

Citologia dei mitocondri

1

MITOCONDRI: Organelli membranosi allungati che forniscono energia alla cellula mediante fosforilazione ossidativa

Metabolismo energetico

- Sono sede della beta-ossidazione degli acidi grassi
- Sono trasduttori di energia: trasformano energia chimica dei metaboliti in energia facilmente utilizzabile dalla cellula (ATP).

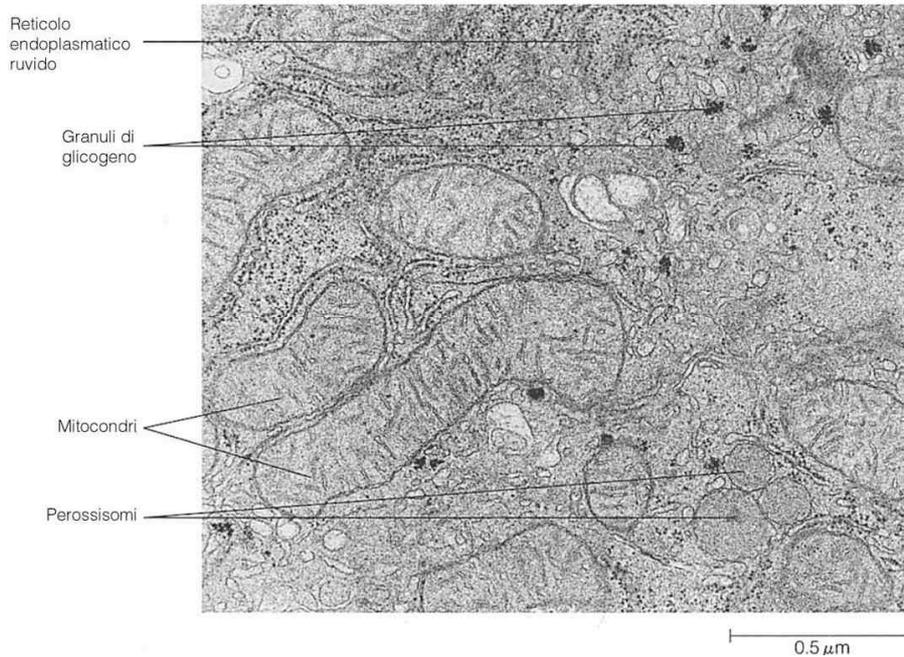
Altre funzioni dei mitocondri:

- Importante ruolo anche nel metabolismo dei lipidi e dei fosfolipidi
 - Partecipano alla sintesi degli ormoni steroidei
 - Accumulano e concentrano ioni (Ca^{++}) e piccole molecole
 - Ruolo nel controllo della morte cellulare per apoptosi
-

2

16_mitocondri-perossisomi

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - mitocondri

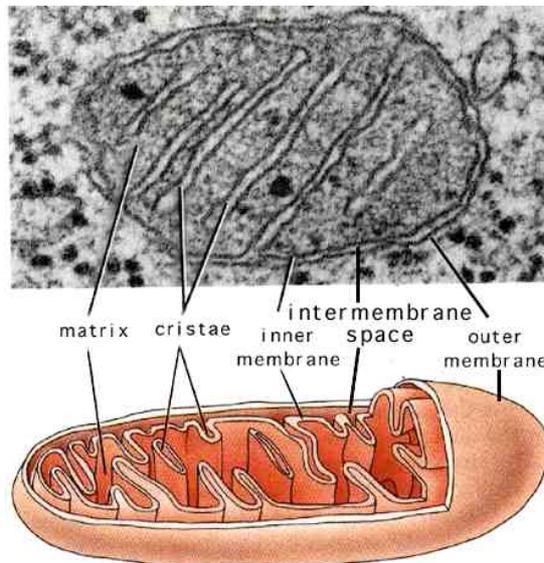


Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - mitocondri

I mitocondri sono organelli presenti in tutte le cellule. La loro struttura è caratterizzata da due membrane (membrana mitocondriale esterna e membrana mitocondriale interna con creste) che definiscono due spazi (spazio intermembranoso e matrice mitocondriale).

- Le cellule in genere contengono molti mitocondri (500-1000), il numero è caratteristico per ogni tipo cellulare. Morfologia, dimensioni e posizione dei mitocondri sono variabili

- Il numero dei mitocondri e il numero delle creste è proporzionale alla attività metabolica della cellula. I mitocondri contengono anche un DNA (genoma mitocondriale) e sono sede di trascrizione di RNA e traduzione di proteine.



4

Membrana esterna

- Molto permeabile (porina: proteina che forma canali >5000 dalton)
- Enzimi per la sintesi dei lipidi e per il metabolismo degli acidi grassi
- Molecole pro- e anti-apoptotiche

Spazio intermembrana

- Contiene ATP generato nella membrana interna e ioni
- Presenta enzimi per fosforilare altri nucleotidi
- Lo spazio intermembrana è chimicamente equivalente al citosol, per quanto riguarda le piccole molecole che contiene

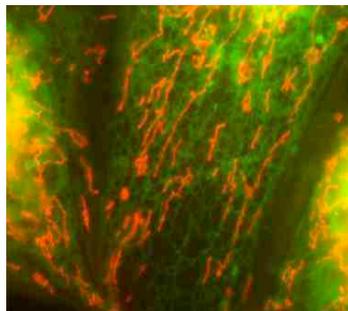
Membrana interna

- Ripiegata in creste
- Composta da 80% proteine, 20% lipidi
- Altamente impermeabile a piccoli ioni; questa caratteristica è dovuta alla elevata concentrazione del fosfolipide cardiolipina. Permeabile solo a H₂O, CO₂, O₂. Per questo motivo il passaggio di metaboliti e altre sostanze è regolato da specifiche PROTEINE DI TRASPORTO ciascuna delle quali trasporta una diversa sostanza (es. ATP, piruvato, fosfato, ioni, ecc.)
- Contiene catena respiratoria, ATP sintetasi, proteine di trasporto.

5

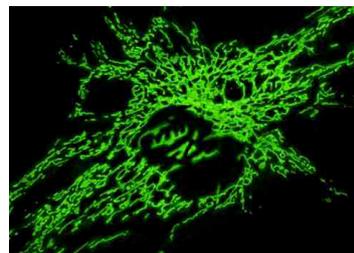
Morfologia, dimensioni e posizione dei mitocondri sono variabili: Non sono organelli rigidi, ma vanno incontro a modificazioni di forma nel tempo, si muovono nella cellula grazie all'associazione con i microtubuli. Spesso si allineano in catene.

Mitocondri molto allungate in cellule endoteliali



Colorante fluorescente rosso: mitocondri; colorante fluorescente verde: RE

Localizzazione perinucleare dei mitocondri in fibroblasti



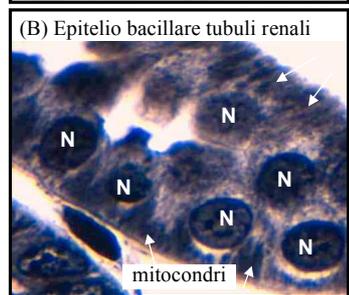
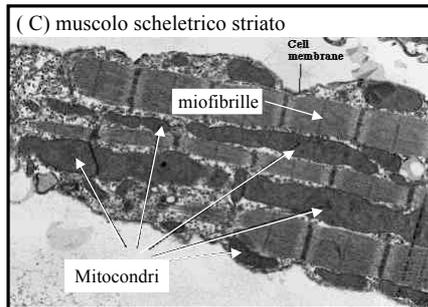
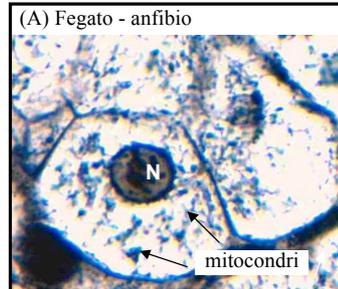
Fluorescenza del costrutto di fusione tra proteina mitocondriale e GFP.

6

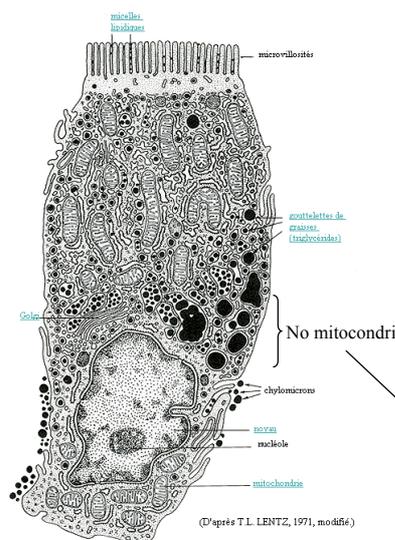
16_mitocondri-perossisomi

•Morfologia, dimensioni e posizione dei mitocondri sono variabili

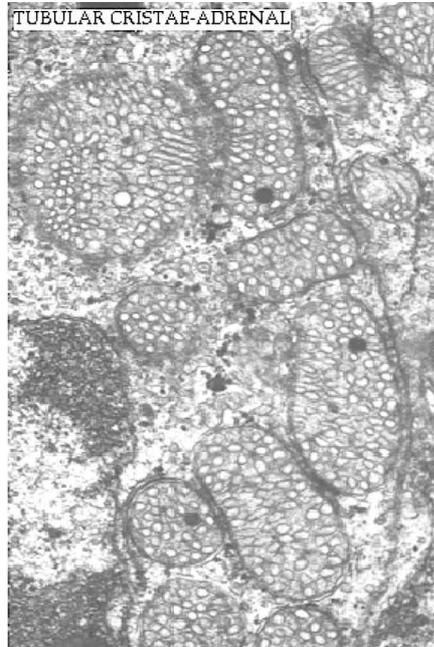
- (A) mitocondri distribuiti uniformemente nel citoplasma delle cellule di fegato (marcatura istologica)
- (B) mitocondri disposti nella regione basale delle cellule del tubulo renale (marcatura istologica)
- (C) nelle fibre muscolari striate i mitocondri sono disposti in file longitudinali (microscopia elettronica).



(D) Nell'intestino tenue i mitocondri sono distribuiti sia nella parte basale che nella parte apicale. Tutte le cellule dell'epitelio hanno la medesima distribuzione dei mitocondri, motivo per cui le zone chiare (non marcate) in ciascuna cellula sono alla stessa altezza e l'apparenza globale è la striscia continua più chiara che attraversa lo stratto epiteliale.



In alcuni casi le creste della membrana interna sono tubulari (ghiandola surrenale).

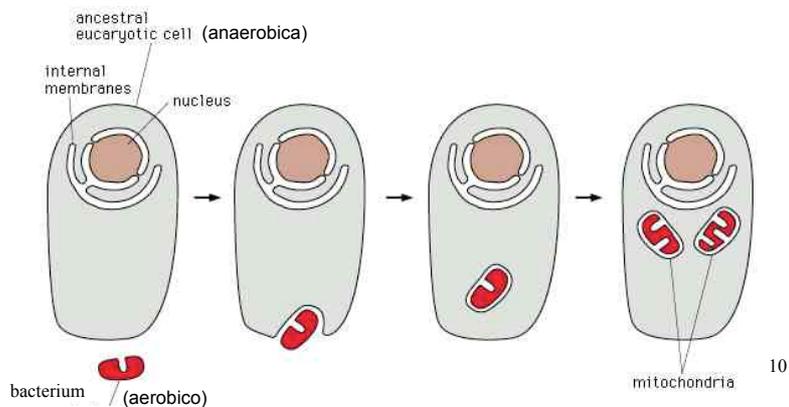


9

Biogenesi ed Evoluzione

Ipotesi Endosimbiotica: i mitocondri deriverebbero dalla simbiosi tra batteri dotati di sistemi enzimatici del metabolismo ossidativo con cellule eucariotiche primitive. In seguito, i batteri avrebbero trasferito la maggior parte dei loro geni al genoma dell'eucariote.

Le prove a favore di tale teoria sono i) DNA ad anello; ii) somiglianza tra le costanti di sedimentazione; iii) sensibilità ad alcuni antibiotici (sensibili al cloroanfenicolo e non sensibili alla cicloesimmide); iv) somiglianza tra la sequenza aminoacidica della superossidodismutasi con l'enzima batterico e non con quella degli Eucarioti.



Biogenesi ed Evoluzione

Una teoria alternativa afferma che il genoma mitocondriale sia derivato dalla segregazione, entro un'area delimitata da una membrana, di una parte del DNA nucleare adibita a codificare per proteine incapaci di attraversare le membrane mitocondriali. Ciò sarebbe accaduto in un Eucariote primitivo in coincidenza o subito dopo la divergenza tra Procarioti ed Eucarioti, il che giustifica le caratteristiche procariotiche degli acidi nucleici mitocondriali.

11

Composizione chimica dei mitocondri:

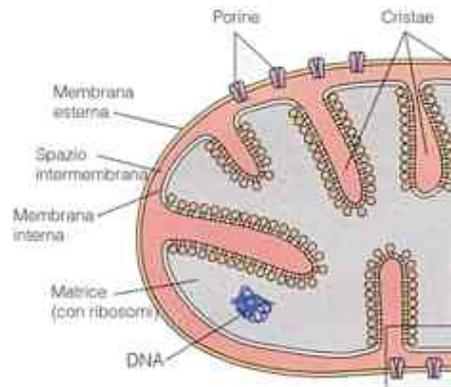
proteine (65-70%); lipidi (25-30%); nucleotidi (ATP, ADP, NAD⁺, NADP⁺, FAD); Ioni (Na⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺).

La **membrana mitocondriale esterna** è simile a quella del RE e contiene lipidi 40/50 % (fosfolipidi – fosfatidilcolina), contro il 21 % presente in quella interna. Permeabilità alta grazie alla presenza di porine (canali).

La **membrana mitocondriale interna** (simile alla membrana plasmatica dei batteri) contiene cardiolipina ed è quasi del tutto priva di colesterolo.

Matrice mitocondriale

- Molto ricca in proteine: enzimi per l'ossidazione dell'acido piruvico e degli acidi grassi, per il ciclo dell'acido citrico (ciclo di Krebs)
- Contiene granuli densi ricchi di cationi Ca⁺⁺, Mg⁺⁺
- Contiene DNA e ribosomi per l'espressione dei geni mitocondriali



(b) Schema di una sezione di un mitocondrio

12

Genoma mitocondriale (mtDNA)

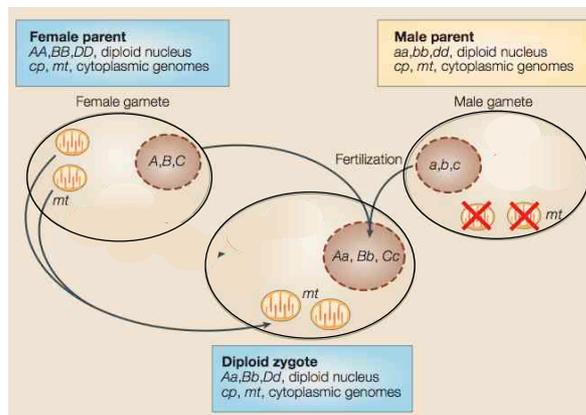
- DNA circolare simile al DNA batterico
- In copie multiple (5-10) distribuite in ammassi all'interno della matrice mitocondriale
- Il totale dei DNA mitocondriali può arrivare allo 0,5 % del genoma di una cellula nucleata
- Il genoma mitondriale si eredita per via materna
- Il genoma mitocondriale contiene 37 geni codificanti per due RNA ribosomiali (rRNA), 22 RNA di trasporto (tRNA) e 13 proteine che fanno parte dei complessi enzimatici deputati alla fosforilazione ossidativa. È da notare, comunque, che il numero di geni presenti sul mtDNA è variabile a seconda delle specie.
- In ogni mitocondrio si trovano da due a dieci copie del genoma. Il codice genetico dei mitocondri è leggermente differente da quello della cellula (4 codoni diversi da codice universale)
- Replicazione non dipende dal DNA nucleare
- Non è associato a istoni

13

Eredità materna dei mitocondri

Nel passaggio tra genitore e prole, l'mtDNA non viene praticamente modificato, diversamente dal DNA nucleare che varia per il 50% da una generazione all'altra. Proprio per il limitato tasso di mutazione, il mtDNA è considerato un potente strumento per ricostruire le caratteristiche di una specie (tracciando all'indietro l'intera linea femminile) ed è stato usato in questo modo per studiare molte specie fino a generazioni di centinaia di anni addietro.

Eredità materna degli organelli citoplasmatici (compresi i mitocondri e dunque eredità materna del mtDNA)

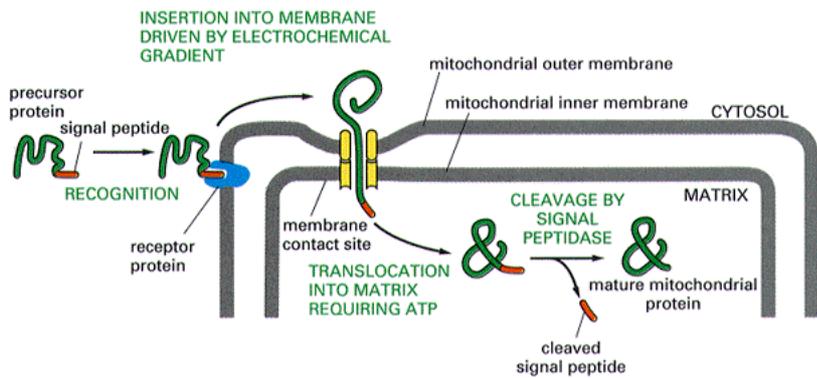


14

16_mitocondri-perossisomi

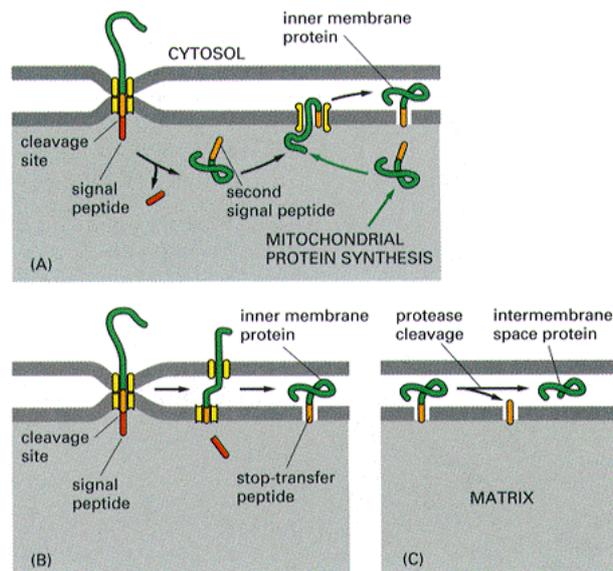
Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - mitocondri

La maggior parte delle proteine mitocondriali sono codificate dal DNA genomico (nucleare). Le proteine mitocondriali codificate dal genoma nucleare sono sintetizzate nel citoplasma da ribosomi liberi e poi trasportate nel mitocondrio. Il loro trasporto è dunque post-traduzionale. In funzione delle sequenze d'indirizzamento queste proteine possono rimanere nella matrice oppure essere inserite nelle membrane mitocondriali.



15

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - mitocondri

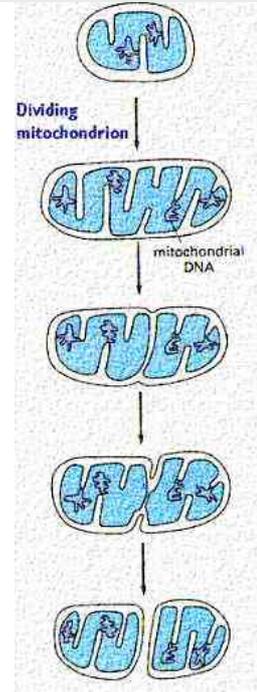
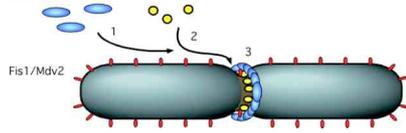
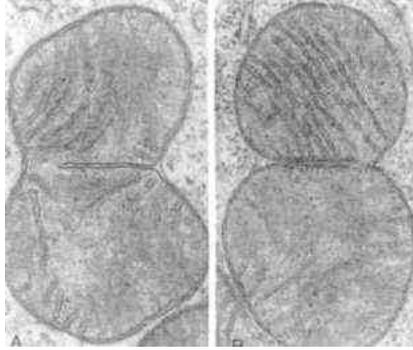


16

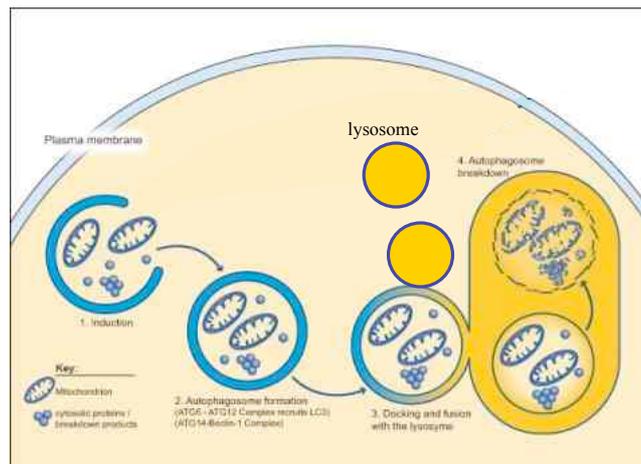
16_mitocondri-perossisomi

Ciclo vitale e biogenesi: dopo una breve fase di accrescimento, i mitocondri si dividono in mitocondri più piccoli. Vita media 9-10 giorni negli epatociti di ratto; 5-6 giorni nel cuore di ratto.

Mitochondrial Division

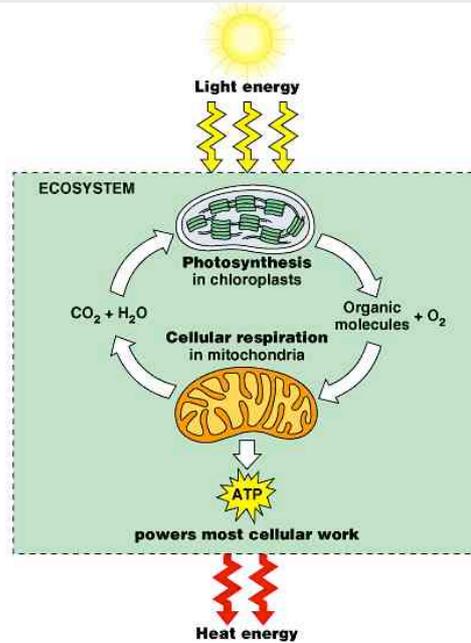


Mitocondri obsoleti sono eliminati dalla cellula per autofagocitosi

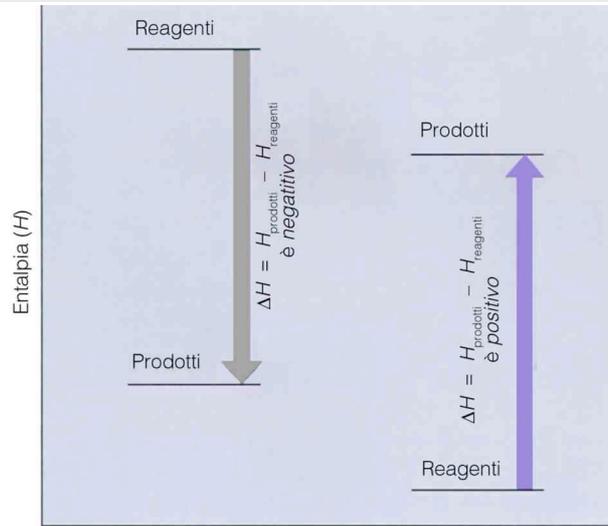


Metabolismo energetico

19



20



(a) Reazione esotermica (diminuzione di entalpia)

(b) Reazione endotermica (aumento di entalpia)

Figura 5-8

21

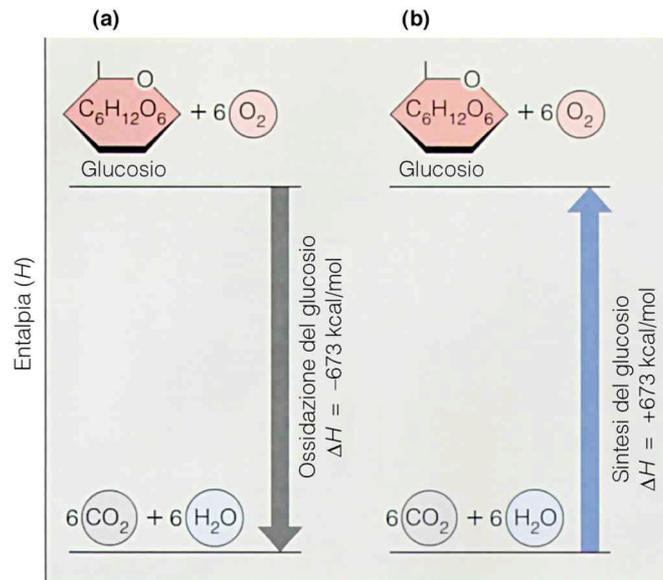


Figura 5-9

22

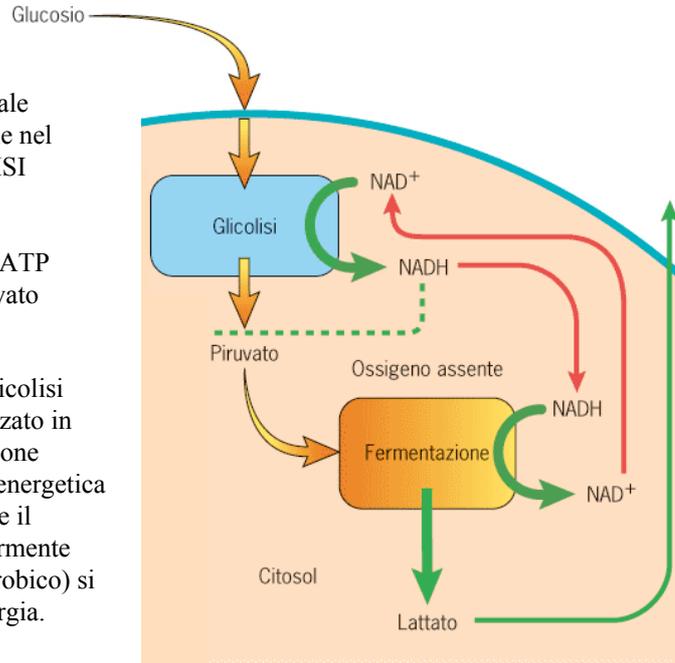
16_mitocondri-perossisomi

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - metabolismo energetico

La degradazione iniziale degli zuccheri, avviene nel citoplasma: GLICOLISI ANAEROBIA

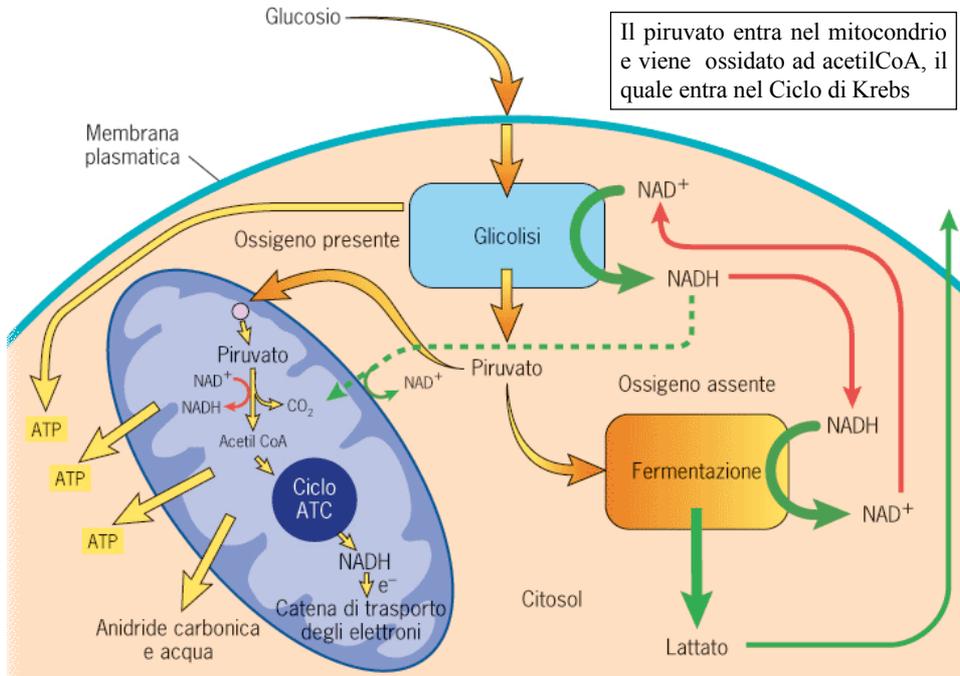
- Indipendente da O_2
- Bassa produzione di ATP
- Prodotto finale: piruvato

Se il prodotto della glicolisi (piruvato) viene utilizzato in reazioni di fermentazione (anaerobiche) la resa energetica rimane bassa se invece il piruvato viene ulteriormente ossidato (processo aerobico) si ottiene molta più energia.

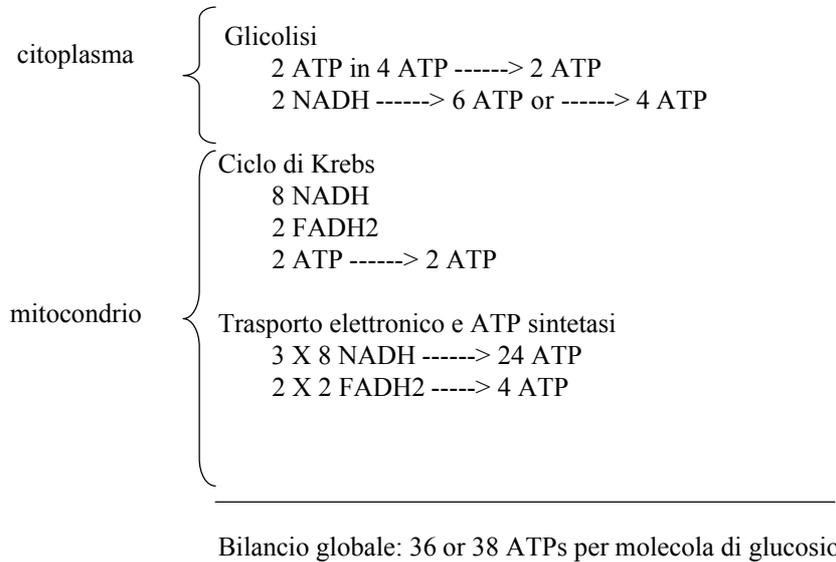


Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - metabolismo energetico

Il piruvato entra nel mitocondrio e viene ossidato ad acetilCoA, il quale entra nel Ciclo di Krebs

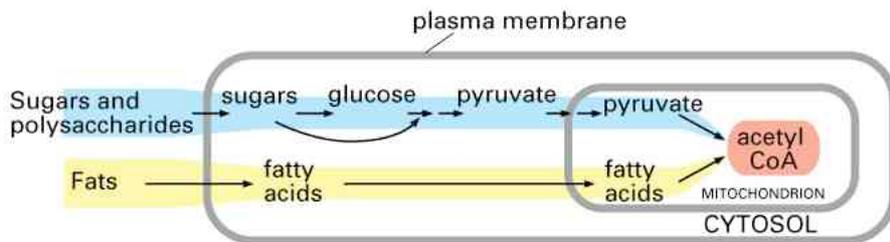


16_mitocondri-perossisomi

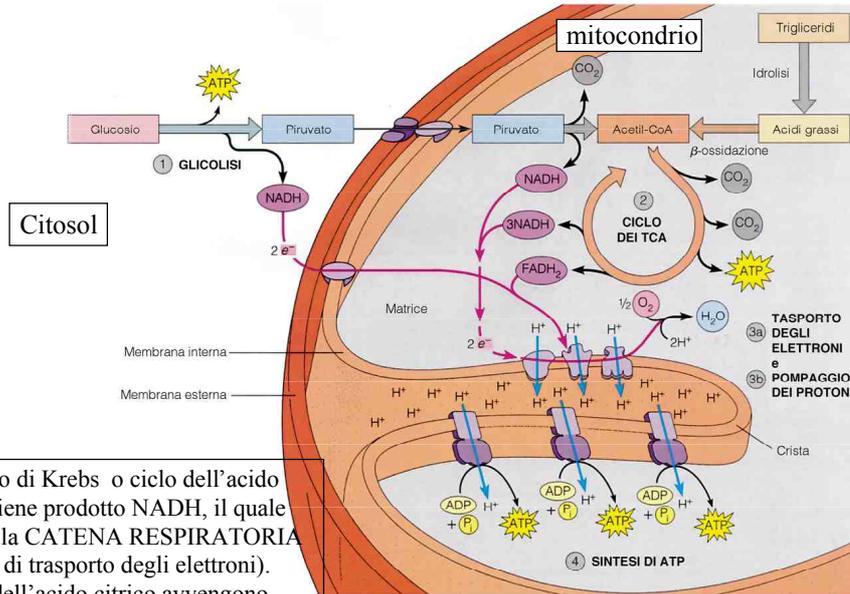


L'Acetil-CoA è prodotto da diverse vie metaboliche

La glicolisi non è l'unica via catabolica in grado di produrre energia. Il ciclo dell'acido citrico è una via metabolica centrale che consente di utilizzare diversi combustibili metabolici oltre al piruvato derivante dalla glicolisi.



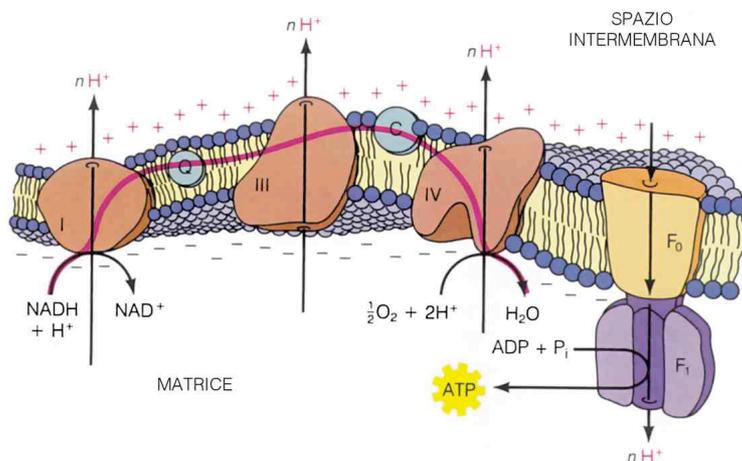
16_mitocondri-perossisomi



Nel Ciclo di Krebs o ciclo dell'acido citrico viene prodotto NADH, il quale entra nella CATENA RESPIRATORIA (sistema di trasporto degli elettroni). Il ciclo dell'acido citrico avvengono reazioni di decarbossilazione che producono CO₂, ATP, NADH (FADH₂)

(b) Localizzazione della respirazione aerobica all'interno del mitocondrio

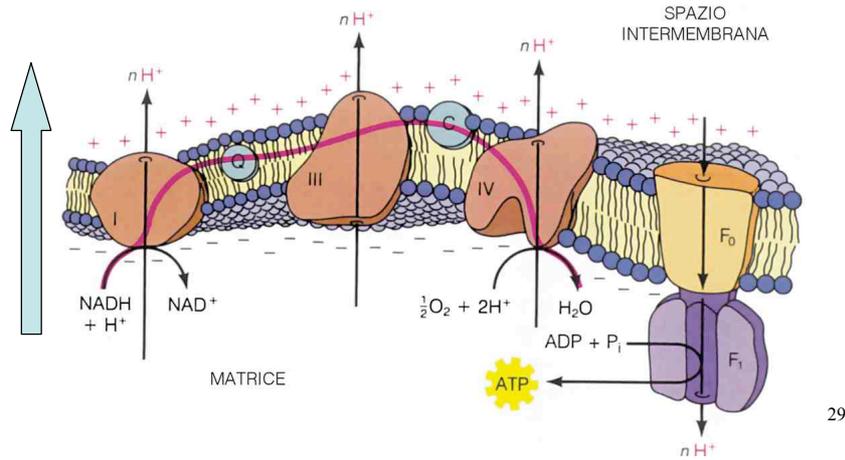
Il gradiente è mantenuto grazie al consumo nella matrice mitocondriale di protoni per la produzione di molecole d'H₂O. In questo modo l'ATP sintasi è capace di produrre più di 100 molecole di ATP al secondo. Tre o quattro protoni devono passare attraverso l'ATP sintasi per produrre ciascuna molecola di ATP. Componenti della catena respiratoria hanno una disposizione precisa nella membrana mitocondriale interna. La maggior parte delle proteine della catena respiratoria sono intrinseche di membrana.



16_mitocondri-perossisomi

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - metabolismo energetico

Il NADH (trasportatore di H^+ , prodotti dal ciclo di Krebs) entra nella catena respiratoria (sistema di trasporto degli elettroni). La catena respiratoria catalizza una serie di reazioni in cui elettroni e protoni passano attraverso una serie di accettori intermedi, con liberazione graduale di energia. Alla fine della catena respiratoria H raggiunge O_2 , con produzione di H_2O . Durante la catena respiratoria si ha un **trasporto netto di H^+** attraverso la membrana mitocondriale interna, nello spazio intermembrana.

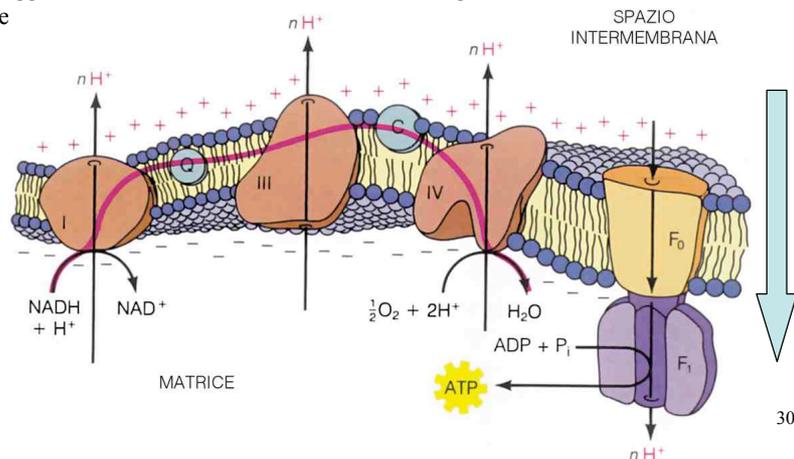


29

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - metabolismo energetico

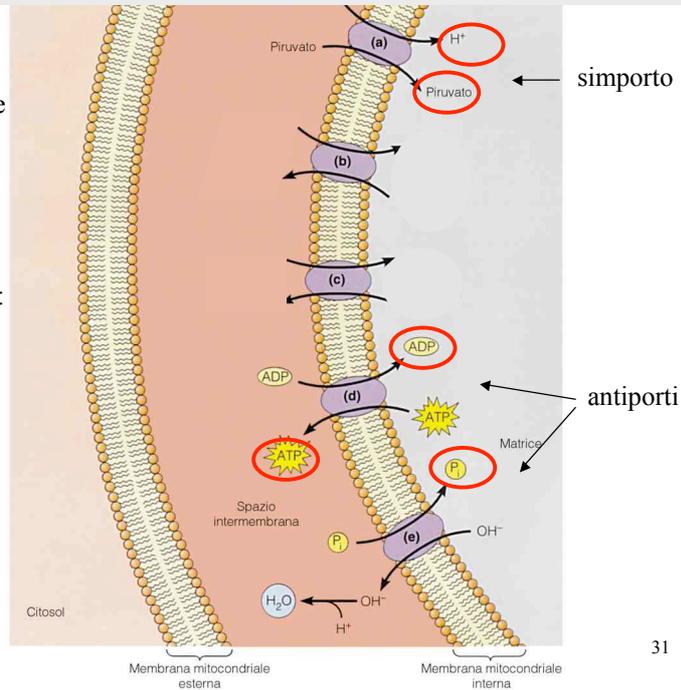
La fosforilazione ossidativa: ATP sintasi

La **sintesi di ATP** utilizza l'energia rilasciata dai trasportatori di H^+/e^- lungo la catena respiratoria. Il meccanismo che accoppia le due reazioni è determinato dal gradiente elettrochimico risultante dal trasporto di H^+ nella catena respiratoria: passaggio vettoriale di H^+ attraverso la membrana mitocondriale interna. L'energia per la sintesi di ATP è resa disponibile dal gradiente elettrochimico ed è ottenuta mediante il passaggio di H^+ attraverso la membrana secondo gradiente, in senso inverso, a livello delle



30

Piruvato, ADP e Pi devono passare dal citosol alla matrice del mitocondrio. L'ATP deve passare dalla matrice al citosol: questi trasporti sono accoppiati.



31

Citologia dei perossisomi

32

Perossisomi organelli a singola membrana. Come i mitocondri, i perossisomi sono siti molto importanti di utilizzo dell'ossigeno.

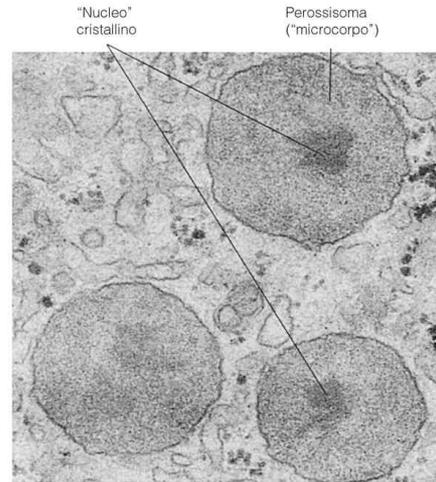
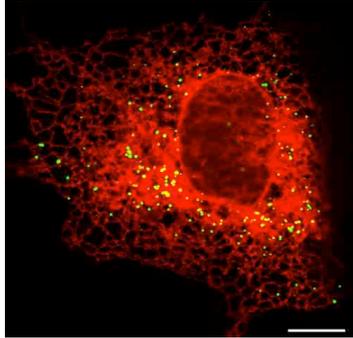


Figura 12-24

33

Origine dei perossisomi

Un'ipotesi è che i perossisomi siano un **vestigio di un antico organello** che svolgeva tutto il metabolismo dell'ossigeno negli antenati ancestrali delle cellule eucariotiche. Quando l'ossigeno prodotto da batteri fotosintetici ha iniziato ad accumularsi nell'atmosfera, potrebbe essere stato tossico alla maggior parte delle cellule. I perossisomi potrebbero essere serviti ad **abbassare la concentrazione intracellulare di ossigeno**, mentre allo stesso tempo sfrutterebbero la sua reattività chimica per svolgere reazioni ossidative. In accordo con questa ipotesi, lo sviluppo ulteriore dei mitocondri avrebbe reso i perossisomi in gran parte obsoleti perché molte delle stesse reazioni – che prima erano state svolte nei perossisomi senza produrre energia - erano ora accoppiate alla formazione di ATP mediante la fosforilazione ossidativa nei mitocondri. **Le reazioni ossidative svolte dai perossisomi nelle cellule attuali sarebbero quindi quelle che hanno funzioni importanti non passate ai mitocondri.**

34

16_mitocondri-perossisomi

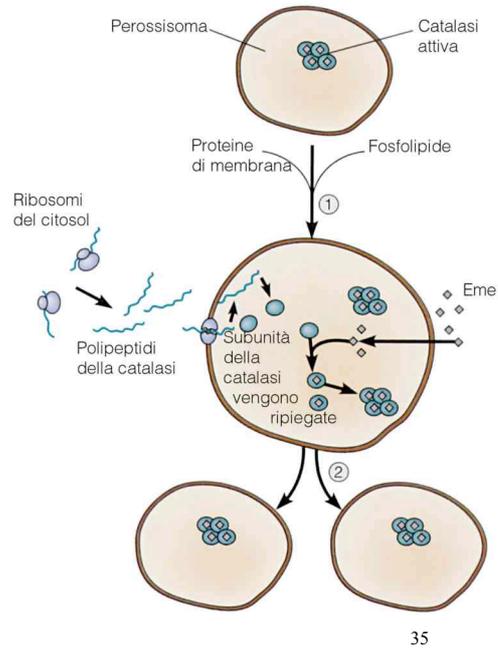
Perossisomi

Organuli che originano dal RE e da proteine formate da ribosomi liberi.

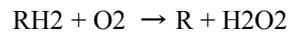
Sono in grado di dividersi. Contengono 50 enzimi che catalizzano reazioni ossidative. Il più rappresentato tra gli enzimi è la catalasi.

Attività di catalisi:
demolizione di acido urico, AA, acidi grassi

Attività di sintesi:
alcuni lipidi, colesterolo, dolicolo, acidi biliari, plasmalogeni (fosfolipidi con un legame estere)

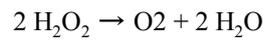


I perossisomi sono così chiamati perché contengono di solito uno o più enzimi che usano l'ossigeno molecolare per rimuovere atomi di idrogeno da substrati organici specifici (sotto designati per R) in una reazione di tipo ossidativo che produce perossido di idrogeno (H₂O₂):

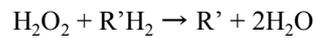


I perossisomi usano l'ossigeno molecolare e il perossido di idrogeno per svolgere reazioni ossidative.

I perossisomi producono al loro interno perossido di idrogeno (H₂O₂): Il perossido di idrogeno che viene formato è altamente reattivo ed ha azione ossidante per cui viene subito eliminato dall'enzima catalasi (uno dei più rappresentati) che catalizza la seguente reazione:



L'enzima **catalasi** utilizza il H₂O₂ generato da altri enzimi presenti nell'organello per ossidare una grande diversità di altri substrati – incluso fenoli, acido formico, formaldeide e alcool – mediante una reazione detta “perossidativa”:



Il perossido di idrogeno ha potere lesivo nei confronti di microrganismi ed interviene in alcuni processi di detossificazione.

37