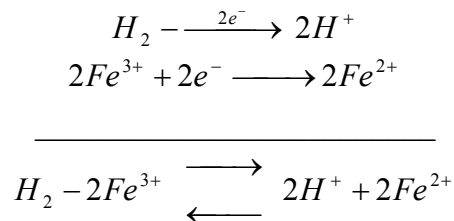
acționează sub formă oxidată și prin acceptarea de hidrogen devine redus, deci este de fapt un transportator de hidrogen.

Astfel o reacție de dehidrogenare a substratului, în realitate este o reacție de oxidare și reducere sau oxidoreducere, în care substratul se oxidează iar transportorul se reduce.

Dehidrogenarea din punct de vedere electro chimic este o pierdere de electroni. În acest sens, oxidarea hidrogenului molecular se reprezintă astfel:

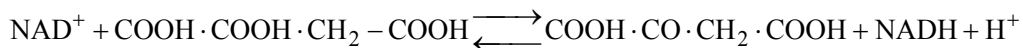


Electronii vor fi preluați de către oxidant, de o sare de fier trivalent, conform ecuației:



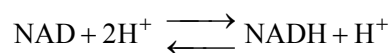
Astfel rezultă ioni de hidrogen (H^+) și sarea respectivă cu fier bivalent.

În cazul dehidrogenării enzimatice substanța oxidantă este **nicotinamidnucle-otidul** (NAD). Această enzimă poate capta în mod reversibil un atom de hidrogen, inelul piridinic reducându-se la a avea numai două legături duble, iar atomul de azot își pierde sarcina pozitivă



acid malic

sau



În decursul respirației transportorul de hidrogen prin acest proces de oxidoreducere se regenerează mereu și hidrogenul luat de pe substratul final este acceptat de oxigenul respirator cu care formează apă.

Combinarea hidrogenului detașat de pe substrat și a oxigenului respirator este posibil dacă, în prealabil hidrogenul este activat ($H_2 \longrightarrow 2H^+ + 2e^-$) și oxigenul de asemenea ($1/2 O + 2e^- \longrightarrow O^{2-}$). Transferul de electroni de la hidrogen spre oxigen se face prin citocromi.

Hidrogenul substratului până la oxigen parcurge **lanțul transportorilor** (= **lanț respirator**) de hidrogen și în cursul acestor etape sunt eliberate cantități mici de energie ce pot fi recuperate de la anumite niveluri. Celule vegetale conțin numeroși transportori de hidrogen. Nu toți intervin în mod obligatoriu în acest transfer al hidrogenului la oxigen.

Compoziția unui lanț respirator depinde de natura substratului celulei și de condițiile date. Pentru formarea unui lanț respirator trebuie ca transportorii să fie plasați în ordinea crescândă a potențialului redox și să fie prezente enzimele care răspund pentru fiecare transfer de hidrogen sau electron.

Mecanismul respirației aerobe prezintă trei etape:

1) Căile principale de descompunere a substratului respirator cuprind o serie de fenomene de hidroliză sau alte procese de descompunere a substratului, fosforilări care au loc pe substratul hidratării și deshidratării, dehidrogenări privind transferul de hidrogen pe lanțul respirator și decarboxilări.

2) La nivelul lanțului respirator se realizează pierderi de electroni din H_2 și activarea în ioni de H^+ , transportul de electroni, activarea oxigenului în ioni O_2 prin captare de electroni, Oxigenul activat devine acceptor de electroni și formează apă.

3) Aspectul energetic al respirației: transferul de hidrogen sau electroni proveniți de la hidrogen în decursul descompunerii substratului furnizează energie recuperabilă, în timp ce carboxidările nu produc decât energie care se pierde.

7. 1. 1. Ciclul Krebs

Ciclul Krebs și lanțul respirator au loc în mitocondrii. În consecință vom trata organitele acestea care sunt atât de importante în fazele finale ale respirației propriuzise.

În această fază finală a oxidării celulare strict aerobe are loc degradarea acidului piruvic rezultat din glicoliză, în CO_2 și apă. Ciclul acizilor tricarboxilici se realizează cu intervenția numeroșilor acizi cu trei funcții acide ($-COOH$) și produce cea mai mare parte a energiei eliberate în respirație. În cadrul ciclului, prin decarboxilări oxidative, plecând de la acidul piruvic, un radical acetil activat (CH_3CO-) se condensează cu un accept, al ciclului Krebs cu *acidul oxalacetic*. Acest radical prin diverse etape este complet descompus în CO_2 și H_2O , iar acidul oxalacetic se regenerează. Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic are multe faze intermediare și se realizează cu intervenția multor enzime și coenzime: TPP (tiaminpirofosfat), acid lipoic, coenzima A, NAD și ioni de Mg^{++} .

În prima etapă acidul piruvic se fixează pe TPP formând un compus de adiție; în a doua fază se combină cu acidul lipoic oxidat formându-se acid acetillipoic care în următoarea etapă sub influența Coenzimei A se transformă în acid lipoic redus după reacția următoare:

acid acetillipoic + Co A ----- Acetil-Co A + acid lipoic redus

acid lipoic redus + NAD ----- Acid lipoic oxidat + NADH + H^+ + CO_2

Radicalul **acetil-Co-A** sub formă activată este apoi condensat cu acceptorul ciclului Krebs, **acidul oxalacetic**. Acest proces de condensare se face sub

acțiunea catalitică a unei **enzime de condensare** și rezultă **acid citric** și se regenerează Acetil-Co-A. Acesta sub acțiunea enzimei **aconitază** se transformă în acid D-izocitric. Apoi are loc o oxidare a **acidului izocitric** în **acid oxalsuccinic** și decarboxilarea lui în **acid acetoglutaric**.

Decarboxilarea, oxidativă a acidului acetoglutaric în **acid succinic** este un produs complex care necesită tiaminpirofosfat, acid lipoic, Co-A și NAD. Rezultă **Succinil - Co-A**.

Fig.31. Ciclul Krebs (după Binet și Brunel, citat de Peterfi și colab., 1972)

Acesta se va transforma în fazele următoare în **acid succinic**, Co-A-SH și un pirofosfat bogat în energie, GTP (guanidintrifosfat). Această decarboxilare oxidativă a acidului acetoglutaric este o etapă de “răspântie”. Alga cetoglutaric prin aminare și transaminare permite legarea sintezei aminoacizilor de ciclul Krebs. Reacția de decarboxilare a acidului alfa-acetoglutaric permite formarea unei molecule de ATP sau GTP. Succinil- Co-A este un intermediar în biosinteza nucleului porfirinic al clorofilelor și citocromilor. Ciclul Krebs se încheie prin intermediul diacizilor tricarboxilici astfel:

acidul succinic —————> acid fumaric
 acidul fumaric —————> acid malic
 acidul malic —————> acid oxalacetic.

Deci, ciclul se încheie cu regenerarea acidului oxalacetic care se condensează apoi cu o nouă moleculă de Acetil-Co-A rezultat din convertirea preliminară a acidului piruvic în acetat activat și astfel are loc încorporarea și descompunerea completă a acidului piruvic prin trei decarboxilări și cinci dehidrogenări.

Oxigenarea completă a unei molecule de acid piruvic este cuplată cu formarea a 15 legături macroenergetice, adică cu 15 molecule de ATP sau 8000 de calorii plecând de la ADP și P mineral.

În cazul când componentele ultracentrifugale ale mitocondriilor au putut fi separate atunci cristele, septele și membranele periferice își păstrează capacitatea de a realiza ciclul Krebs.

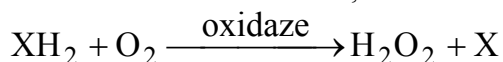
7. 1.2.. Lanțul respirator

La nivelul lanțului respirator are loc transportul hidrogenului și acceptarea lui finală de către oxigen.

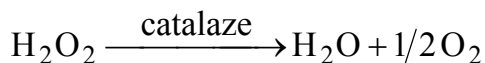
În procesul de degradare a substratului respirator suferă numeroase dehidrogenări datorate transhidrazilor care catalizează desprinderea hidrogenului de pe substrat și acceptarea lui de un transportor de hidrogen. Astfel, acceptorul de hidrogen trece dintr-o formă *oxidată* într-una *redușă*. În acest fel, hidrogenul este introdus într-o catenă de transportori sau lanț respirator, care îl conduce fie sub formă de hidrogen molecular (H₂), fie sub formă de proton (H⁺) și electronii până la acceptorul final, care în aerobioză este O₂, cum este la plantele superioare.

Enzimele care acționează de-a lungul lanțului respirator pot fi grupate în trei categorii:

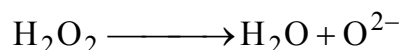
1. Transdehidrogenazele
2. Electrotransferazele
3. Oxidazele terminale a căror substrat terminal este oxigenul. Se cunosc oxidaze care acționează fără a modifica oxigenul:



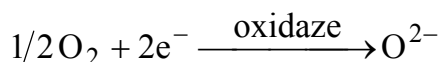
Apa oxigenată fiind toxică se descompune imediat sub acțiunea catalazelor:



sau



Alte oxidaze modifică oxigenul molecular prin ionizare, prin fixare de electroni:



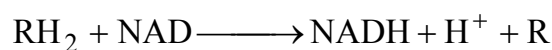
Aceste oxidaze joacă rol de electrotransferaze, ele apărând la sfârșitul lanțului respirator.

Primul transportor de hidrogen, foarte frecvent:

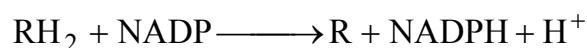
- NAD ; uneori NADP ; uneori FAD,

Lanțul principal respirator în celula vegetală pleacă de la $\text{NADH} + \text{H}^+$ și se termină cu O_2 , trecând prin intermediul **flavoproteinelor**, **citocromilor** și **citocromoxidazei**. Acesta este lanțul citocromilor care cuprinde mai multe etape legate între ele:

1. Dehidrogenarea substratului respirator

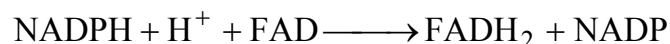


sau



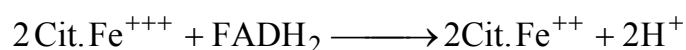
Aceste reacții produc o cantitate mică de energie.

2. Intervenția flavinnucleotidelor (FAD, FMN) ce joacă un rol intermediar în transportul hidrogenului, între NAD și citocromi.

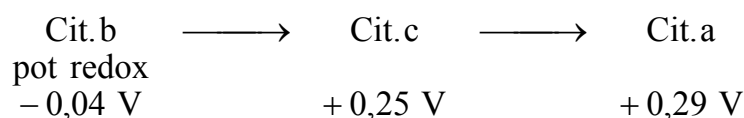


Din punct de vedere termodinamic, această etapă este însoțită de o importantă eliberare de energie.

3. Activarea hidrogenului prin transferul de electroni de la FADH_2 la citocromi. $\text{H}_2 \longrightarrow 2\text{H}^+$

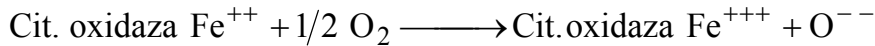
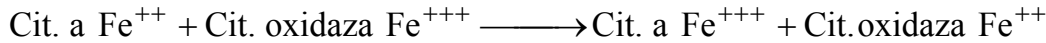


4. Transferul electronilor prin citocromi până la citocromoxidază. Din țesuturile vegetale s-au izolat mai mulți citocromi care pot fi identificați prin spectrul de absorbție; sunt denumiți a, b, c, după lungimea de undă a benzilor de absorbție:



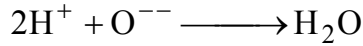
La întuneric, în prezența **cianurei** și a CO_2 citocromii rămân în stadiu redus (Cit.Fe^{++}) și nu mai pot ceda electronul fixat în ionul de Fe. Acest fenomen explică oprirea respirației prin HCN și CO_2 .

5. Activarea oxigenului molecular în O^{2-} prin oxidarea citocromoxidazei cu ajutorul ionilor de H^+

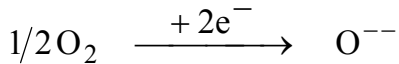
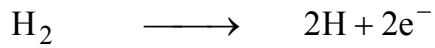


Activitatea acestei citocromoxidază este inhibată prin lumină.

Formarea apei metabolice sau de respirației



după ce în prealabil a fost activat atât hidrogenul, cât și oxigenul



Cercetări prin ultracentrifugare arată că transferul hidrogenului substratului pe oxigen de către citocromi se face în mitocondrii. Enzimele lanțului respirator sunt localizate la nivelul cristelor mitocondriale și mai greoi la nivelul oxizomilor.

7.2. Întrebări

1. Enzime oxido-reducătoare se găsesc în :

- a.lizozomi
- b.ribozomi
- c.mitocondrii
- d.centrozom
- e.aparatul Golgi

2. Mitocondria se caracterizează prin :

- a. prezența vacuolelor fagocitare
- b membrană dublă
- c. prezența oxizomilor
- d. reacțiile de oxido-reducere

3. Mitocondriile au rol în :

- a. energeneza celulară
- b. producere de ATP
- c. sinteză de acizi grași
- d. creșterea organismelor
- e. sinteza proteinelor

4. Care din afirmații următoare sunt corecte:

- a. membrana mitocondrială externă este cutată
- b. membrana mitocondrială externă este netedă
- c. membrană internă este cutată
- d. oxizomii se află pe membrana internă
- e. pe oxizomi se află enzimele lanțului respirator.

5. In reacțiile ciclului Krebs intră:

- a. proteinele, glucidele și lipidele

- b. acidul piruvic
- c. acetyl-Co-A
- d. decarboxilaze
- e. dehidrogenaze

6. Oxidarea biologică se realizează prin:

- a. dehidrogenare
- b. decarboxilare
- c. transportul electronilor în lanțul respirator
- d. reacții exergone
- e. formarea legăturilor peptidice

7. Flavinnucleotidele intervin în :

- a. dehidrogenarea unui substrat
- b. dehidrogenarea NADPH - ului
- c. transportul hidrogenului la citocromi
- d. formarea moleculelor de ATP
- e. prima reacție a lanțului transportor de electroni

8. Reacțiile lanțului respirator produc :

- a. ionizarea hidrogenului
- b. ionizarea oxigenului
- c. formarea de apei oxigenate
- d. formarea apei de respirație
- e. nici o variantă nu este corectă

9. Intermediarii ciclului Krebs, în ordinea reacțiilor sunt:

- a. acetyl-Co-A reacționează cu acidul oxalo-acetic, acid izo-citric, acid citric, acid.cis-aconitic, acid alfa-ceto-glutaric, acid oxalo-succinic acid succinil Co A, acid succinic, acid fumaric, acid malic
- b. acetyl-Co-A reacționează cu acidul oxalo-acetic, acid citric, acid.cis-aconitic , acid, izo-citric, acid oxalo-succinic, acid alfa-ceto-glutaric, succinil-Co A, acid succinic, acid fumaric, acid malic
- c. acetyl-Co-A reacționează cu acidul oxalo-acetic acid alfa-ceto-glutaric, succinil-Co A, , acid citric, izo-citric, acid.cis-aconitic, acid succinic, acid fumaric, acid malic
- d. acetyl-Co-A reacționează cu acidul oxalo-acetic, acid succinic, acid fumaric, acid malic, acid alfa-ceto-glutaric, succinil-Co A, succinil-Co A, acid citric, izo-citric
- e. ultimele trei reacții formează acizii tricarboxilici: acid succinic, acid fumaric, acid malic

10. Care din afirmațiile următoare sunt corecte:

- a. mitocondria trăiește 8 zile
- b. forma mitocondriei este numai bacilară
- c. numărul mitocondriilor este stabil
- d. numărul depinde de activitatea metabolică a celulelor
- e. .mitocondria conține enzimele reacțiilor fosforilare fotosintetică

11. Reacția generală a respirației este următoarea:

- a. $6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 \xrightarrow{\hspace{2cm}} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 + \text{energie}$
- b. $6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 + \text{săruri minerale} \xrightarrow{\hspace{2cm}} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 + \text{energie}$
- c. $6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 + \text{săruri minerale} + \text{lumină} \xrightarrow{\hspace{2cm}} 6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 + \text{Q}$
lumină
- d. $6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 + \text{săruri minerale} \xrightarrow{\hspace{2cm}} 6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 + \text{Q}$
clorofilă
- e. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 \xrightarrow{\hspace{2cm}} 6 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ CO}_2 + \text{Q}$

12. Substanțele organice cu valoare energetică mai mare sunt:

- a. glucidele
- b. proteinele
- c. lipidele
- d. fosfolipidele
- e. lipoproteinele