

CHONDRION – MITOCHONDRIAL ENSEMBLE OF CELL

Yu. S. CHENTSOV

Different types of mitochondrial ensembles in different cells are described, the functional role of mitochondrial reticulum and branched mitochondrial catenaries is discussed as well as the significance of inter-mitochondrial junctions.

Описаны различные типы митохондриальных ансамблей в клетках и рассмотрена функциональная роль митохондриального ретикулума, разветвленных митохондриальных цепей и межмитохондриальных соединений.

ХОНДРИОМ – СОВОКУПНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ КЛЕТКИ

Ю.С.ЧЕНЦОВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, митохондрии являются структурами, которые осуществляют синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) – основной энергетической единицы всего царства живого. Обычно митохондрии представляют собой мелкие (длиной 0,5–3 мкм) внутриклеточные образования, располагающиеся в местах, где необходимо использование энергии для любых жизненных процессов. Возник вопрос, каким образом транспортируется в клетке энергия – путем ли диффузии АТФ и нет ли в клетках структур, исполняющих роль электрических проводников, которые могли бы энергетически объединять отдаленные друг от друга участки клетки.

Гипотеза заключается в том, что разность потенциалов в определенной области мембраны митохондрий передается вдоль нее и превращается в работу в другой области той же мембраны [1]. Как представлялось, подходящими кандидатами на эту же роль могли быть мембраны самих митохондрий. Кроме того, исследователи интересовали взаимодействие в клетке множественных митохондрий друг с другом, работа всего ансамбля митохондрий, всего хондриома – совокупности всех митохондрий.

МИТОХОНДРИИ – СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ

Митохондрии – органеллы синтеза АТФ характерны за малым исключением для всех эукариотических клеток как ауотрофных (фотосинтезирующие растения), так и гетеротрофных (животные, грибы) организмов. Их основная функция связана с окислением органических соединений и использованием освобождающейся при распаде этих соединений энергии в синтезе молекул АТФ. Поэтому митохондрии часто называют энергетическими станциями клетки. Митохондрии или хондриосомы (от греч. mitos – нить, chondrion – зернышко, soma – тельце) представляют собой гранулярные или нитевидные органоиды (рис. 1, а).

Митохондрии можно наблюдать в живых клетках, так как они обладают достаточно высокой плотностью. В живых клетках митохондрии могут двигаться, перемещаться, сливаться друг с другом. Особенно хорошо митохондрии выявляются на препаратах, окрашенных различными способами. Размеры митохондрий непостоянны у разных видов, так же как изменчива их форма. Все же у большинства клеток толщина этих структур относительно

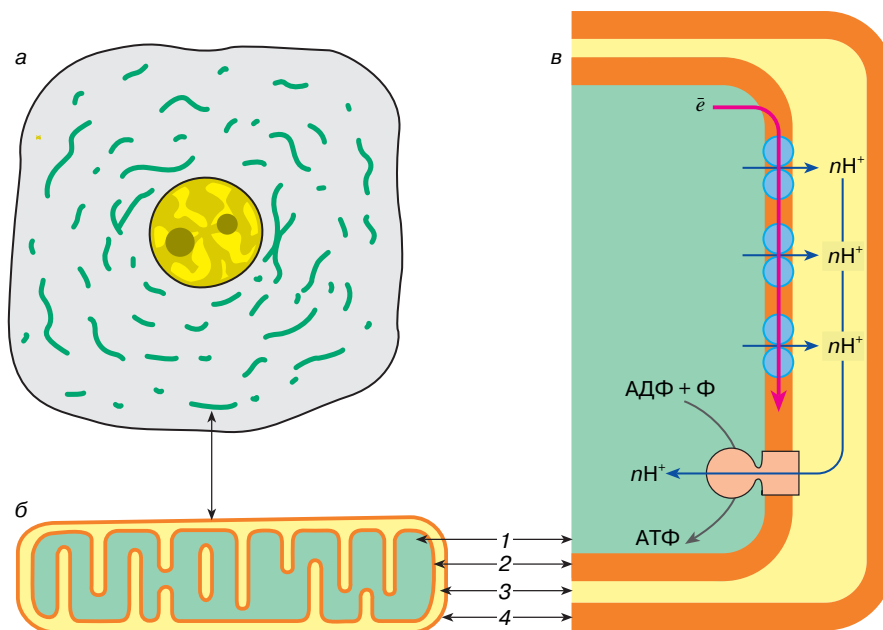


Рис. 1. Строение и работа митохондрий: *а* – митохондрии (указаны стрелкой), видимые в световом микроскопе; *б* – ультраструктура митохондрий: 1 – митохондриальный матрикс, 2 – внутренняя митохондриальная мембрана, 3 – межмембранное пространство, 4 – внешняя митохондриальная мембрана; *в* – общая схема функционирования митохондрий: при переносе электронов в цепи окисления в межмембранном пространстве накапливаются протоны и при достижении определенного потенциала возвращаются в матрикс; энергия этого потенциала тратится на синтез АТФ

постоянна (около 0,5 мкм), а длина колеблется, достигая у нитчатых форм 7–60 мкм.

Митохондрии независимо от их величины и формы имеют универсальное строение, их ультраструктура однообразна. Митохондрии ограничены двумя мембранами (рис. 1, *б*). Наружная митохондриальная мембрана отделяет ее от остальной цитоплазмы. Ее толщина около 7 нм, она не бывает связана ни с какими другими мембранами цитоплазмы и замкнута сама на себя, так что представляет собой мембранный мешок. Наружную мембрану от внутренней отделяет межмембранное пространство шириной около 10–20 нм. Внутренняя мембрана (толщиной около 7 нм) ограничивает собственно внутреннее содержимое митохондрии, ее матрикс или митоплазму. Характерной чертой внутренних мембран митохондрий является их способность образовывать многочисленные выпячивания внутрь митохондрий. Такие выпячивания (кristы) чаще всего имеют вид плоских гребней.

Митохондрии осуществляют синтез АТФ, происходящий в результате процессов окисления органических субстратов и фосфорилирования АДФ. В клетках процессы окисления и выделения энергии, освобождающейся в результате этого процесса, проходят в несколько взаимосвязанных этапов. При этом в качестве начальных субстратов используются различные углеводы, жирные кислоты, аминокислоты. Начальные этапы окисления углеводов происходят в гиалоплазме и не требуют участия

кислорода. Поэтому они называются анаэробным окислением, или гликолизом. В процессе гликолиза происходит неполное окисление субстрата. Так, например, глюкоза распадается до триоз, при этом тратятся две молекулы АТФ и синтезируются четыре молекулы АТФ. Так что в конечном результате клетка “зарабатывает” всего две молекулы АТФ. Образовавшиеся в результате гликолиза триозы, и в первую очередь пировиноградная кислота, вовлекаются в дальнейшее окисление, происходящее уже в самих митохондриях. При этом используется энергия расщепления всех химических связей, что приводит к выделению CO_2 , потреблению кислорода и синтезу большого количества АТФ. Эти процессы связаны с окислительным циклом трикарбоновых кислот и дыхательной цепью переноса электронов, где происходят фосфорилирование АДФ и синтез клеточного “топлива” – молекул АТФ. В цикле трикарбоновых кислот электроны, освобожденные при окислении, переносятся на акцепторные молекулы коферментов (НАД-никотинамид, аденидинуклеотид), которые вовлекают их далее в цепь переноса электронов. Эти события внутри митохондрий происходят в их матриксе. Остальные реакции, связанные с дальнейшим переносом электронов и синтезом АТФ, связаны с внутренней митохондриальной мембраной, с кристами митохондрий. Освободившиеся в процессе окисления в цикле трикарбоновых кислот электроны, акцептированные на коферментах, переносятся затем в дыхательную

цепь (цепь переноса электронов), где они соединяются с молекулярным кислородом, образуя молекулы воды. Дыхательная цепь представляет собой ряд белковых комплексов, встроенных во внутреннюю митохондриальную мембрану, и является главной системой превращения энергии в митохондриях. Здесь происходят последовательное окисление и восстановление элементов дыхательной цепи, в результате чего высвобождается небольшими порциями энергия. За счет этой энергии в трех точках цепи из АДФ и фосфата образуется АТФ. Поэтому говорят, что окисление (перенос электронов) сопряжено с фосфорилированием ($\text{АДФ} + \text{Фн} \rightarrow \text{АТФ}$), то есть происходит процесс окислительного фосфорилирования.

При переносе электронов в митохондриальной мембране каждый комплекс дыхательной цепи направляет свободную энергию окисления на перемещение протонов (положительных зарядов) через мембрану, из матрикса в межмембранное пространство, что приводит к образованию разности потенциалов на мембране: положительные заряды преобладают в межмембранном пространстве, а отрицательные — со стороны матрикса митохондрий. При достижении определенной разности потенциалов (220 мВ) белковый комплекс АТФ-синтазы начинает транспортировать протоны обратно в матрикс, при этом превращает одну форму энергии в другую: образует АТФ из АДФ и неорганического фосфата. Так происходит сопряжение окислительных процессов с синтетическим — с фосфорилированием АДФ. Пока происходит окисление субстратов, пока происходит перекачка протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану — идет

сопряженный с этим синтез АТФ, то есть окислительное фосфорилирование (рис. 1, в).

Так работает отдельно взятая митохондрия. Возникает вопрос, как же в клетке работают все митохондрии в их совокупности, происходят ли какое-либо их объединение или специализация митохондрий для обеспечения синтеза АТФ в различных, иногда далеко отстоящих друг от друга участках клетки. Другими словами, каковы взаимные связи митохондрий в клеточном хондриоме.

ХОНДРИОМ

Итак, хондриом — это совокупность всех митохондрий в одной клетке. Оказалось, что такая совокупность может быть различной в зависимости от типа клеток. Так, во многих клетках хондриом представлен разрозненными многочисленными митохондриями, разбросанными довольно равномерно по всей цитоплазме, как, например, во многих недифференцированных клетках (рис. 2, а). В других случаях отдельные митохондрии локализуются группами в местах интенсивной траты АТФ, как, например, в базальных участках клеток, извитых канальцев почки, или в клетках анализаторов сетчатки (рис. 2, б). В обоих случаях митохондрии функционируют поодиночке, их кооперативная работа, возможно, координируется какими-то сигналами из цитоплазмы. Однако существует и совершенно иной тип хондриома, когда вместо мелких одиночных разрозненных митохондрий в клетке располагается одна гигантская разветвленная митохондрия (рис. 2, в). Такие митохондрии часто встречаются у одноклеточных зеленых водорослей (например, у *Chlorella*). В этих случаях мы видим не

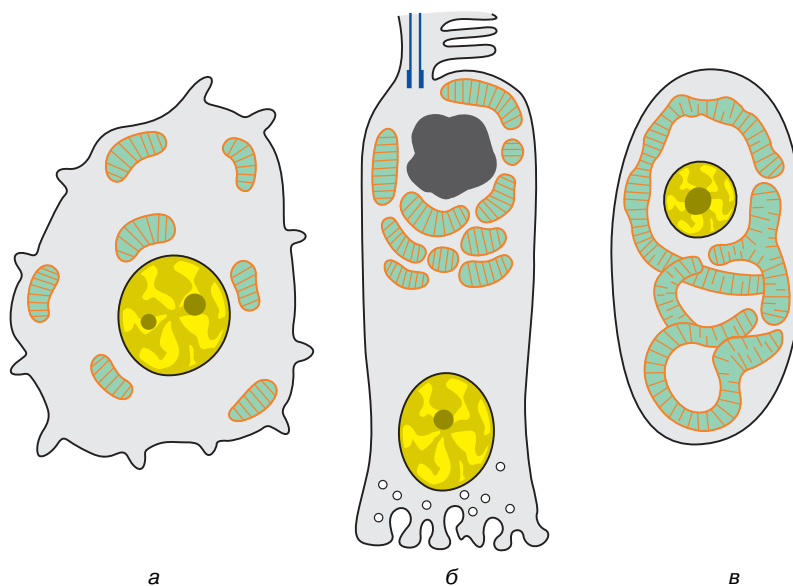


Рис. 2. Различные формы хондриома: а — разрозненные митохондрии, б — группа митохондрий в клетках сетчатки, в — митохондриальный ретикулум одноклеточной водоросли хлореллы

отдельные митохондрии, а сложную митохондриальную систему, сеть или митохондриальный ретикулум (Reticulum mitochondriale). Каков биологический смысл появления такой гигантской разветвленной митохондриальной структуры, объединенной в одно целое своими внешними и внутренними мембранами? Согласно хемоосмотической теории, возникший на поверхности внутренней мембраны электрохимический протонный градиент равномерно распределяется по поверхности внутренней мембраны митохондрий, она эквипотенциальна в любой своей точке (см. рис. 1, *в*). Поэтому в любой точке поверхности внутренней мембраны такой разветвленной митохондрии может идти синтез АТФ. Последний будет поступать в любую точку цитоплазмы, где в этом есть необходимость, то есть в этом случае такие разветвленные митохондрии могут представлять собой “электрические кабели”.

То, что это действительно возможно, доказано экспериментально. Были выбраны растущие в культуре ткани фибробласты, в цитоплазме которых имеются длинные нитчатые митохондрии, достигающие длиной 60 мкм. В живых клетках их можно наблюдать в люминесцентном микроскопе с помощью флуорохрома родамина 123, который накапливается в матриксе только работающих, синтезирующих АТФ митохондрий. Если снять разность потенциалов на внутренней мембране митохондрий, воздействуя на клетки динитрофенолом, то свечение родамина 123 в митохондриях прекращается параллельно падению синтеза АТФ. Это наблюдение показывает, что родамин 123 как протонный краситель накапливается в матриксе митохондрий только тогда, когда есть разность потенциалов на внутренней мембране митохондрий, то есть когда происходит синтез АТФ. Но динитрофенол, встраиваясь в мембраны, создает “пробой” на всех митохондриях данной клетки. А как “выключить” одну митохондрию? Для этого используется лазерный или ультрафиолетовый микролуч, который можно точно направить на избранную экспериментатором митохондрию. Делается это с помощью специальной оптической системы, которая позволяет одновременно рассматривать объект (в данном случае живые клетки с окрашенными родамином митохондриями) и навести на избранную деталь тонкий пучок лазера или ультрафиолетового света. При облучении отдельной митохондрии в ней происходит гашение флуоресценции родамина из-за того, что в результате пробоя внутренней мембраны митохондрии разность потенциалов на ней падает и родамин как бы вытекает из матрикса митохондрии. При этом соседние митохондрии не меняют своего свечения и продолжают синтез АТФ. Что же произойдет, если облучить небольшой участок разветвленной или же очень длинной митохондрии?

В эксперименте одна из протяженных светящихся митохондрий фибробласта была локально поражена узким (0,5 мкм) микролучом оптического

лазера. В результате этого вся длинная митохондрия потухла, в то время как соседние оставались без изменений (рис. 3). Поражение микролучом участков свободной от митохондрий цитоплазмы не приводило к тушению митохондрий. Это говорит о том, что точечный пробой мембран митохондрий приводит к снятию разности потенциала не только в точке пробоя, но и по всей длине митохондрии, которая представляет собой проводник с эквипотенциальной поверхностью. Следовательно, такие длинные нитчатые митохондрии фибробластов могут представлять собой электрические проводники, могущие передавать разность потенциалов на митохондриальных мембранах на большие расстояния и кооперировать удаленные участки цитоплазмы. Это

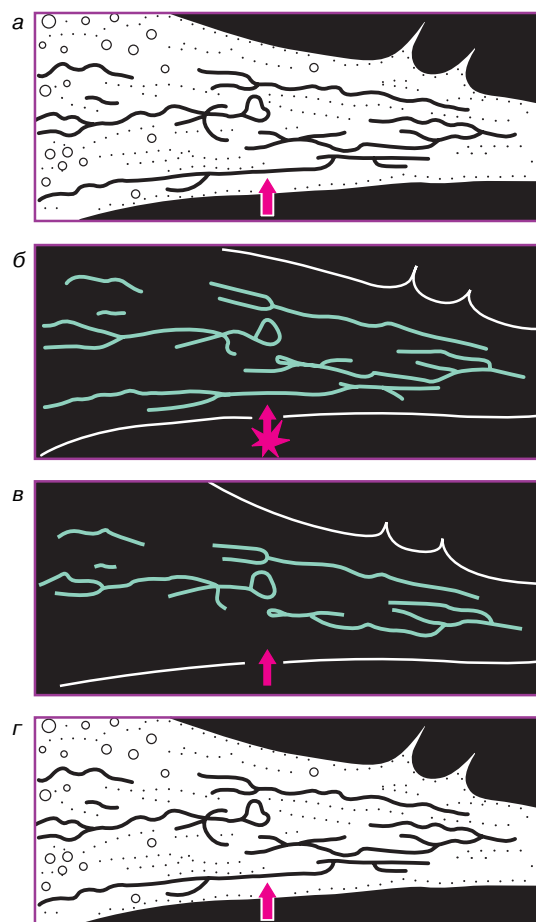


Рис. 3. Локальное повреждение нитчатой митохондрии фибробласта микролучом приводит к деэнергизации всей митохондрии: *а* – вид митохондрий в фазовом контрасте до эксперимента, *б* – флуоресценция родамина в митохондриях этого же участка клетки (стрелка указывает на место лазерного укола), *в* – тот же участок клетки после локального облучения митохондрии: поврежденная митохондрия потеряла флуоресценцию по всей своей длине, *г* – этот же участок в фазовом контрасте

значит, что и в случае гигантских разветвленных митохондрий в любой ее точке на внутренней мембране может накопиться потенциал, достаточный для того, чтобы начался синтез АТФ. С этих позиций митохондриальный ретикулум представляет собой как бы электрический проводник, кабель, соединяющий отдаленные точки такой системы. Митохондриальный ретикулум может оказаться очень полезным не только для мелких подвижных клеток, таких, как хлорелла, но и для более крупных, там, где требуются кооперация и синхронизация в работе многих структурных единиц, таких, как, например, миофибриллы в скелетных мышцах.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ РЕТИКУЛУМ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

Как известно, скелетные мышцы состоят из массы мышечных волокон — симпластов, содержащих множество ядер. Длина таких мышечных волокон достигает 40 мм при толщине 0,1 мм — это гигантская структура, содержащая великое множество миофибрилл, которые сокращаются одновременно и синхронно. Для такого сокращения к каждой единице сокращения, к каждому саркомеру миофибрилл должно быть доставлено большое количество АТФ. На продольных ультратонких срезах скелетных мышц в электронном микроскопе видны многочисленные округлые мелкие сечения митохондрий, располагающихся в соседстве с саркомерами (рис. 4, а). Если же исследовать поперечные срезы мышечных волокон на уровне z-дисков, то видно, что мышечные митохондрии представляют собой не мелкие шарики или палочки, а как бы паукообразные структуры, отростки которых могут ветвиться и простираются на большие расстояния, иногда через весь поперечник мышечного волокна (рис. 4, б). При этом разветвления митохондрий окружают каждую миофибриллу в мышечном волокне, снабжая их АТФ, необходимым для мышечного сокращения. Следовательно, митохондрии в z-диске представлены типичным митохондриальным ретикулумом — единой митохондриальной системой. Такой пласт или этаж митохондриального ретикулума повторяется дважды на каждый саркомер, а все мышечное волокно имеет тысячи поперечно расположенных “этажных” пластов митохондриального ретикулума. Было обнаружено, что между “этажами” вдоль миофибрилл располагаются нитчатые митохондрии, соединяющие эти митохондриальные пласты. Тем самым создается трехмерная картина митохондриального ретикулума, проходящего через весь объем мышечного волокна.

Между ответвлениями митохондриального ретикулума, так же как и между ним и нитевидными продольными митохондриями, существуют специальные межмитохондриальные соединения или контакты (ММК). Они образованы плотно прилегающими наружными митохондриальными мембранами контактирующих митохондрий, межмем-

бранное пространство и мембраны в этой зоне имеют повышенную электронную плотность (рис. 4, в). Было сделано предположение, что с помощью этих специальных образований может происходить функциональное объединение соседних митохондрий и митохондриальных ретикулумов в единую, кооперативную энергетическую систему. Все миофибриллы в мышечном волокне сокращаются синхронно по всей их длине, следовательно, и поступление АТФ на любом участке этой сложной машины тоже должно происходить синхронно, а это может быть лишь в том случае, если огромное количество разветвленных митохондрий-проводников будет связано друг с другом клеммами-контактами (ММК).

Доказать то, что ММК действительно участвуют в энергетическом объединении митохондрий друг с другом, удалось на другом типе поперечно-исчерченных мышц — на кардиомиоцитах, клетках сердечных мышц.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЦЕПИ КАРДИОМИОЦИТОВ

Оказалось, что хондриом клеток сердечной мышцы не образует ветвящихся структур, а представлен множеством небольших вытянутых митохондрий, располагающихся без особого порядка между миофибриллами. Однако было найдено, что все соседние митохондрии стыкуются друг с другом с помощью митохондриальных контактов такого же типа, как в скелетной мышце, только их число очень велико: в среднем на одну митохондрию приходится 2–3 ММК, которые связывают митохондрии в трехмерную цепь, где каждым звеном такой цепи (*Streptio mitochondriale*) является отдельная митохондрия (рис. 5, а).

Такой тип хондриома также может служить целям синхронного сокращения всех саркомеров в миофибриллах кардиомиоцитов. Для такой кооперативной координации митохондрий должны служить множественные межмитохондриальные контакты. Для доказательства этой гипотезы были использованы кардиомиоциты эмбрионов крысы в культуре ткани. Эти клетки имеют гетерогенные по размерам и форме митохондрии, расположенные между миофибриллами. В электронном микроскопе было обнаружено, что между некоторыми митохондриями были видны ММК, объединяющие их в небольшие группы — кластеры. В дальнейшем были проведены эксперименты, аналогичные тем, которые были сделаны на культуре фибробластов: митохондрии живых кардиомиоцитов окрашивали родамином 123, а затем одну из митохондрий в группе облучали лазерным микропучком. Облучение одиночных митохондрий приводило к быстрому их гашению. В одних случаях гасла только облученная митохондрия, в других теряла люминесценцию вся группа митохондрий (рис. 5, б). Электронная микроскопия показала, что в последнем случае митохондрии в кластере были связаны друг с другом с

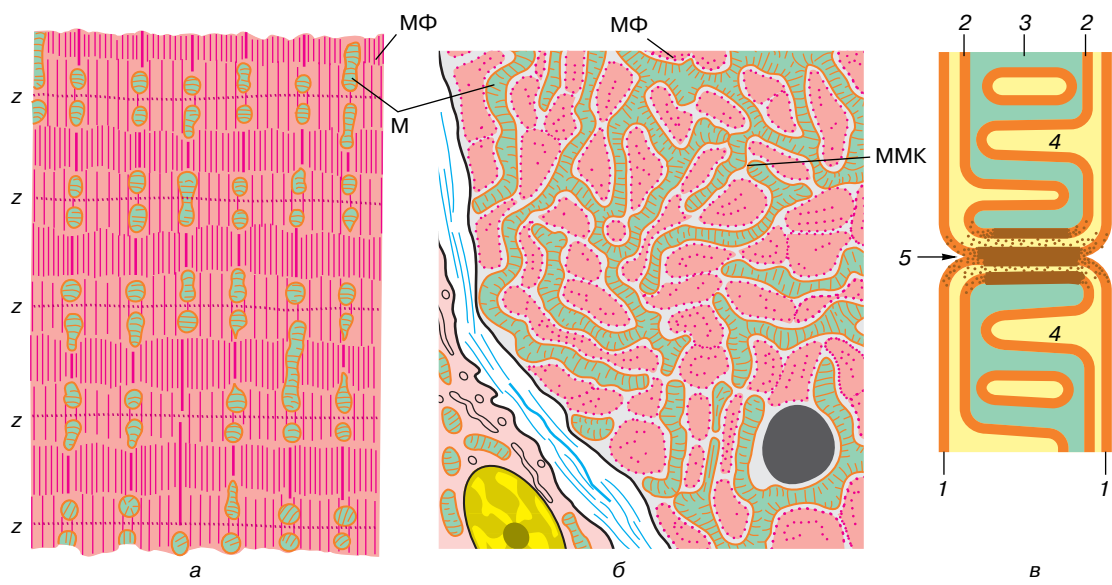


Рис. 4. Митохондриальный ретикулум в поперечнополосатой скелетной мышце: а – на продольном сечении мышечного волокна видны мелкие сечения митохондрий; б – на поперечном сечении митохондрии (М) имеют вид разветвленных сложных сетей; МФ – миофибриллы, ММК межмитохондриальный контакт; в – схема строения ММК: 1 – внешняя митохондриальная мембрана, 2 – внутренняя межмитохондриальная мембрана, 3 – матрикс митохондрии, 4 – межмембранное пространство, 5 – межмитохондриальный контакт

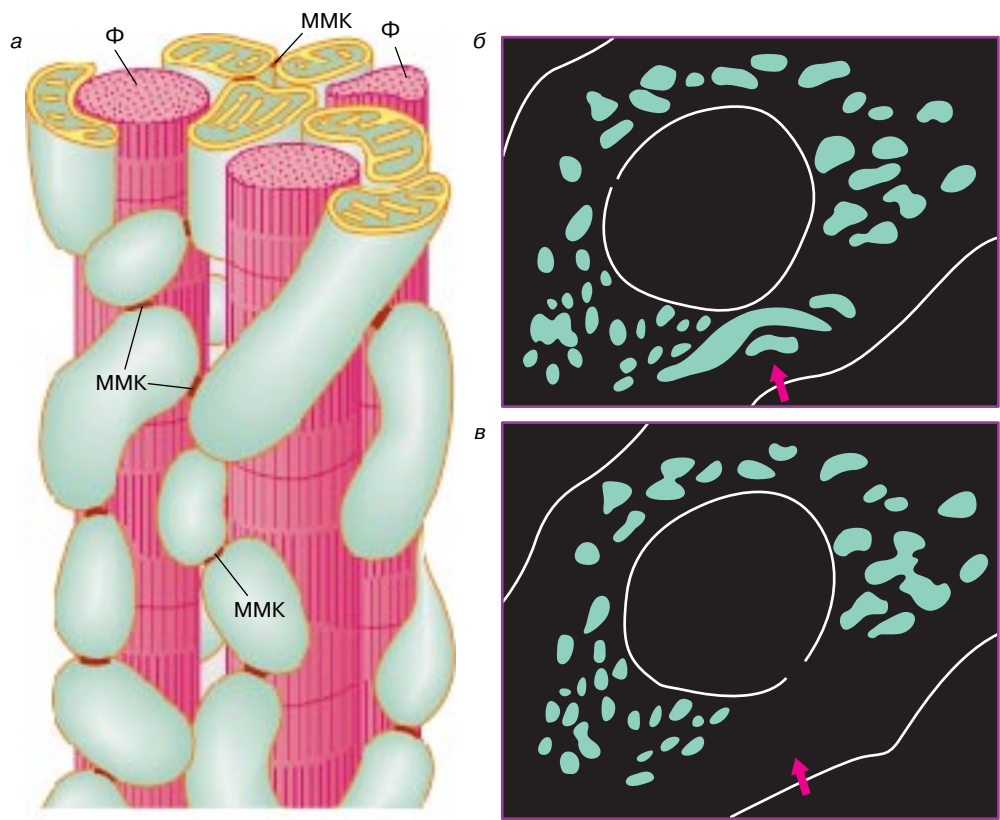


Рис. 5. Митохондриальная система кардиомиоцитов: а – схема расположения митохондрии и миофибрилл (Ф); ММК – межмитохондриальные контакты; б – флуоресцирующие митохондрии в изолированном кардиомиоците, стрелкой указана одна из митохондрий перед облучением, в – та же клетка после облучения: погасла группа митохондрий, связанных друг с другом с помощью ММК

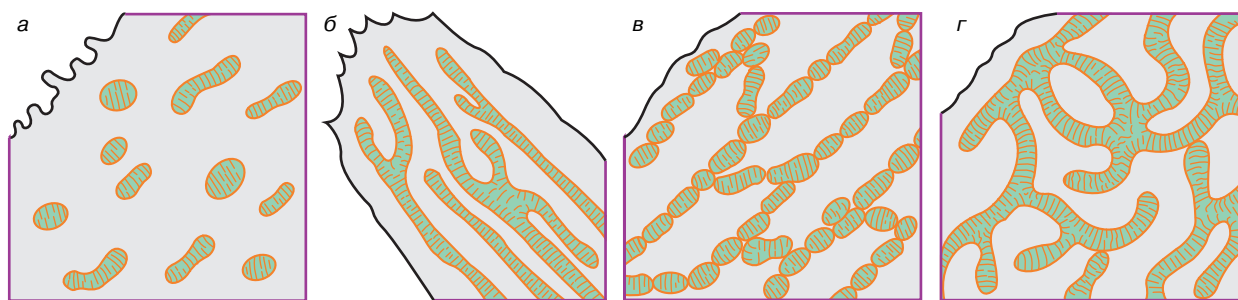


Рис. 6. Различные типы организации хондриома: а – разрозненные митохондрии, б – нитчатые митохондрии, в – цепочки соединенных митохондрий кардиомиоцитов, г – митохондриальный ретикулум скелетных мышц

помощью ММК. Следовательно, если одиночные митохондрии теряют родамин 123 после лазерного укола вследствие электрического пробоя митохондриальной мембраны, то гашение группы митохондрий, связанных ММК, доказывает, что ММК как клеммы объединяют в единую цепь потенциалы одиночных митохондрий. По всей вероятности, области ММК проницаемы для протонов, которые могут передаваться с внутренней митохондриальной мембраны одной митохондрии на внутреннюю мембрану другой и тем самым объединять митохондрии в единую энергетическую систему.

Как оказалось, межмитохондриальные контакты как обязательная структура сердечных клеток встречаются не только у крыс. Они обнаружены в кардиомиоцитах как желудочков, так и предсердий всех позвоночных животных: млекопитающих, птиц, пресмыкающихся, амфибий и костистых рыб. Более того, ММК были обнаружены (но в меньшем числе) в клетках сердец некоторых насекомых и моллюсков. Эти наблюдения говорят о чрезвычайно важной биологической роли этих структур, характерных для митохондрий интенсивно и постоянно работающих клеток сердца.

Обнаружено, что количество ММК в кардиомиоцитах изменяется в зависимости от функциональной нагрузки сердца. Так, если у крыс вызвать экспериментально усиление работы сердечной мышцы, например при компенсаторной гипертрофии миокарда (частичная перевязка аорты), то количество ММК увеличивается почти вдвое. Увеличивается число ММК и при повышении физических нагрузок животных. Наоборот, при ограничении подвижности животных, находящихся в тесных камерах более четырех месяцев (как в космическом корабле), при падении нагрузки на сердечную мышцу происходит резкое сокращение числа ММК. Те же закономерности наблюдаются и у других животных в естественных условиях их жизни. Так, уменьшается число ММК у зимних спящих летучих мышей, у зимующих сурков. Резко возрастает число ММК в кардиомиоцитах летающих стрижей по сравнению с их птенцами до вылета из гнезда. Из этих наблюдений можно сделать обобщение: чем выше функциональная нагрузка на кардиомиоциты, тем выше

потребление энергии, тем большее количество ММК связывает отдельные митохондрии в единую кооперативную систему.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, хондриом клетки может иметь различную композицию в зависимости от энергетических потребностей клетки. В простейшем (и чаще встречающемся) случае он может быть представлен множеством разрозненных небольших митохондрий, функционирующих независимо друг от друга и снабжающих АТФ небольшие участки цитоплазмы (рис. 6, а). В другом случае (рис. 6, б) длинные и разветвленные митохондрии могут энергетически обеспечивать отдаленные друг от друга участки клетки. Вариантом такой протяженной системы может быть хондриом типа митохондриального ретикулума, который встречается как у одноклеточных, так и у многоклеточных организмов. Особенно сложно этот вид хондриома выражен в скелетных мышцах млекопитающих, где группы гигантских разветвленных митохондрий связаны друг с другом с помощью ММК (рис. 6, в). Вообще же наличие ММК характерно для хондриомов сократимых структур. Особенно обильно ММК представлены в клетках сердечных мышц, где они функционально связывают множественные отдельные митохондрии в единую разветвленную цепь (рис. 6, г).

ЛИТЕРАТУРА

1. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М., 1989.
2. Бакеева Л.Е., Ченцов Ю.С. Митохондриальный ретикулум: Строение и некоторые функции // Итоги науки. Общие проблемы биологии. 1989.
3. Ченцов Ю.С. Общая цитология. М.: Изд-во МГУ, 1995.

* * *

Юрий Сергеевич Ченцов, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой цитологии и гистологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов – биология клетки. Автор более 200 печатных работ по изучению ультраструктуры клеточного ядра, хромосом, митоза, митохондрий.