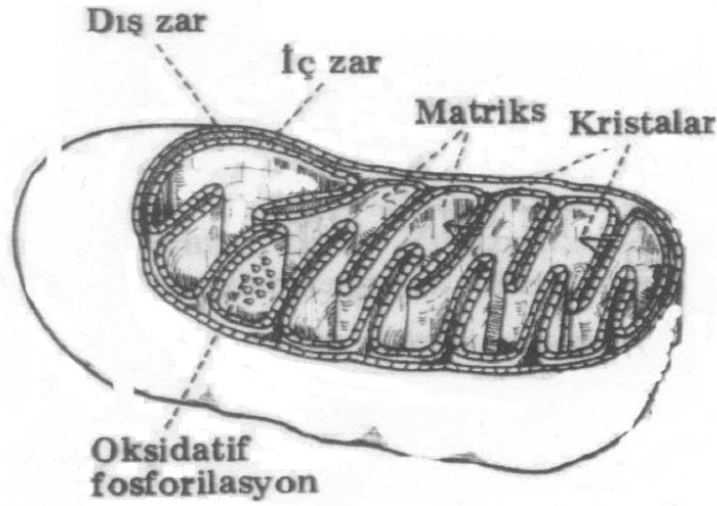


Mitokondri; Biyokimyası

*Uzm.Dr.Filiz KOÇ**
*Prof.Dr.Yakup SARICA**

Mitokondri, hemen bütün hücrelerin sitoplazmasında bulunan ve besin maddeleri ve oksijenden enerji üreten organellerdir. Hücre içindeki miktarları o hücrenin enerji ihtiyacı ile doğru orantılıdır. Bir hücrede bir kaç yüz mitokondri bulunabileceği gibi birkaç bin mitokondri de bulunabilir. Bu organellerin büyüklüğü ve şekli değişkenlik gösterir. Bunlar bir kaç yüz mikron çapında küresel yapılar olabilecekleri gibi, bir mikron çapında ipliksi görünümde de olabilirler. Mitokondrinin yapısına göz attığımızda; iki katlı iç ve dış membran, membranlar arası boşluk, matriksler ve kristalardan oluştuğunu görürüz^{1,2} (Şekil 1)



Şekil 1. Mitokondrinin yapısı¹.

*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, ADANA

- 1) Dış membran, özelleşmiş transport proteinlerden oluşur. Küçük moleküller için geçirgendir ve membranlar arasındaki boşluk bu moleküllerin geçişine engel olmaz. Bu zar KREBS çemberinde katalizör rolü oynayan monoamine oksidaz, sitokrom-c reduktaz enzimleri yanısıra fosfolipid ve fosforik asit sentezi için gerekli birçok enzime sahiptir.
- 2) İç membran, içeri doğru kıvrımlı şekiller oluşturur ve seçici geçirgenlik gösterir. Elektron transport zinciri enzimleri ve oksidatif fosforilasyona ait enzimler burada yerleşmiştir. Ayrıca ATP, ADP ve P₁, piruvat, süksinat, malat, sitrat ve α-ketoglutarat gibi özel maddeler için taşıma sistemine sahiptirler.
- 3) Matriks; jel kıvamında olup içinde erimiş birçok enzim bulunur. Bu enzimler, iç membranda yerleşmiş oksidatif enzimlerle işbirliği yaparak besinlerin CO₂ ve H₂O'ya çevrilmesine sonuçta "adenozin trifosfat" (ATP) adı verilen yüksek enerjili bir maddenin oluşumuna neden olurlar. İç membrana bağlı olan matrikste trikarboksilik asit döngüsü (TKA) ve yağ asitlerinin β-oksidasyonunda görev yapan enzimler rol oynarlar.
- 4) Mitokondrilerde hücre çekirdeğindeki benzeyen fakat tamamen aynı olmayan bir deoksiribonukleik asit (DNA) bulunmaktadır. Mitokondrial DNA mitokondrilerin çoğalmasında rol oynar.

Mitokondrinin hücre içinde bir çok görevi vardır. Bunlardan en önemlisi enerji üretmektir. Mitokondri ayrıca genetik hastalıklar, apoptozis yanısıra kalsiyum homeostezinde de rol oynar.

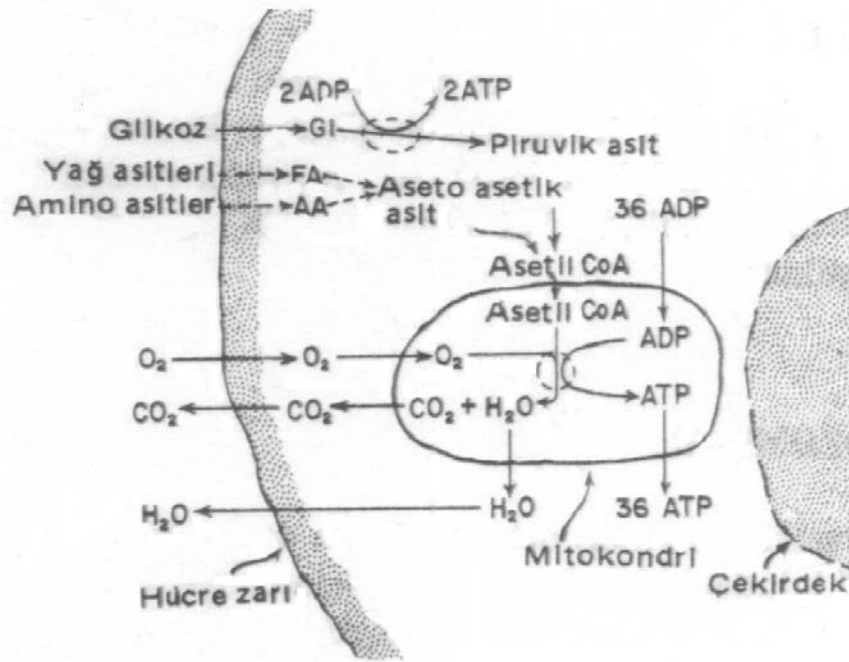
1. Enerji Üretmek

Mitokondrinin en önemli fonksiyonu (elektron transport zinciri) ETZ ve oksidatif fosforilasyonla (OXPHOS) enerji üretmektir. Aerobik hücrelerde değişik substratlardan alınan elektronların yükseltgenme ve indirgenme olayları ile oksijene taşındığı yola elektron transport zinciri adı verilir. Substratların çoğu bu yolu kullanır. Elektronların, elektron transport zincirinde taşınması sırasında oluşan enerjinin adenozin difosfat (ADP) ve inorganik

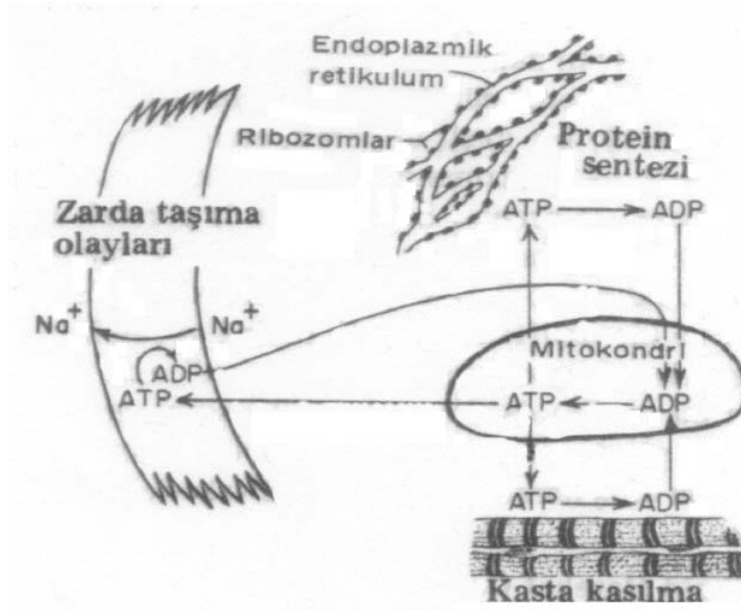
fosfor (Pi) ile birleşip ATP oluşturması olayına oksidatif fosforilasyon denir (Şekil 2,3). Mitokondri ile ilişkili hastalıkları anlamak için ETZ ve OXPHOS yolağının hatırlanması uygun olacaktır^{1,2,3,4} (Şekil 4,5,6)

Substratlardan geçen elektronlar, matriksten iç membran üzerindeki kompleks I, III, IV'te hidrojen iyonlarına (protonlar) enerji sağlar.

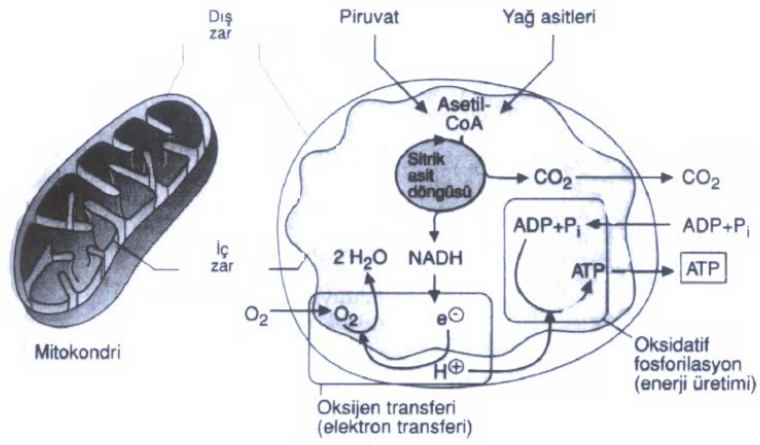
Kompleks I'de NADH-CoQ redüktaz, kompleks II'de Suksinat-CoQ redüktaz, kompleks III'de CoQ-sitokrom C redüktaz, kompleks IV'de sitokrom c oksidaz ve kompleks V'de ise ATP sentaz enzimi rol oynar (Şekil 7).



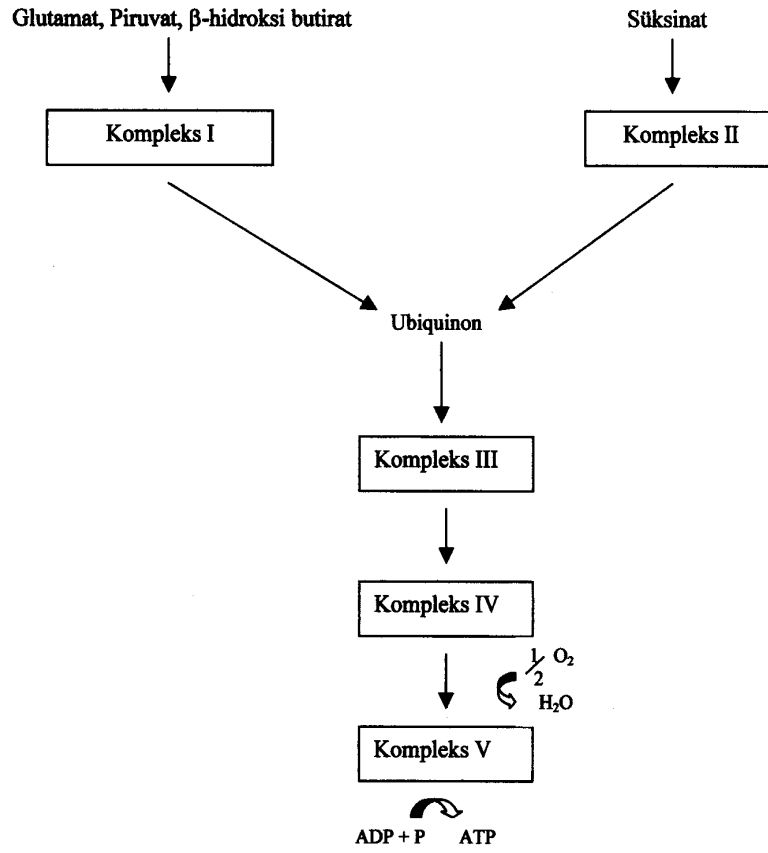
Şekil 2. Hücrede ATP yapımı¹.



Şekil 3. Hücrede adenosin trifosfat kullanımı ve bundan enerji kazanan başlıca üç hücresel fonksiyon¹.



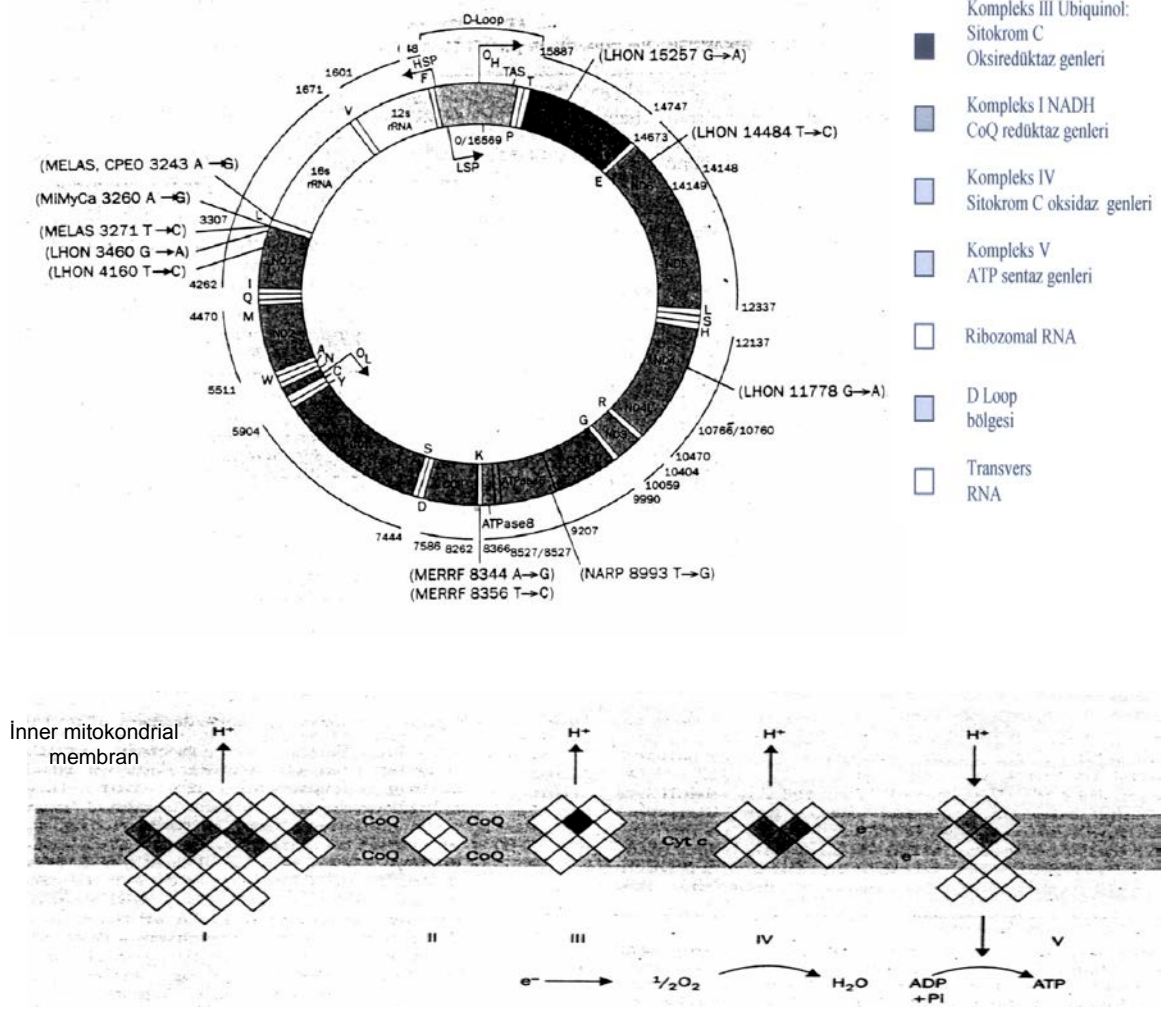
Şekil 4. Mitokondrideki temel olaylar.



Şekil 5. OXPHOS sisteminin fonksiyonel organizasyonu¹.

ETZ ve OXPHOS

Yolağın 5 multisubunit kompleksi (kompleks I-V) mitokondrinin iç membranında lokalizedir. İndirgeyen ekivalanlar (elektronlar) zincire farklı substratlardan geçer. Elektron kaynakları, indirgenmiş nikotinamid-adenin-dinükleotid (NADH) ve flavin-adenin dinükleotid (FAD) ile elde edilirler⁵.



Şekil 6. Mitochondrial DNA'nın yapısı ve OXPHOS kompleks subünitlerinin genetik derivasyonu.

1. İndirgenmiş (NADH),

- a. Trikarboksilik asit (TKA) döngüsündeki izositrat, α -ketoglutarat, piruvat ve malat dehidrogenaz,
- b. Yağ asidi oksidasyonu ile oluşan 3-hidroksi-açıl koenzim-A (CoA) dehidrogenaz,
- c. NAD^+ - bağlı diğer dehidrogenazlar ile,

2. İndirgenmiş (FADH_2) ise

- a. TCA döngüsündeki süksinat dehidrogenaz,
- b. α -gliserofosfat yolundaki FAD'e bağlı dehidrogenazlar,
- c. Yağ asidi oksidasyonundaki açıl CoA dehidrogenaz
FAD'e bağlı diğer dehidrogenazlardan elde edilir,

Kompleks I:

En geniş solunum zincir kompleksidir. 43 proteinden meydana gelir. Flavoprotein ve demir-kükürt protein (FeS-protein) ana subünitleri oluşturur. NADH'dan ubiquinona elektron transferinden sorumludur.

Kompleks II:

Bu kompleksde rol oynayan süksinat CoQ redüktaz süksinat dehidrogenazın flavin prostetik grubu ve FeS-protein merkezinden (üç farklı tip demir-sülfür kümeleri içerir) oluşur. Bu kompleks FADH_2 'den elektronların Q'ya taşınmasında rol oynar.

Kompleks III:

Sitokrom C1 (CYC1), ubiquinon bağlayan protein (UQPC), ubiquinol-sitokrom c redüktaz merkez protein II (UQCRC2) ve Fe-sülfür proteininden oluşan nükleer ve sitokrom b içeren mitokondrial subünitlerden oluşur. Ubikinolden sitokrom c'ye elektron transferinde rol oynar.

Kompleks IV:

Sitokrom c'den alınan elektronlar ise bu kompleksde rol oynayan sitokrom

a-a₃ veya sitokrom c oksidaz enzimi olarak da bilinen sitokrom kompleksinin bir bölümünü oluşturan sitokrom a'ya aktarılır.

Kompleks V:

Kompleks V'de ATP sentaz enzimi rol oynar. 150 mV'luk elektrokimyasal gradient kompleks V (ATPaz) yolu ile ATP oluşumunu sağlar.

Kompleks	I	II	III	IV	V
Enzim	NADH-CoQ Redüktaz	Suksinat-CoQ Redüktaz	CoQ-SitokromC Redüktaz	Sitokrom C Oksidaz	ATP Sentaz

Şekil: 7

Özetlenecek olursa;

Farklı substratlar, zincire farklı noktalardan giren indirgeyen elektronlar üreterek metabolize olur. Glutamat, piruvat, ve 3-hidroksibutirat kompleks I'de, süksinat kompleks II'de, yağ asitleri hem kompleks I (NADH) hem de ubiquinon (yalnızca Q olarak da adlandırılır) ile birleşik elektron-transfer proteininde metabolize olur. Ubiquinon, elektronları kompleks I ve II'den kompleks III'e geçirir. Kompleks III elektronları kompleks IV (sitokrom oksidaz-COX)'e geçiren sitokrom c'yi indirger. ATP kompleks V ile üretilir^{2,5} (Şekil 4,5).

II. Genetik

1960'lı yıllarda mitokondrial genetik sistemin (mitokondrial DNA = mtDNA) ve özel ribozomlarının keşfedilmesiyle mitokondrinin hem hücrel fonksiyonları hem de genetik olaylardaki rolü ayrıntıları ile irdelenmeye başlanmıştır. Diğer organellerin aksine mitokondri kendi DNA'sına sahiptir.

OXPPOS sistemi 83 polipeptide sahiptir. 70'i nükleer genler ile kodlanır. 13'ü mitokondrial matriksde bulunan ve nükleer DNA'dan yapısal ve fonksiyonel açılardan çok farklı özellikleri olan mtDNA tarafından kodlanır.

Sekansı 1981'de tanımlanan mtDNA 16569 çiftten oluşan sirküler çift-sarmallı moleküldür³. Genom, protein sentezi için 2 ribozomal RNA, 22 transfer RNA, ve 13 polipeptid kodlar (Şekil 3,4). Nükleer genlerden farklı olarak mtDNA'nın kod sekansları intron içermez. Her mitokondri birçok mtDNA kopyasına sahiptir ve her hücrede birçok mitokondri, dolayısıyla nükleer DNA'nın sadece iki kopyası ile karşılaştırıldığında bir hücrede yüzlerce mtDNA kopyası vardır (poliplasmi). MtDNA yapısındaki enzimlerin replikasyonu, transkripsiyonu, translasyonu ve onarımı için nükleer genlere bağımlıdır. Mitokondri bu organelde meydana gelen metabolik yolda rol alan tüm diğer proteinler için nukleusa bağımlıdır^{4,5}.

Sperm, ovumu dölleyeceği zaman yumurtanın hücre zarına tutunur ve enzimler yardımıyla zarı eritir. Yumurta hücresinin içine yalnızca kendi DNA'sını bırakır; böylece spermin organelleri dışı üreme hücresinin içine girmez. Bu nedenle sperm ya zigota mitokondri vermez ya da verilen mitokondri replikasyon sırasında seçilmektedir yani memelilerde tüm mitokondri çocuğa anneden geçer (maternal kalıtım). Aşağıda sıralanmış olan bulgular maternal kalıtım tipini destekleyen özelliklerdir⁶.

1. Mitokondrial hastalıklarda genetik geçiş şekli otozomal dominant kalıtıma benzer fakat etkilenen hasta sayısı tipik otozomal dominant kalıtıma göre daha fazladır.
2. Hastalık cinsiyet farkı göstermez,
3. Hastanın fenotipi ilkel (doğal) ve mutant mtDNA oranı ile ilişkilidir.

Embriyo gelişimi sırasında, mitokondri dışındaki organeller ortak genlerden yararlanır. Mekanizma tam bilinmemekle birlikte mitokondri nükleer faktörlerin kontrolü altında gelişme sırasında bölünür ve proliferer olur. MtDNA serilerindeki değişiklikler kalıtlabilir ya da somatik olabilir (doğuştan). İnsan mtDNA'sı muhtemelen mtDNA'nın polimerazlar tarafından doğru okunmasındaki bozukluğa bağlı olarak, nükleer DNA'nın 10-20 katı mutasyon oranına sahiptir. Bu özellik (ve DNA'nın mutlak maternal kalıtımı) etnik popülasyonları ve parçasal migrasyonları tanımlamada ve de adli tıpta kullanılır.

Normalde bir kişinin tüm mtDNA'sı aynı olacaktır ki buna **homoplazmi** denir. Bazen bir sekans varyasyonu ilkel tipte ve mutant mtDNA çift popülasyonu, karışık olabilir buna da **heteroplazmi** adı verilir. Bazılarında ise mutant genom olacaktır (**mutant homoplazi**)¹.

Patojenik mtDNA mutasyonunun klinik anlamı, mtDNA molekülünün neresinde olduğuna bağlı olduğu kadar, hücre ve mitokondrilerdeki mutant ve ilkel tipteki molekül oranına da bağlıdır. Mitokondrial disfonksiyonun derecesi dokunun enerji gereksinimi ile de ilişkilidir; örneğin beyin ve kas OXPHOS'a büyük ölçüde bağımlıdır, ve nörolojik hastalıklar ve myopati, mtDNA mutasyonlarının sık görülen özelliğidir¹.

MtDNA mutasyonları, nokta mutasyonları ve yeniden yapılanmayı (delesyon ve duplikasyon) içerir. İntronlar olmadığından splice-site (ayırışma yeri) mutasyonları yoktur. Nokta mutasyonları genellikle maternal geçişlidir; delesyon ve duplikasyonlar ise sıklıkla sporadiktir. Solunum zincirindekiler dışında nükleer ve mitokondrial genlerin mutasyonları da mitokondrial disfonksiyondan sorumludur. OXPHOS subunitlerini kodlayan nükleer genler ve mtDNA yapı ve fonksiyonunu kontrol eden genler bunlara örnektir.

MtDNA mutasyonlarının heteroplazmisi, eşik etkisi, yeri, oranı ve inter-intra-doku dağılımı fenotipe katkıda bulunur, ancak aynı genetik defekt ile birlikte bulunan klinik heterojeniteyi tümüyle açıklayamaz. Ayrıca nükleer defekt spesifik enzimatik bozukluğa neden olabilirken, mtDNA mutasyonları, solunum zinciri disfonksiyonu ile klinik sonuçlar arasındaki korelasyon daha az belirgindir. Mitokondrial protein sentezinde değişiklik-mtDNA defektlerinin sonuçları, anormal mRNA üretimi, anormal RNA transkriptlerinin akümüülasyonu, ribozomlara transkript bağlanmasında bozulma, ve yanlış amino asid-tRNA konjugasyonu gibi durumlara neden olabilir. Selüler nekroz bu hastalıklarda nadiren görülür. Defektif enzim kompleksi ve komplekslerinin diğer mitokondrial proteinlerle yanlış olarak bir araya gelmesi, serbest radikallerin üretimi ve apoptoz gibi nekrozdaki başka hücre ölümleri gibi diğer mekanizmalar fenotipik değişikliği ve mitokondrial hastalıkların şiddetini

açıklamak için dikkate alınabilir^{7,8}.

III. Apoptozis

Yakın zamanda mitokondrinin apoptozu tetikleme ve oluşmasında önemli role sahip olduğu gösterilmiştir. İn vitro deneysel çalışmalarda mitokondrial transmembran potansiyelinde bozulma ve sitokrom c ve apoptozu indükleyen faktör (apoptosis inducing factor = AIF) gibi bazı mitokondrial proteinlerin sitoplazmaya salınımının farklı apoptotik yolları başlattığı ve aktive ettiği saptanmıştır⁸. Bunlar;

- 1) Yıkım, kromatinin kondensasyonu ve genomik DNA'nın yarıklanması ve fragmentasyonu gibi tipik nükleer bulguları takip eder.
- 2) Mitokondri, DNA fragmentasyonundan sorumlu proteazları aktive eden sitokrom c ve apoptozis indükleyen faktör gibi proteinleri salar.
- 3) Oksidatif fosforilasyon ve solunum zinciri inhibitörlerinin ayrılması in vitro apoptozu indükler.
- 4) Yoğun serbest radikal üretimi (reaktif oksijen tipleri eksternal mitokondrial membranı değiştirip sitokrom c ve AIF'nin salınımını kolaylaştırır) apoptozu artırır.
- 5) Mitokondrinin iç ve dış membranında, transmembran potansiyelinde bozulma ve bazı mitokondrial proteinlerin (sitokrom c ve AIF) sitoplazmaya salınımının farklı apoptotik yolları başlattığı ve aktive ettiği gösterilmiştir.
- 6) Mitokondrianın iç ve dış membranında apoptozun önemli regülatörleri olan Bcl-2 superfamilyasına ait bir grup protein bulunur.

Nükleer apoptozun, tek hücrelerin fonksiyon ve yaşamlarına etkisini kas gibi multinükleuslu ve kısmen rejenere dokularda değerlendirmek mononükleuslu, yüksek oranda rejenere dokulara göre daha güçtür. Mitokondrial miyopatilerde, apoptoz, disfonksiyonel mitokondri ve yoğun serbest radikal üretimi ile hücre hasarı meydana getirir veya hasarı artırır. Muskuler distrofiler ve inflamatuvar miyopatilerden farklı olarak mitokondrial miyopatilerde kas nekrozu ve rejenerasyonu oldukça nadirdir. Mitokondrial miyopatili hastaların kaslarında değişik oranda TUNEL (terminal

deoksinukleotidil tranferaz-aracılı dUTP nick end labelling) - pozitif lifler gösterilmiştir. Ancal TUNEL pozitifliği her zaman apopitoza işaret etmez. Spesifik mtDNA defekti olan hastaların TUNEL-pozitif liflerinde gözlenen Fas ve kaspaz-3'ün aşırı ekspresyonu, Fas ile başlayan ve kaspazların yıkımı ile sonlanan apoptotik yolun bazı insan mitokondrial hastalıklarında gerçek hücre ölümü modeli olabileceğini gösterir⁸.

Protein sentezini etkileyen mtDNA mutasyonlarında nükleer olarak kodlanan aksine mtDNA ile kodlanan subünitlerin miktarı sitokrom c inaktivasyonunu ve salınımını kolaylaştırır. Sitokrom c, iç mitokondrial membrana gevşek olarak bağlanmış solubl bir proteindir ve mitokondrial solunum zincirinin gerekli bir komponentidir. Sitokrom c, reaktif oksijen tipleri ve solunum zinciri disfonksiyonu apopitoza katkıda bulunur ve apopitozu aktive eden kaspaz 3'ü mitokondrial transmembran depolarizasyonundan bağımsız olarak indükler. Böylece nükleusta kodlanan mitokondrial protein prekürsörleri ve mitokondrial translasyonu inhibe olur; biyokimyasal defekt, reaktif oksijen tipleri ve mitokondrial hasar artar. Bu bozuk döngü postmitotik, non-rejeneratif dokularda gerçekleşir. Pearson sendromunda mtDNA'daki tek delesyon nedeni ile refrakter sideroblastik anemi ve kemik iliği prekürsörlerinin vakuolizasyonu görülür. Ölüm erken çocuklukta görülür ve birkaç yaşayan hastada Kearns Sayre Sendromu (KSS) gelişir. Bu hastalarda kan diskrazisinin klinik olarak düzelmesi mtDNA delesyonu taşıyan etkilenmiş kan hücre prekürsörlerinin eliminasyonu ile ilişkili gibi görünmektedir.

Çalışmalar, mutant mtDNA oranı bir eşiğe ulaştıkça sadece mitokondrial protein sentezini bozan mtDNA anormalliklerinin (tek delesyon durumunda ~ % 40 ve tRNA nokta mutasyonunda %70) apopitozu indükleyebileceğini göstermiştir⁸.

Tek mtDNA delesyonu veya tRNA genlerinde (tRNA^{Lys}, tRNA^{Leu(UUR)}, tRNA^{Ile}, tRNA^{Trp}) nokta mutasyonu taşıyan hastalarda kastaki apopitozun derecesi mutant genomların sayısı ve mitokondrial miyopati ve nörolojik fenotipin şiddetine uygunluk gösterir. MERRF-8344 (tRNA^{Lys}), MELAS-3243

(tRNA^{Leu(UUR)} ve tek mtDNA mutasyonu ile ilişkili bozukluklar mitokondrial ensefalomiyopatilerin çoğunluğunu oluşturur. Tüm mtDNA ile kodlanan mRNA'ların tranlasyonunun azalması veya yokluğu en azından bir tRNA'yı içeren mtDNA defektleri sonucudur^{7,8}.

Sonuç olarak; apopitoz birçok hücre ölümünü sinyalleri ile başlatılabilir, ölüme götüren birçok yolak vardır ve farklı hücreler farklı stimuluslara değişik oranda yatkındır. Bu nedenle apopitoz mitokondrial hastalıkların eşit olmayan doku dağılımını açıklayabilir⁸.

Kaynaklar

1. Guyton AC. Textbook of Physiology WB.Saunders Company-Phl 1976, 5 th. (vol 1). ; 34.
2. Leonard JV, Schapira AHV. Mitochondrial respiratory chain disorders I: Mitochondrial DNA defects. The Lancet 2000;355:389.
3. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG; et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 1981;290:457.
4. Taanman JW. The human mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. Biochim Biophys Acta 1999;1410:103.
5. Leonard JV, Schapira HV. Mitochondrial respiratory chain disorders I: Mitochondrial DNA defects. Lancet 2000;22:299.
6. Passarge E. Eds: Lüleci G, Sakızlı M, Alper Ö. Renkli Genetik Atlası 2000;117.
7. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. Nat Genet 1993;4:289.
8. Mirabella M, Giovanni SD, Silvestri G, et al. Apoptosis in mitochondrial encephalomyopathies with mitochondrial DNA mutations: a potential pathogenic mechanism. Brain 2000;123:93.

Yazışma Adresi :

Uzm.Dr.Filiz KOÇ
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroloji Anabilim Dalı
Balcalı-ADANA
Tel:0322 3386060-3206