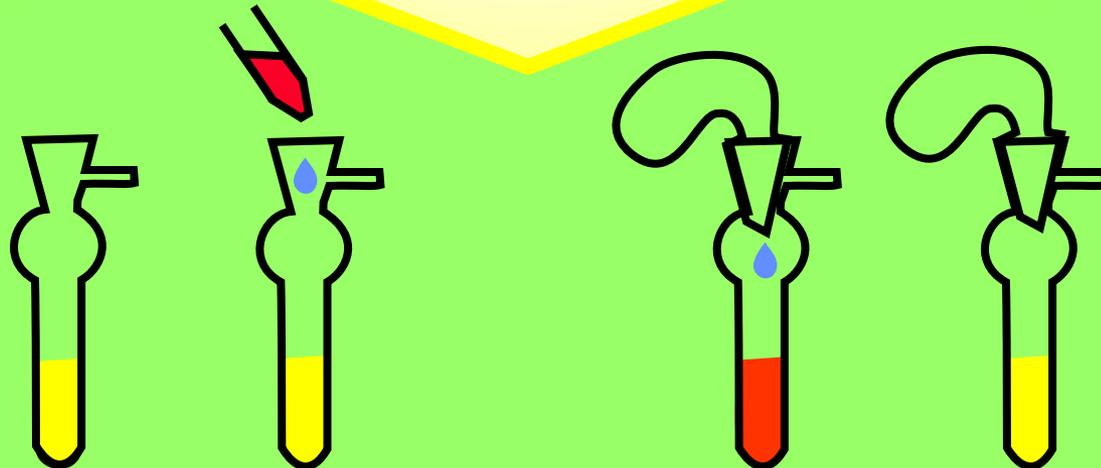
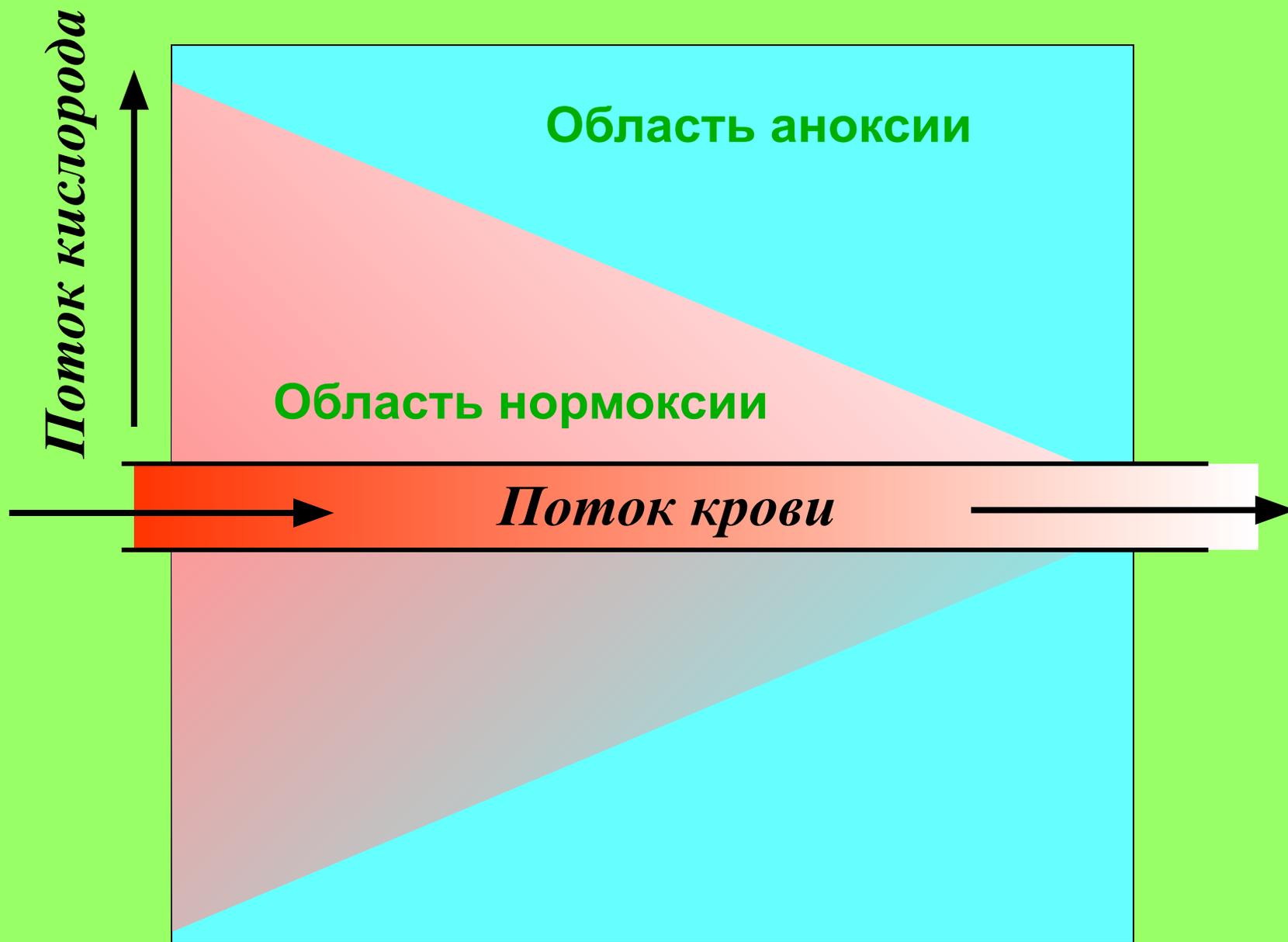


# Мембранные механизмы патологии клетки

Моделирование  
гипоксического  
повреждения



# Кислородный конус в участке ткани



# Условие повреждения митохондрий

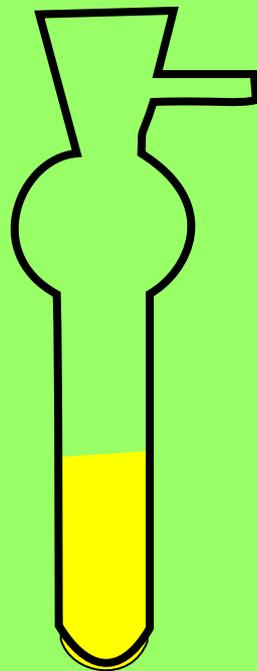
20 мин инкубации при 37°C

- Ca<sup>2+</sup> + O<sub>2</sub>

+ Ca<sup>2+</sup> + O<sub>2</sub>

+ Ca<sup>2+</sup> - O<sub>2</sub>

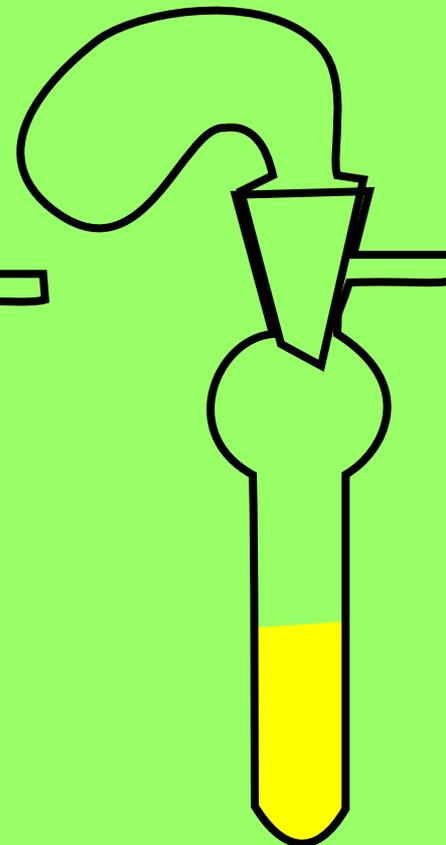
- Ca<sup>2+</sup> - O<sub>2</sub>



Митохондрии интактны



Митохондрии повреждены



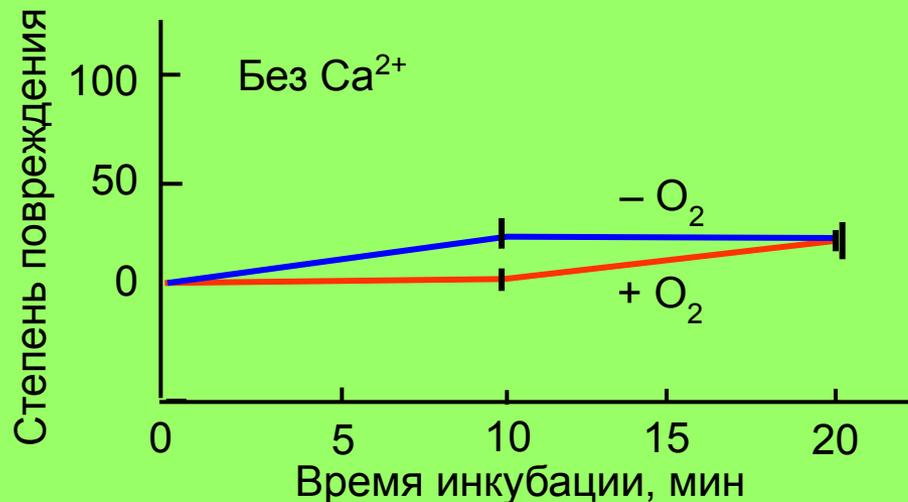
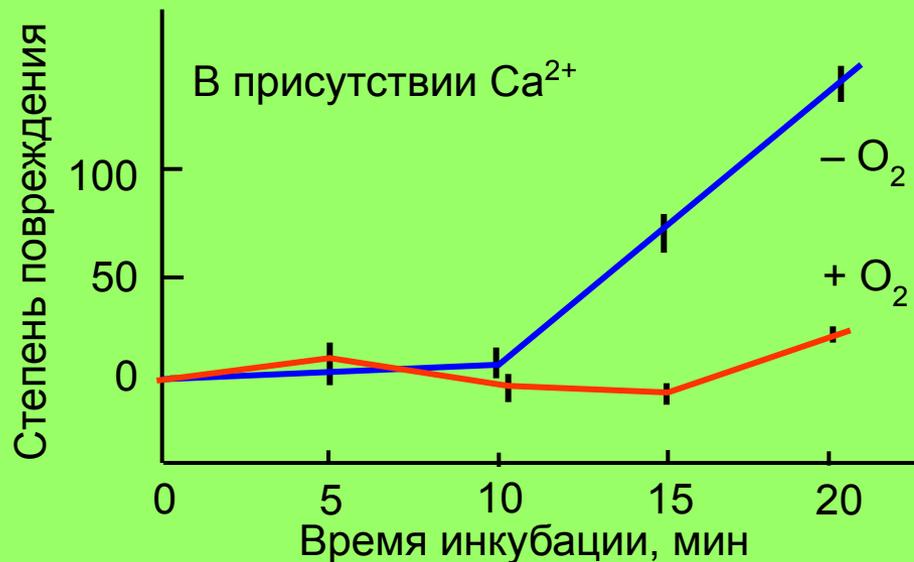
интактны

# Условия повреждения выделенных митохондрий

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

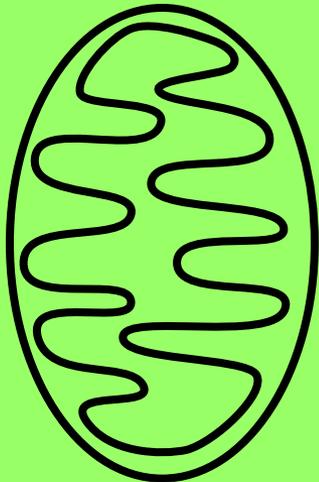
Степень повреждения

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

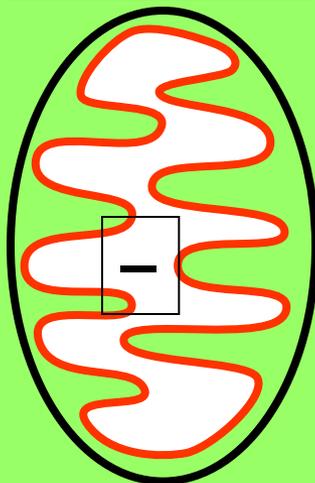


# Почему митохондрии повреждаются ионами $\text{Ca}^{2+}$ в анаэробных условиях?

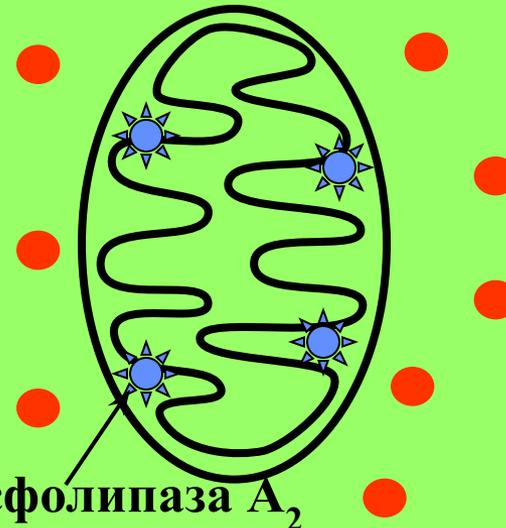
А  $-\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



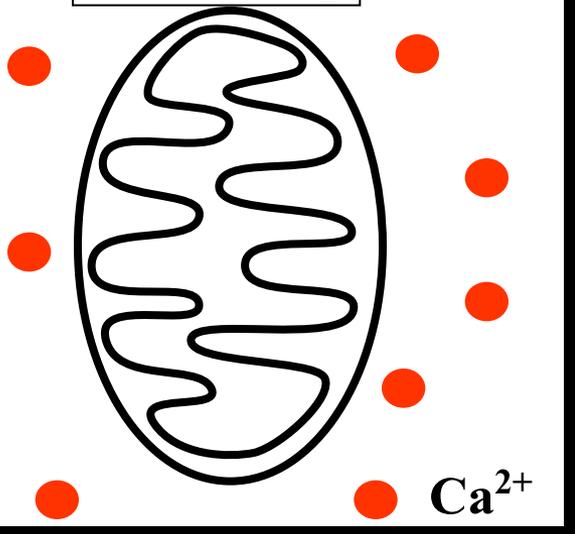
Б  $-\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$



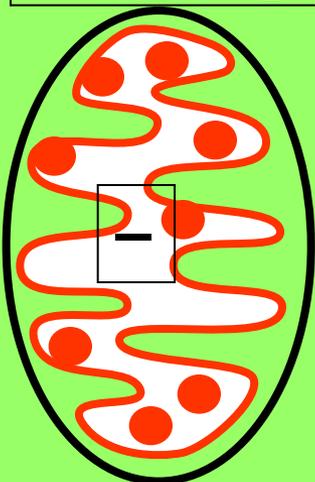
Д  $+\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



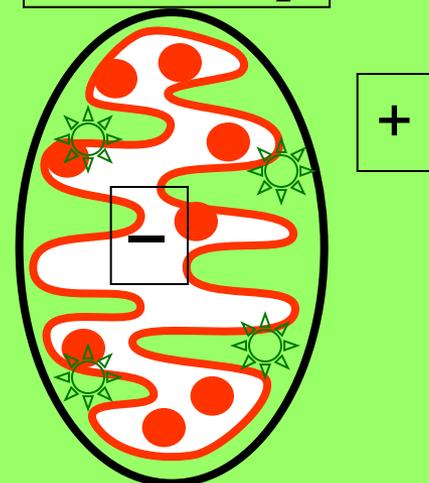
В  $+\text{Ca}^{2+} - \text{O}_2$



Г  $+\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$

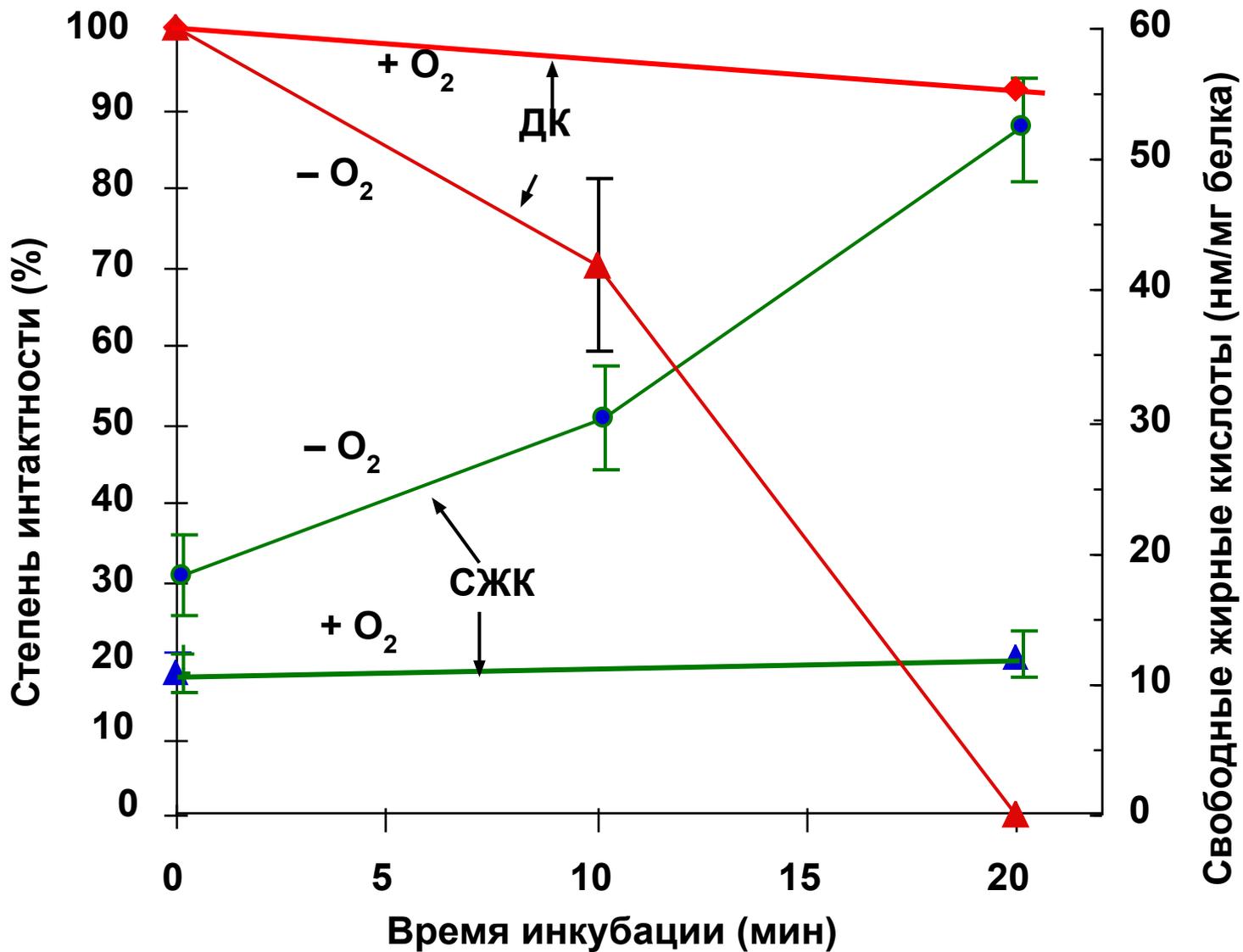


Г  $+\text{Ca}^{2+} + \text{O}_2$

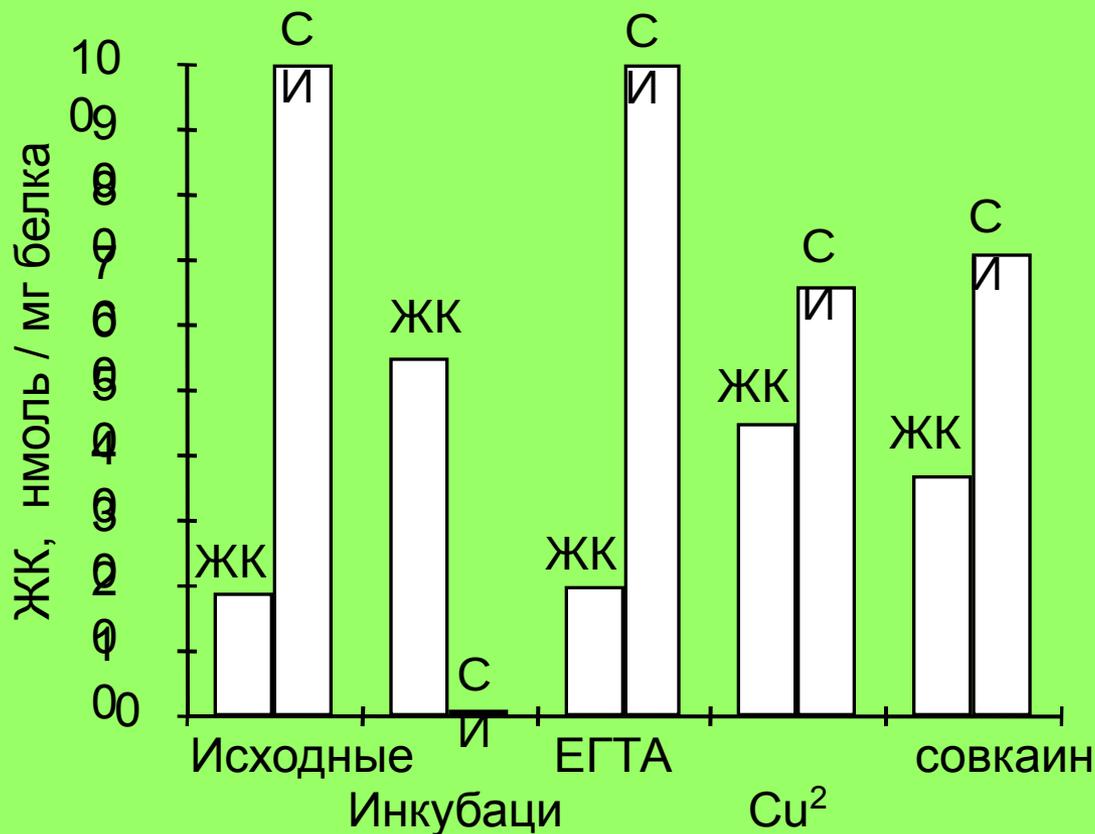


Фосфолипаза  $\text{A}_2$

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



# Влияние ингибиторов фосфолипазы A<sub>2</sub> на накопление СЖК и инактивность митохондрий (СИ)

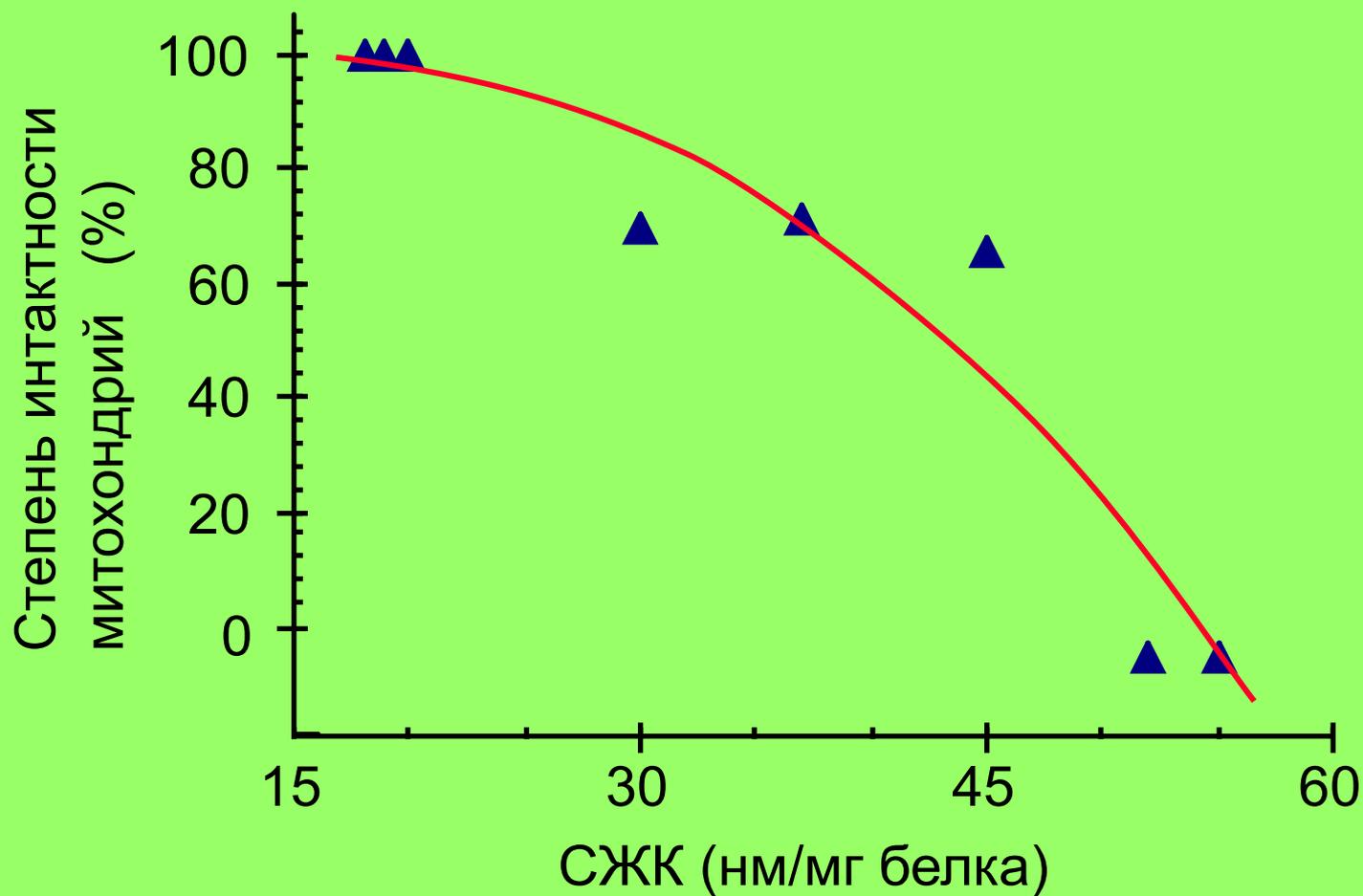


Митохондрии печени крысы инкубировались 20 мин в отсутствие кислорода воздуха, но в присутствии 35 мкМ CaCl<sub>2</sub> (Инкубация). Там, где указано, к пробам добавляли ингибиторы фосфолипазы A<sub>2</sub>: 1 мМ ЕГТА, 1 мкМ Cu<sup>2+</sup> или 20 мкМ местного анестетика совкаина.

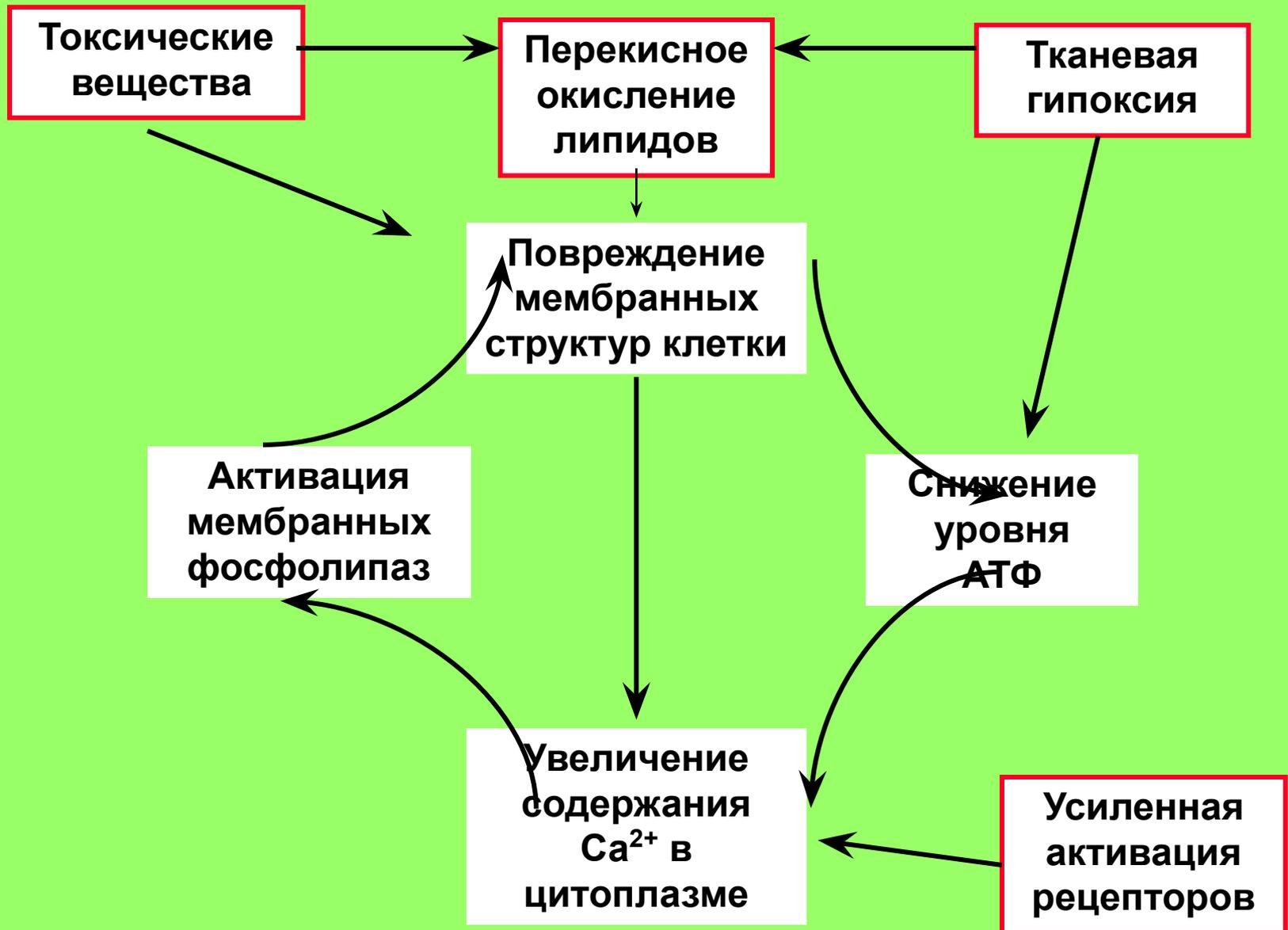
# Влияние ингибиторов фосфолипазы $A_2$ на накопление $Ca^{2+}$ и интактность митохондрий



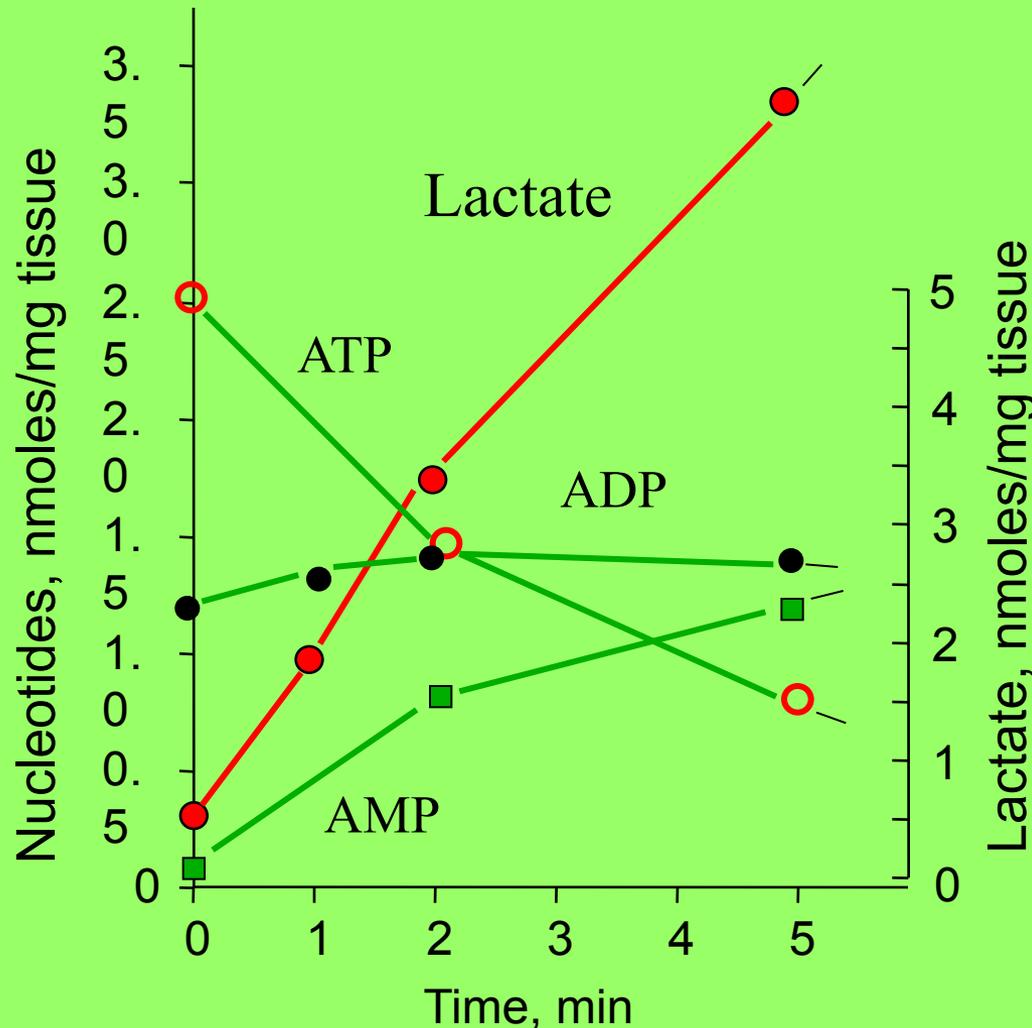
# Корреляция между содержанием СЖК и интактностью митохондрий



# Порочный круг в патологии клетки



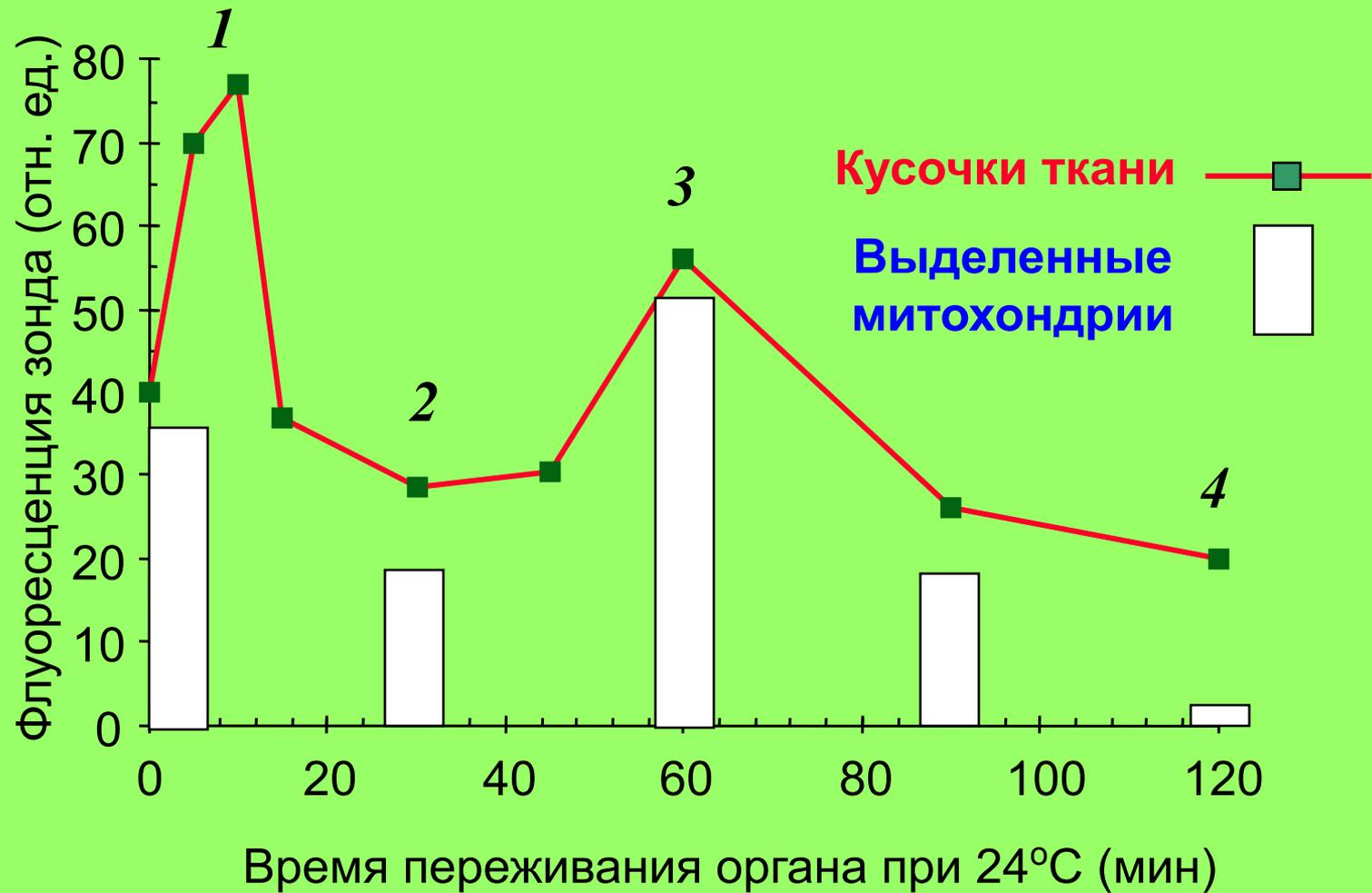
# Быстрый расход АТФ в переживающей печени (Hems Brosnam)



Rapid exhaustion of ATP in survived liver (Hems Brosnam)

По абсциссе отложено время после прекращения доступа кислорода, по ординатам - концентрации АТФ, АДФ (слева) и лактата (справа).

# Изменение количества $\text{Ca}^{2+}$ в митохондриях



## Последовательность нарушений в клетке при гипоксии

Последовательность изменений в клетке в результате прекращения доступа кислорода (аноксии) одинакова для самых различных тканей. Это показали опыты со срезами тканей, изолированными клетками и изолированными клеточными органеллами, в частности митохондриями. В печени, находящейся в условиях аноксии при комнатной температуре, последовательность событий такова:

- **0-5 мин** аноксии: снижение уровня АТФ в клетке в 2-4 раза, несмотря на активацию гликолиза;
- **5-15 мин**: появление  $\text{Ca}^{+2}$  в цитоплазме клетки. Активация гидролитических ферментов, в том числе фермента фосфолипазы  $\text{A}_2$  митохондрий. Содержание  $\text{Ca}^{+2}$  в митохондриях повышается, т. к. они еще не повреждены (стадия 1 на рис. 3).
- **15-30 мин**: гидролиз митохондриальных фосфолипидов фосфолипазой  $\text{A}_2$  и нарушение барьерных свойств митохондриальной мембраны. Реоксигенация ткани на этой стадии приводит к активному набуханию митохондрий. Дыхательный контроль в митохондриях нарушен, окислительное фосфорилирование разобщено, способность митохондрий накапливать ионы кальция снижена (стадия 2 на рис. 3).
- **30-60 мин**: частичное восстановление функций митохондрий, временное повышение дыхательного контроля, способности накапливать кальций. (стадия 3 на рис. 3) Механизм компенсаторных процессов, приводящих к временному улучшению функций митохондрий, неизвестен, но связан с функцией клетки в целом, так как при анаэробной инкубации изолированных митохондрий это явление не наблюдается;
- **более 90 мин**: необратимое повреждение митохондрий и полная гибель клеток (стадия 4 на рис. 3).

При температуре тела человека все эти процессы протекают примерно в два раза быстрее; кроме того, в разных тканях они протекают с разной скоростью: быстрее всего в мозге, медленнее – в печени, еще медленнее – в мышцах.

## *Порочный круг клеточной патологии*

Увеличение внутриклеточного содержания кальция и нарушение биоэнергетических функций митохондрий являются общими признаками для клеток, поврежденных в результате действия самых различных неблагоприятных факторов. Эти два события – не простое следствие других изменений в поврежденных клетках: они лежат **в основе нарушения** функций поврежденных клеток и могут рассматриваться как **главные звенья** в цепи событий, приводящих к развитию неспецифической реакции клеток на повреждение. Схематически, взаимоотношение между первичным повреждением клеточных структур, процессами биоэнергетики и содержанием кальция в цитоплазме приведены на **рис. 4**.

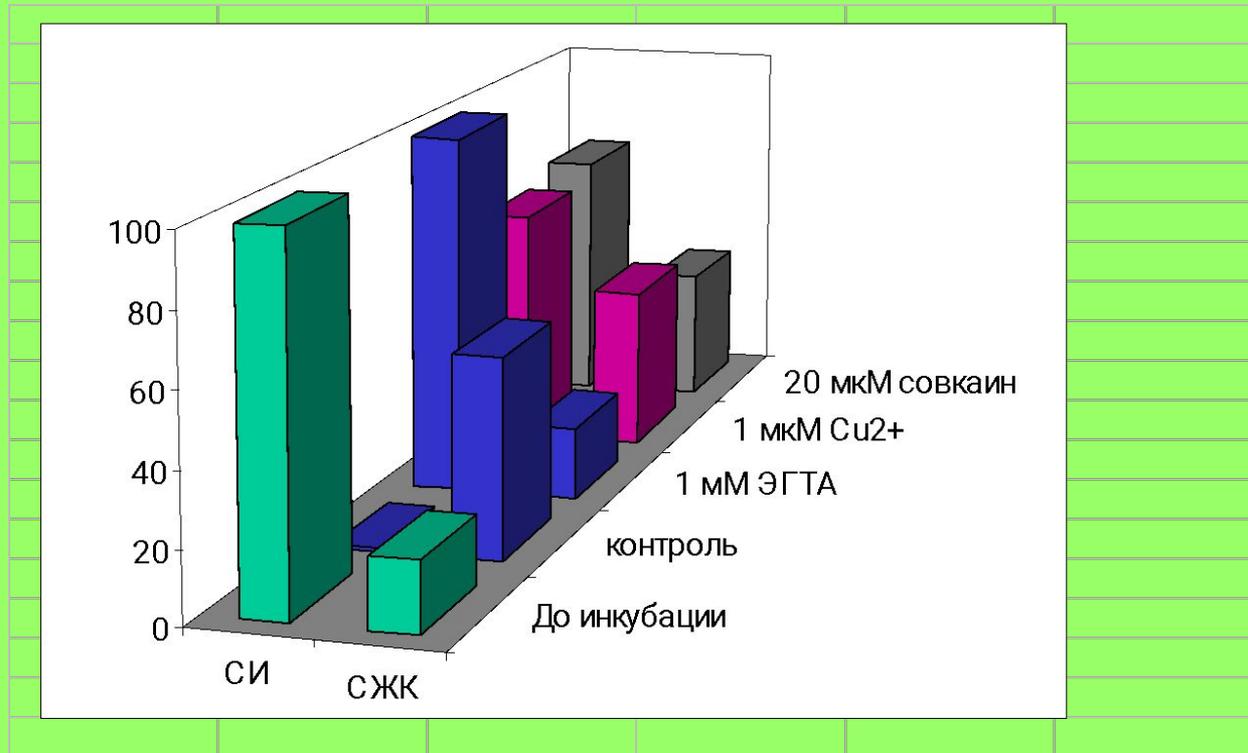
## **Порочный круг клеточной патологии**

Согласно этой схеме, **первичными мишенями** действия повреждающих агентов служат **мембранные структуры** клетки, в которых может подвергаться разрушению липидный бислой, рецепторы, белковые переносчики ионов и молекул (каналы), а также встроенные в мембраны ферменты, включая ионные насосы.

**Увеличение проницаемости мембран** и подавление работы **насосов**, непосредственное вызванное действием повреждающих факторов (токсических соединений, свободных радикалов и продуктов липидной пероксидации, недостаток источника энергии – АТФ), приводят к увеличению **концентрации натрия и кальция** в цитоплазме. Последнее сопровождается дисбалансом внутриклеточной регуляции и **активацией деструктивных ферментов**, таких как фосфолипаза  $A_2$  и эндонуклеазы.

Гидролиз фосфолипидов мембран **фосфолипазой** приводит к дальнейшему нарушению барьерных свойств липидного бислоя, что приводит к еще большему росту уровня кальция в цитоплазме, набуханию митохондрий и их дальнейшему повреждению. **Порочный круг замыкается** и клетка скорее всего погибнет.

# Влияние ингибиторов фосфолипазы $A_2$ на накопление $Ca^{2+}$ и итактность митохондрий



# Типичная кривая потребления кислорода митохондриями в различных состояниях

