 ISSN 0254-3486 = *SA Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie* **17**, no. 1 1998

Fisiologie en patofisiologie van selorganelle*

3. Mitochondria

J.J. Theron en N. Claassen**
Departement Fisiologie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van Pretoria, Posbus 2034, Pretoria, 0001

N. Lizamore
Departement Anatomie, Fakulteit Geneeskunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

Ontvang 4 Desember 1996; aanvaar 10 Februarie 1997

Uittreksel

Mitochondria word in alle eukariotiese selle behalwe die volwasse rooibloedsel gevind. Die verskillende strukturele komponente van die organelle word kortliks beskryf. Die primêre funksie van mitochondria, naamlik transduksie van energie met vorming van ATP deur 'n proses van oksidatiewe fosforilering (OKSFOS) vind in ses proteïenkomplekse plaas wat in vaste volgorde op die cristae mitochondriales gevorm deur instulpings van die interne membraan, gerangskik is. Aangesien mitochondria mitochondriale deoksiribonukleïensuur en ribosome bevat, kan proteïensintese wel in die organelle plaasvind, maar meeste mitochondriale proteïene en feitlik alle lipiede word vanaf die sitoplasma ingevoer. Sekere lipiede (byvoorbeeld kardiolipien) dra by tot die relatiewe ondeurdringbaarheid van die interne membraan vir opgeloste stowwe. Gedurende die sogenaamde permeabiliteitstransisie (PT) wat onder andere deur verhoogde mitochondriale [Ca^{2+}] geïnduseer word, kan die membraan egter meer deurlaatbaar word. OKSFOS geskied deur 'n chemiosmotiese meganisme wat deur vyf ensiemkomplekse (I-V) plus adenien-nukleotiedtranslokase (ANT) uitgevoer word. Mitochondria is verder betrokke by die β-oksidasie van vetsure en die hantering van divalente katione, veral Ca^{2+}.

Siektes van mitochondria sluit in defekte in energiemetabolisme, veral die sg. OKSFOS-siektes wat as verskeie kliniese sindrome van miopatieë of enkefalomiopatie presenteer en geneties mutasies van kernDNS en mitochondriale DNS behels. Defekte in OKSFOS kan ook 'n rol speel in verouderingsiektes en algemene degeneratiewe sindrome. Defekte in oksidasie van vetsure, veral mediumketting(4-12C)-vetsure is beskryf. Die ontwikkeling van die PT mag by verskeie kliniese sindrome soos isgemiese en hipoksiese toestande en reperfusieskade betrokke wees.

Abstract

Physiology and pathophysiology of cell organelles
3. Mitochondria

Mitochondria are found in all eucaryotic cells except mature red blood cells. The structural components of these organelles are briefly described. The primary function of mitochondria, i.e. transduction of energy with formation of ATP through a process of oxidative phosphorylation (OXPHOS) occurs in six protein complexes arranged in sequence on the mitochondrial cristae formed by infoldings of the internal membrane. Mitochondrial DNA and ribosomes are found in mitochondria and protein synthesis can therefore occur in these organelles. However, most mitochondrial proteins and practically all lipids are imported from the cytoplasm. Certain lipids (e.g. cardiolipin) contribute to the relative impermeability of the internal membrane for most solutes. During the so-called permeability transition (PT) which may be induced inter alia by increased mitochondrial [Ca^{2+}] the permeability of this membrane increases. OXPHOS occurs through a chemiosmotic mechanism carried out by five enzyme complexes (I-V) plus adenine-nucleotide translocase (ANT). Mitochondria are involved in β-oxidation of fatty acids and handling of divalent cations, especially Ca^{2+}.

Diseases of mitochondria include defects in energy metabolism especially the OXPHOS-diseases which are manifested clinically as syndromes of myopathy or encephalomyopathies due to mutations of nuclear DNA or mitochondrial DNA. Defects in OXPHOS may also be involved in diseases of ageing and general degenerative syndromes. Defects in oxidation of fatty acids especially medium chain (4-12 C)-fatty acids have been described. Development of PT may be involved in several clinical ischaemic and hypoxic syndromes and in reperfusion damage.

Mitochondria in eukariotiese selle en chloroplaste[1] in plantselle is organelle wat primêr betrokke is by die omsetting van energie na vorms wat deur die sel gebruik kan word. Chloroplaste sal nie verder hier bespreek word nie. Mitochondria word in alle eukariotiese selle behalwe die volwasse rooibloedsel gevind en die volgende strukturele komponente kan in die organel onderskei word (fig. 1):

- Die organel word deur twee membrane omring: die **eksterne mitochondriale membraan** (EM) is 'n gladde membraan wat deurdringbaar is vir alle molekule, insluitende klein proteïene, met 'n molmassa kleiner as 10 000.
- Die **interne mitochondriale membraan** (IM) is ondeurdringbaar vir bogenoemde molekule en bevat hoë konsentrasies van die fosfolipied, kardiolipien (sien later) wat meehelp om vrye beweging van ione oor die membraan te verhoed.
- Die IM vertoon vingervormige instulpings, die **cristae mitochondriales**, wat in die **matriks** van die organel instrek (fig. 1). Die IM bevat 'n verskeidenheid transportproteïene

* *Die volgende artikels in die reeks het reeds verskyn:* **1. Peroksisome** - *Des. 1996;* **2. Lisosome** - *Maart en Junie 1997.*
** *Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.*

wat dit selektief deurlaatbaar maak vir die verskillende ensieme wat in die matriks gekonsentreer is vir metabolisme van byvoorbeeld piruvaat en vetsure, met produksie van asetielkoënsiem A en oksidasie van asetiel-KoA in die sitroensuursiklus van Krebs.

- Soos alle biologiese membrane bestaan die IM ook uit lipiede en proteïene. Die proteïeninhoud van die IM is egter besonder hoog (ongeveer 80%); hierdie proteïene is gerangskik in proteïenkomplekse wat struktureel as sogenaamde **elementêre partikels** op die cristae sigbaar is na toepassing van spesiale voorbereidingstegnieke soos negatiewe kleuring. Elke partikel bestaan uit 'n bolvormige kop (ongeveer 90 Å) en kort steel (fig. 1). Hierdie proteïenkomplekse wat in vaste volgorde gerangskik is, vorm die sisteem van **oksidatiewe fosforilering** (OKSFOS, sien later), die belangrikste bron van ATP-energie vir die sel. OKSFOS bestaan essensieel uit die respiratoriese (elektronoordragketting) (komplekse I-IV) en die F_1F_0ATP-sintase (kompleks V).[2]
- Die EM en IM verdeel dus die mitochondrion in **twee kompartemente** (fig. 1):
- 'n smal intermembraan-kompartement wat ongeveer 100Å wyd is (IMK, fig. 1) en wat, weens die deurlaatbaarheid van die EM, ongeveer dieselfde samestelling as die sitosol het;
- 'n veel groter matriks-kompartement wat deur die IM begrens word en waarin **mitochondriale DNS, ribosome** (sien later) en elektrondigte **matriksgranules** (fig. 1) geleë is.

In figuur 2 word bogenoemde strukturele komponente in die mitochondria van selle van die bruin vetweefsel van die rot geïllustreer.

Alhoewel hierdie basiese strukturele bestanddele in alle eukariotiese mitochondria gehandhaaf word, is hierdie organelle besonder **pleomorfies,** veral met betrekking tot die lengte, rangskikking en vorm van die cristae mitochondriales, die vorm van die organel in 'n spesifieke seltipe en die aantal mitochondria in verskillende seltipes en hul lokalisasie in die sel. Vergelyk byvoorbeeld die prominente septale cristae van 'n bruinvetsel wat oor die hele wydte van die organel strek (fig. 2) met die onopsigtelike, delikate cristae van 'n hepatosiet (fig. 3). In die selle van die bynierkorteks word weer hoofsaaklik tubulêre cristae gevind (fig. 4). Hierdie tipe organel is kenmerkend van die meeste selle betrokke by steroïedsintese. Soos geïllustreer in figuur 5 kan groot variasie in die vorm van afsonderlike mitochondria in dieselfde seltipe gevind word.

Daar bestaan 'n direkte verband tussen die **getal** mitochondria per sel en die benodigdhede van die sel vir ATP, veral vir "meganiese" energie. In selle betrokke by proteïensintese (byvoorbeeld eksokriene pankreasselle, fig. 6) is die aantal mitochondria laag en vertoon onopsigtelik. In teenstelling hiermee word 'n groot aantal mitochondria wat dikwels in aaneenlopende rye gerangskik is, gevind in selle wat ATP vir meganiese werk benodig (byvoorbeeld beweging van die aksoneem van volwasse spermatosoa, fig. 7; en spierkontraksie, fig. 8).

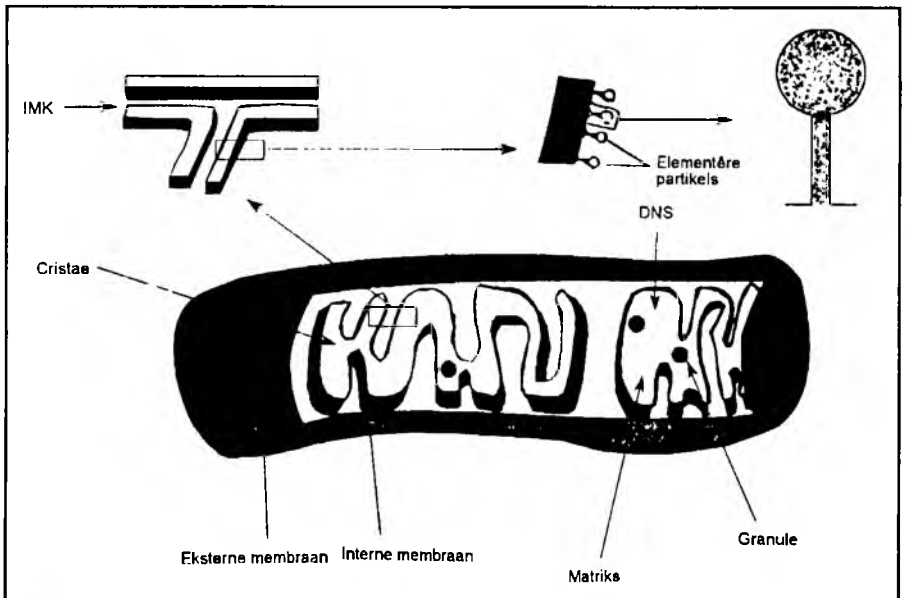
'n Verdere kenmerk van mitochondria is dat hul lokalisasie in 'n spesifieke sel altyd in noue kontak met die energie-benodigende strukture van die betrokke sel is. So byvoorbeeld omring mitochondria van volwasse spermatosoa die aksoneem van die stert van die sel as 'n aaneenlopende skede (fig. 7); is die mitochondria van spierselle in direkte kontak met die spierfilamente (fig. 8) en is organelle van nierbuisepiteel (fig. 5) in die onmiddellike omgewing van die selmembraan wat energie vir aktiewe transport benodig, geleë.

Die energieverskaffende funksie van mitochondria kan slegs bespreek word nadat die volgende strukturele komponente meer volledig beskryf is: mitochondriale deoksiribonukleïensuur (mitDNS), mitochondriale ribonukleïensuur (mitRNS), en die proteïene en lipiede van mitochondria.

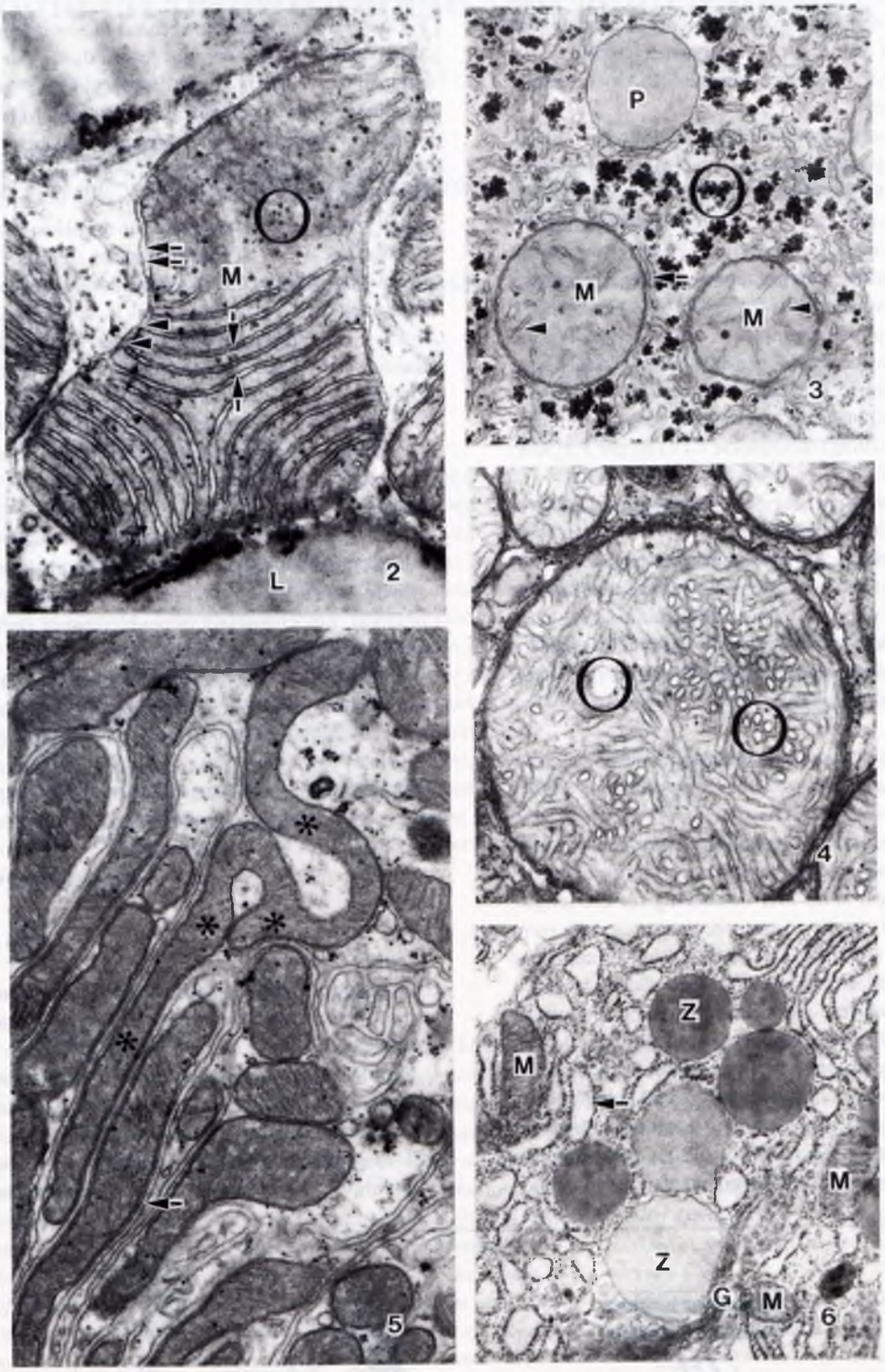
Die **mitDNS**[3,4,5] van die mens is 'n sirkulêre molekule wat uit 'n buitenste swaar (H-) en binneste ligte (L-) ketting bestaan (fig. 9). Die volledige molekuul is uit 16 569 nukleotiedpare opgebou en bevat 13 gene wat vir vier polipeptiedkomplekse van die OKSFOS-sisteem kodeer, 2 gene wat 16S en 12S ribosomale RNS (rRNS) kodeer en 22 gene vir oordrags RNS (oRNS) (tabel 1).

Ander kenmerke van mitDNS kan kortliks as volg opgesom word:

- Introne is afwesig.
- 5'-niekodeer-areas is óf afwesig óf is besonder kort met die gevolg dat twee naasliggende mitDNS-gene dikwels oorvleuel.
- Replikasie van die molekuul geskied in een rigting vanaf twee areas: een vir die guanienryke H-ketting (OH, fig. 9) en een vir die sitosienryke L-ketting (OL, fig. 9).
- Transkripsie betrek beide kettings van die molekuul met gevolglike vorming van H- en L-ketting polisistroniese



FIGUUR 1: Skematiese voorstelling van 'n mitochondrion (sien teks vir verduideliking).



FIGUUR 2: Mitochondrion (M) van die bruinvetweefsel van die rot. Die cristae (pyltjies) in een deel van die organel is normaal gesny en hul oorsprong van die interne mitochondriale membraan (pylpunte) kan duidelik gesien word. In die deel van die mitochondrion waar die cristae dwars gesny is, is die fyn granulêre matrikskompartement met elektrondigte matriksgranules (sirkel) sigbaar. Die dubbelpyltjies dui op die smal intermembraankompartement tussen die twee mitochondriale membrane. L: lipied, x 25 100.

FIGUUR 3: Mitochondria (M) in rotlewersel vertoon onopsigtelike cristae (pylpunte). Pyltjie: gladde endoplasmiese retikulum; sirkel: glikogeen; P: peroksisoom, x 18 600.

FIGUUR 4: Mitochondria in bynierkorteks van die rot het tubulêre cristae (sirkels), x 27 000.

FIGUUR 5: 'n Gekronkelde reuse mitochondrion (asterisks) in die distale nierbuisepiteel van die rot. Let op die nou assosiasie tussen mitochondria en die selmembraan (bv. by pyltjie), x 22 700.

FIGUUR 6: Enkele, klein mitochondria (M) in eksokriene pankreasselle van die rot. Die sitoplasma word oorheers deur prominente membrane van growwe endoplasmiese retikulum (pyltjie) en Golgi-kompleks (G) wat dui op aktiewe proteïensintese. Z: simogeengranules in verskillende stadia van "rypwording", x 22 700.

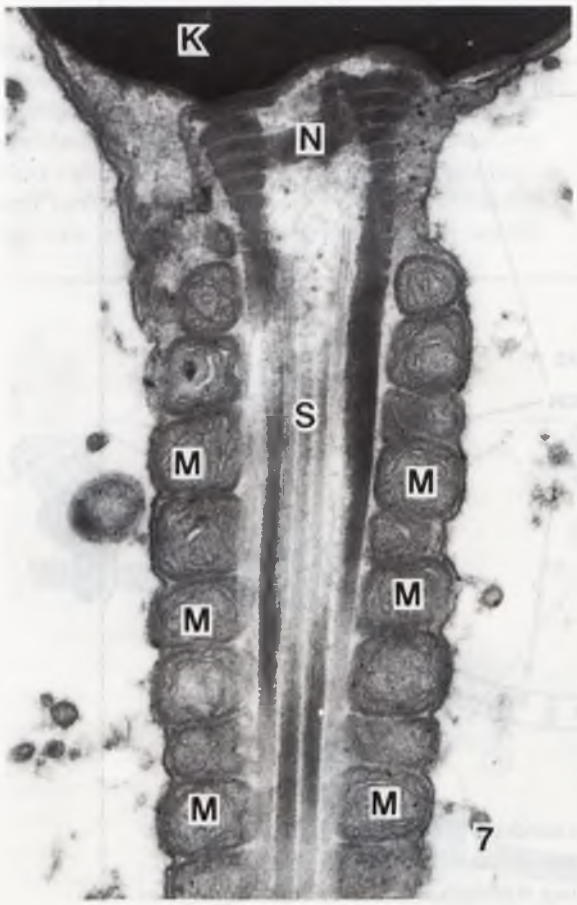
transkripte; die promotors vir transkripsie is in dieselfde area geleë (LSP en HSP, fig. 9); die polisistroniese RNS word dan in funksionele oRNS, rRNS en bRNS geklief.

- Die genetiese kode van mitDNS verskil van die "universele" kode: byvoorbeeld in mitDNS word triptofaan deur die universele stopkodon UGA gekodeer, AUA kodeer metionien (nie isoleusien nie), terwyl AGA en AGG wat universele kodons vir arginien is, as stopkodons in mitDNS funksioneer. Dit is dus duidelik dat volledige translasie van die bRNA's vanaf die twee genome (nukleêr en mitochondriaal) deur die proteïensintese-meganismes van die twee kompartemente nie kan plaasvind nie. Sintese van funksioneel aktiewe ensieme vereis dat interaksies tussen peptiede gekodeer deur mitDNS en kerngekodeerde peptiede moet plaasvind. Besonderhede van sulke interaksies ("cross-talk") tussen die twee sisteme in "hoëre" eukariotiese selle is egter nog onduidelik.[6]
- Gedurende bevrugting dring slegs die kern van die spermatosoön die ovum binne, met die gevolg dat alle mitochondria van die sigoot van die moeder afkomstig is. Hierdie streng moederlike oorerwing van mitDNS tesame met ander eienskappe van dié tipe DNS, soos geredelike herkenning van variasies in mitDNS deur middel van studies van restriksiefragment-lengtepolimorfismes (RFLP's) en afwesigheid van rekombinasie-effekte,[7] maak mitDNS die beste "merker" vir studies van die genealogie van die mens. Sulke studies van mitDNS van 147 individue uit vyf geografiese areas het gelei tot die gevolgtrekking dat die moderne mens vanaf 'n vroulike individu stam wat 200 000 jaar gelede waarskynlik in Afrika geleef het.[8]
- MitDNS enkodeer slegs sommige molekule wat nodig is vir translasie en proteïensintese in die mitochondriale matriks. Meeste ribosomale proteïene en aminoasiel-oRNS-sintetases word deur kerngene geënkodeer, in die sitoplasma gesintetiseer en deur mitochondria "ingevoer" (sien later). Gedurende transkripsie van mitDNS word slegs sekere tipes **bRNS molekule** gevorm en geen bRNS kan vanaf die sitoplasma

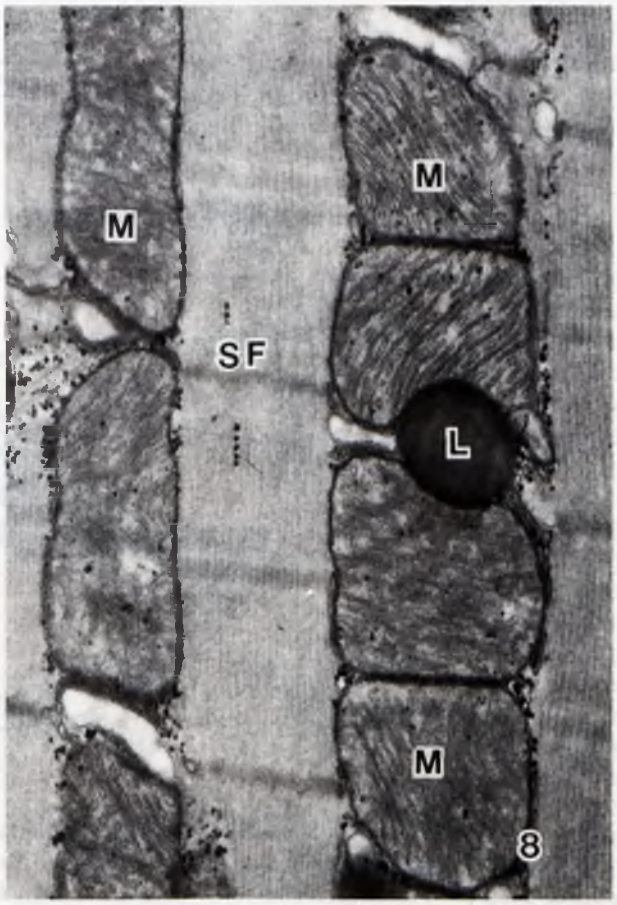
TABEL 1 Gene van menslike mitDNS[1]

Geen	Funksie
13 polipeptied (OKSFOS)-gene	3 subeenhede van sitokroom c-oksidase (kompleks IV) 1 subeenheid van die sitokroom bc_1-kompleks (kompleks III) 2 subeenhede van die F_1F_0ATP-sintasekompleks (kompleks V) 7 subeenhede van NADH-dehidrogenase (kompleks I)[1)]
16S rRNS-geen 12S rRNS-geen	Bestanddele van mitochondriale ribosome
22 oordrag-RNS-gene	Dekodeersisteem vir mitoehondriale "booskappe"

Let wel: Alle subeenhede van kompleks II (suksinaat: ubikinoon-oksidoreduktase) word deur nukleêre gene kodeer.



FIGUUR 7: Gedeelte van die kop (K), die nek (N) en proksimale deel van die stert (S) of aksoneem van 'n volwasse spermatosoön van die mens. Die stert vertoon 'n "skede" bestaande uit naasliggende mitochondria (M), x 37 500.



FIGUUR 8: Prominente mitochondria (M) is in rye gerangskik tussen spierfilamente (SF) van 'n rotventrikelsel. L: Lipied=, x 27 200.

ingevoer word nie. Soos prokariotiese bRNS is mitochondriale bRNS nie bedek ("capped") by hul 5'-eindes nie en het hulle kort, 3'-poli(A)-sterte. Mitochondriale ribosome van eukariotiese selle stem ooreen met dié in prokariote, veral met betrekking tot hul grootte: gewoonlik kleiner as eukariotiese ribosome. Hierdie en ander analogieë (sien later) het dan ook gelei tot die aanvaarding dat eukariotiese mitochondria afstammelinge is van bakterieë wat ongeveer 3,5-biljoen jaar gelede hulself in glikolitiese selle gevestig het deur 'n proses van **endosimbiose.**[9] Hierdie gebeurtenis was van kritieke evolusionêre belang want dit het eukariotiese selle in staat gestel om sellulêre energieproduksie aansienlik te verhoog en terselfdertyd 'n potensieel "toksiese" substans, molekulêre suurstof, na water te metaboliseer.

Mitochondriale proteïene

Alhoewel mitochondriale proteïene (MP) in die matriks van die organel gesintetiseer word, word die meeste MP in sitoplasmiese ribosome gevorm en daarna oor mitochondriale membrane ingevoer.

Proteïensintese in mitochondria[5,10]

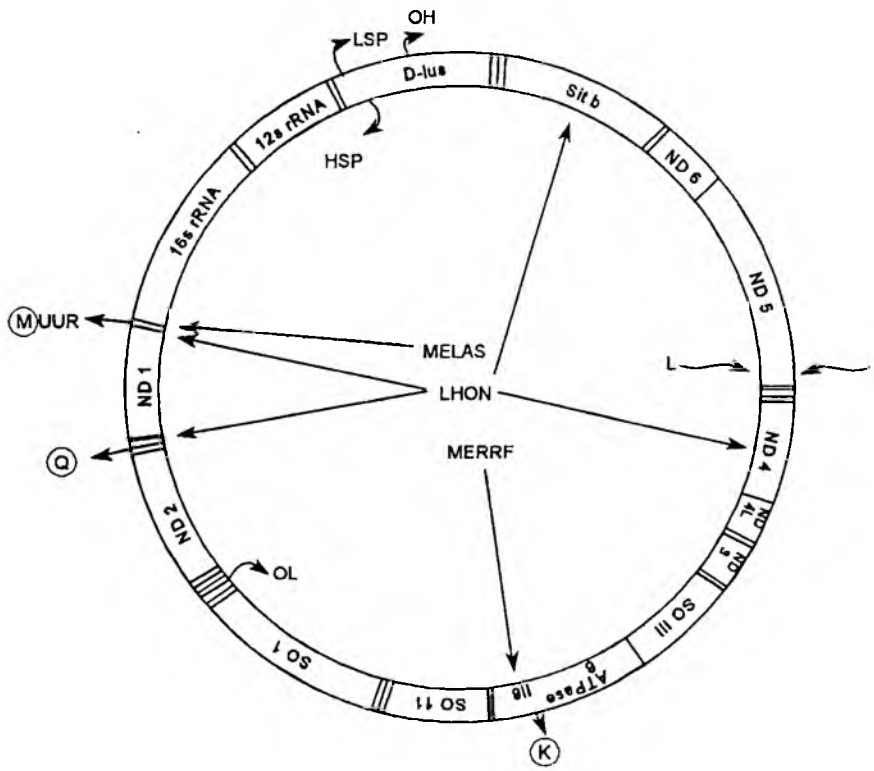
Bostaande bespreking oor mitDNS, RNS en ribosome bewys dat die meganismes en strukture vir proteïensintese in alle eukariotiese mitochondria aanwesig is. Die proses van proteïensintese sal nie hier beskryf word nie (sien later onder endoplasmiese retikulum). Daar is egter sekere belangrike verskille tussen sitoplasmiese en mitochondriale proteïensintese:

- Laasgenoemde word geïnhibeer deur kloramfenikol, eritromisien en tetrasikliene (onderdruk translasie) sowel as deur akridiene en ethidium (onderdruk transkripsie), terwyl die belangrikste inhibitore van sitoplasmiese proteïensintese sikloheksamied is wat translasie onderdruk en α-amanitien wat transkripsie in die kern onderdruk.
- In die sintese van MP word formielmetionien as die inisiële aminosuur gedurende translasie gebruik.

Bogenoemde kenmerke van sintese van MP in eukariote stem ooreen met prokariotiese proteïensintese en word as ondersteuning vir die aanvaarding van eukariotiese mitochondria as endosimbionte genoem.[9]

Invoer van proteïene oor mitochondriale membrane[11-13]

Daar word beweer dat meer as 90% van die honderde proteïene wat vir mitochondriale metabolisme, groei, verdeling en lokalisasie in dogterselle benodig word, deur die selkern gekodeer, in die sitoplasma gesintetiseer en oor die mitochondriale membrane ingevoer word. Hierdie invoerproses word gekompliseer deur die feit dat die meeste van die sitoplasmiese proteïene oor twee membrane (die EM en die IM) moet beweeg om een van hul intramitochondriale posisies, naamlik in die matriks, te bereik. Die invoermeganismes word verder bemoeilik deur die feit dat die IM voortdurend 'n elektrochemiese potensiaal vir die sintese van ATP moet handhaaf. Ongeveer 18 verskillende proteïene wat betrokke



FIGUUR 9: Skematiese voorstelling van die mitochondriale genoom wat uit 'n buitenste swaar (H) en binneste ligte (L) ketting bestaan. Sien teks en tabel 1 vir lys van gene. OH en OL: oorsprong van replikasie van swaar en ligte ketting respektiewelik. LSP en HSP: ligging van promotors vir transkripsie. MELAS, LHON en MERRF dui op die algemeenste Klas II-mutasies van die menslike mitDNS (sien teks vir beskrywing) terwyl M, Q en K die respektiewelike liggings van die mutasies vir die sindrome aandui.
(Gewysig uit: Rasko, I. & Downes, C.S. Genes in medicine. *Chapman & Hall, 1995.)*

is by vervoer oor die EM en IM is reeds gekarakteriseer. Die komplekse meganismes kan kortliks as volg opgesom word:

1. Sitoplasma

Proteïene bestem vir mitochondria het 'n aminoterminale seinpeptied wat uit basiese aminosure bestaan. Die seinpeptied van sommige mitochondriale proteïene (byvoorbeeld sitokroomoksidase) vorm amfipatiese α-heliksstrukture met positief gelaaide residue op die een kant en ongelaaide hidrofobiese residue aan die teenoorgestelde kant van die heliks. Vir effektiewe invoer moet hierdie preproteïene nie gevou wees nie en ook nie aggregate vorm nie. Behoud van die invoerkompetente konfigurasie word bewerkstellig deur die proteïene te koppel aan sogenaamde **meeloper-proteïene** (MEP of "chaperones"). Twee MEP is tans bekend: 'n 70 kDa-lid van die familie van hitteskokproteïene (**Hsp 70**) en 'n dimeriese proteïen met subeenhede van 32 kDa en 30 kDa bekend as mitochondriale stimulasiefaktor (**MSF**).[14] MSF sal slegs assosieer met proteïene wat die korrekte mitochondriale seinpeptied bevat. Dit voorkom aggregasie van sulke proteïene deur hegte verbindings met individuele preproteïene. Verder kan dit reeds gevormde aggregate van proteïene laat dissosieer; ATP-hidrolise is nodig vir laasgenoemde werking. Daar is reeds bewyse vir stimulasie van invoer van 6 proteïene deur MSF. Belangstelling in MSF is verder geprikkel deur die bevinding dat dit lid is van die sogenaamde 14-3-3-familie van proteïene. Hierdie proteïene is betrokke by fisiologiese funksies soos beheer van proteïenkinase C, neurotransmitter-sintese en Ca^{2+}-afhanklike eksositose.[15]

2. Die eksterne mitochondriale membraan (EM)

Die volgende vier proteïene in die EM funksioneer as reseptore vir mitochondriale preproteïene: Mas20p (20-kDa "**m**itochondrial **a**ssembly **s**protein"), Mas22p, Mas37p en Mas70p (fig. 10). Mas20p en Mas22p vorm 'n hegte assosiasie met mekaar en met 'n kompleks van EM-proteïene bekend as GIP ("general **i**nsertion **p**rotein") wat uit 5 subeenhede opgebou is (fig. 10). Mas37p en Mas70p vorm 'n heterodimeer wat weinig assosiasie met GIP vertoon. Mitochondriale preproteïene gebruik óf Mas20p-Mas22p óf Mas37p-Mas70p as reseptore: preproteïene wat afhanklik is van MSF gebruik verkieslik die Mas37p-Mas70p-kompleks, terwyl MSF-"onafhanklike" preproteïene primêr met Mas20p-Mas22p assosieer. Na reseptorbinding word MSF vanaf preproteïene verwyder deur ATP-hidrolise (fig. 10).

Verskeie mitochondriale proteïene ondergaan twee opeenvolgende reaksies in die EM:

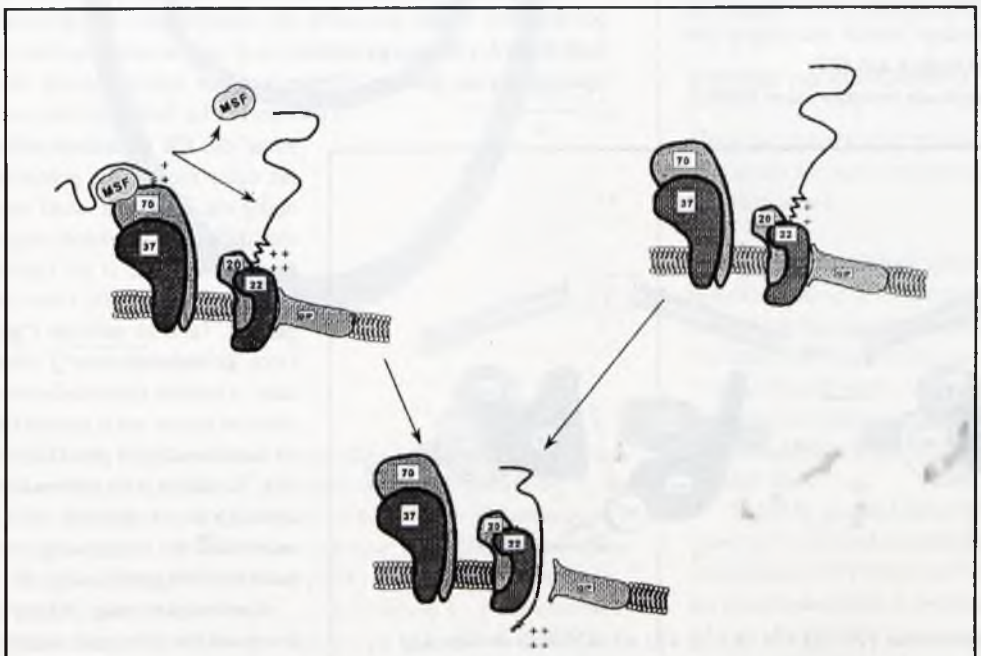
- binding aan reseptor, gevolg deur
- ATP-afhanklike binding aan GIP.[16]

GIP verseker nie alleen "vashegting" van proteïene (byvoorbeeld porienproteïene) aan die EM nie, maar hanteer ook translokasie van proteïene bestem vir ander mitochondriale kompartemente; byvoorbeeld ADP-ATP - draer (bestem vir IM), subeenheid 9 van F_0-ATPase (IM), en subeenheid ß van F_1-ATPase (matriks). **Mitochondriale porien** met 'n mitochondriale lokalisasie uitsluitlik in die EM, is lid van die porienfamilie van membraanproteïene: met ander woorde kanaalvormende proteïene verantwoordelik vir vrye beweging van opgeloste stowwe ≤ 600 dalton oor membrane.

Preproteïene bind opeenvolgend aan twee oppervlaktes van die EM met 'n cis(sitoplasmiese)- of 'n trans(intermembraan)-lokalisasie. Translokasie van cis na trans word beïnvloed deur die seinpeptied en is nie ATP-afhanklik nie.[17] Volgens Mayer et al.[17] is Mas20p en Mas22p veral belangrik vir effektiewe binding aan die cis-kant. Die twee proteïene het sitoplasmiese gebiede wat baie negatiefgelaaide aminosure bevat en dus geredelik met seinpeptiede bestaande uit basiese aminosure sal reageer. Die presiese meganisme van die cis- na trans-oorgang is nog onduidelik:

- Mas22p wat twee hidrofiliese gebiede besit, mag self die kanaal van deurgang verskaf,[17] óf
- die passiewe porie of kanaal mag deur die GIP-kompleks verskaf word.

3. Die interne mitochondriale membraan (IM)



FIGUUR 10: Reseptorproteïene vir mitochondriale preproteïene in die eksterne mitochondriale membraan (sien teks vir beskrywing).

Bogenoemde meganismes in die EM is nie voldoende vir volledige translokasie van mitochondriale preproteïene tot in die matriks van die organel nie. Translokasiemeganismes in die IM is dus noodsaaklik. In teenstelling met die EM het vervoer oor die IM 'n potensiaalverskil oor die membraan sowel as ATP nodig. Die vereiste vir 'n potensiaalverskil impliseer dat die IM nie reseptore soortgelyk aan dié van die EM nodig het nie, maar dat die positief-gelaaide preproteïen na die elektronegatiewe omgewing van die matriks "aangetrek" word.

Ses membraanproteïene wat by translokasie oor die IM betrokke is, is reeds geïsoleer: Mim17p (17kDa **m**itochondriale **i**nterne-**m**embraanproteïen), Mim23p, Mim44p, twee 14kDa- en 30kDa-proteïene wat nog nie

volledig gekarakteriseer is nie en mHsp70p ('n mitochondriale 70kDa-proteïen van die hitteskokfamilie wat in die matriks van die organel gelokaliseer is) (fig. 11). In 'n onlangse deurbraak het Berthold et al.[18] daarin geslaag om die proteïene in twee komplekse te verdeel:

- wanneer translokasie nie plaasvind nie, word 'n sogenaamde kernkompleks geïsoleer wat bestaan uit Mim17p, Mim23p en die 14kDa- en 33kDa-proteïene;
- gedurende oordrag word 'n sogenaamde translokasiekompleks bestaande uit die preproteïen wat "vervoer" word, mHsp70p, Mim44p, Mim23p en Mim17p geïsoleer. Die kompleks word gestabiliseer deur die hegte binding van mHsp70 met die preproteïen. Dit ondersteun Ungermann et al.[19] se suggestie dat mHsp70p preproteïene bind nadat hulle die translokasiekanaal binnegegaan het en sodoende retrograde beweging oor die IM verhoed.

Daar word aanvaar dat mHsp70p ATP-ase noodsaaklik is vir translokasie oor die IM en dat dit waarskynlik die "motor" is wat die proses deur een van twee moontlike meganismes dryf[20]:

- opeenvolgende binding van matriks-gelokaliseerde mHsp70-molekule aan 'n preproteïen **in transito** veroorsaak eenrigtingbeweging deur die translokasiekanaal (die sperrat-meganisme);
- mHsp70p mag aan die IM geanker wees (moontlik aan Mim44p deur 'n ATP-afhanklike meganisme) en mag preproteïene in die matriks "intrek" (translokasie-motormodel).

Wanneer mitochondriale preproteïene in die matriks van die organel arriveer, word seinpeptiede deur matriksproteases gehidroliseer.[11] Dit is egter vanselfsprekend dat alle mitochondriale proteïene nie vir die matriks bestem is nie. **Intramitochondriale sortering** van proteïene vind dus wel plaas en soos skematies in figuur 12 voorgestel, kan vier liggings vir mitochondriale proteïene onderskei word, naamlik: in die EM, in die IM, in die intermembraankompartement (IMK) en in die matriks. Die meganismes wat by hierdie sorteringsprosesse betrokke is, word volledig deur Glick et al.[11] bespreek; hier sal slegs die ligging van enkele proteïene genoem word (figuur 12):

EM-proteïene. Soos reeds beskryf vereis lokalisasie van mitochondriale **porien** (fig. 12L) binding aan GIP.

Mas70p (fig. 12k), 'n mitochondriale reseptor (sien hierbo), het 'n lang aminoterminale gebied vir lokalisasie nodig.

Monoamienoksidase B (nie gewys in fig. 12) het 'n karboksiterminale seinpeptied en membraanlokalisasie vereis ubikwitien.

IM-proteïene. Sommige proteïene bestem vir die IM lokaliseer eers in die matriks en daarna in die IM. Die **ADP/ATP-translokase** (fig. 12j) lokaliseer egter direk in die IM, terwyl **subeenheid Va van sitochroomoksidase** (fig. 12i) moontlik eers deur die matriks beweeg.

IMK-proteïene. Soos in figuur 12 geïllustreer, vind oordrag van proteïene na die IMK, IM en matriks veral by **kontakpunte** tussen die EM en IM plaas. 'n Uitsondering op hierdie reël is egter sitochroom c (fig. 12h) wat "tydelik" in die IMK lokaliseer voor oorplasing na die IM. Hierdie "tydelike" lokalisasie van IMK-proteïene geld ook vir sitochroom C_1 (fig. 12e) wat slegs 'n losse verbinding met die IM het. **Sitochroom b_2** (fig. 12f) en **sitochroom C-heemliase** (fig. 12g) is permanent in die IMK gelokaliseer.

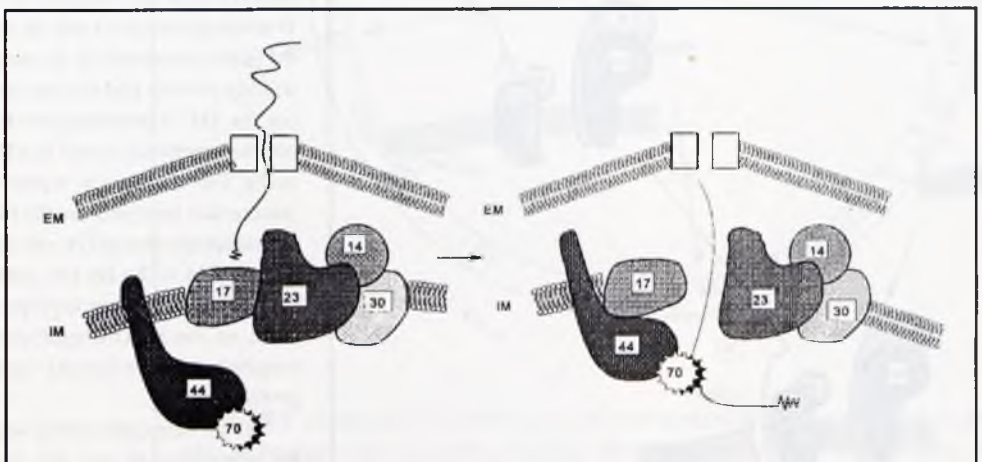
Matriksproteïene. Soos in die geval van sekere IMK-proteïene is **subeenheid 9 van F_0ATPase** (fig. 12a), **ß-subeenheid van F_1**-ATPase (fig. 12b) en die **Fe-S-proteïen van kompleks III** (fig. 12d) voorbeelde van proteïene wat eers deur die matriks beweeg voor inkorporasie in die IM. **Mitochondriale alkoholdehidrogenase III** (fig. 12c) is egter uitsluitlik in die matriks gelokaliseer.

Lipiede van mitochondria

In teenstelling met chloroplaste wat al die lipiede wat hul nodig het self sintetiseer, moet meeste van die mitochondriale lipiede ingevoer word, veral vanaf die endoplasmiese retikulum (ER).[21] Die fosfolipiede (fosfatidielcholien en fosfatidielserien) word in die ER gesintetiseer en na die EM van mitochondria vervoer. In mitochondria word ingevoerde fosfatidielserien na fosfatidiletanolamien gedekarboksileer en vind omsetting van lipiede na **kardiolipien** (bifosfatidielgliserol) plaas. Kardiolipien is 'n "dubbele" fosfolipied met vier vetsuursterte en word hoofsaaklik in die IM gevind waar dit ongeveer 20% van die totale membraanlipiede verteenwoordig.

Transport van lipiede tussen die ER, mitochondria en peroksisome vereis gewoonlik die tussenkoms van oplosbare **fosfolipied-vervoerproteïene** wat die wateronoplosbare lipiedmolekuul omring.[22] Transport van sekere lipiede (byvoorbeeld fosfatidielserien) vanaf die ER na mitochondria het egter nie hierdie proteïene nodig nie,[23] en daar word aanvaar dat ander, onbekende meganismes betrokke is by lipiduitruiling tussen die twee organelle, veral in gebiede ("geslote kompartemente") waar daar 'n intieme strukturele assosiasie is tussen veral gladde ER en mitochondria of peroksisome (fig. 3). Verder is dit treffend dat lipiedglobules dikwels in die onmiddellike omgewing van mitochondria geleë is (fig. 8).

Kardiolipien mag 'n bydrae lewer tot die relatiewe ondeurdringbaarheid van die IM (in teenstelling met die EM) vir ione en klein molekule. Hierdie "skans" in die IM is gesetel in



FIGUUR 11: Vyf membraanproteïene (17, 23, 14, 30 en 44) en mHSP70 is betrokke by translokasie van proteïene oor die interne mitochondriale membraan (IM). EM: eksterne membraan. Sien teks vir beskrywing (figure 10 en 11 gewysig uit Ryan, K.R., Jensen, R.E. (1995)[12]).

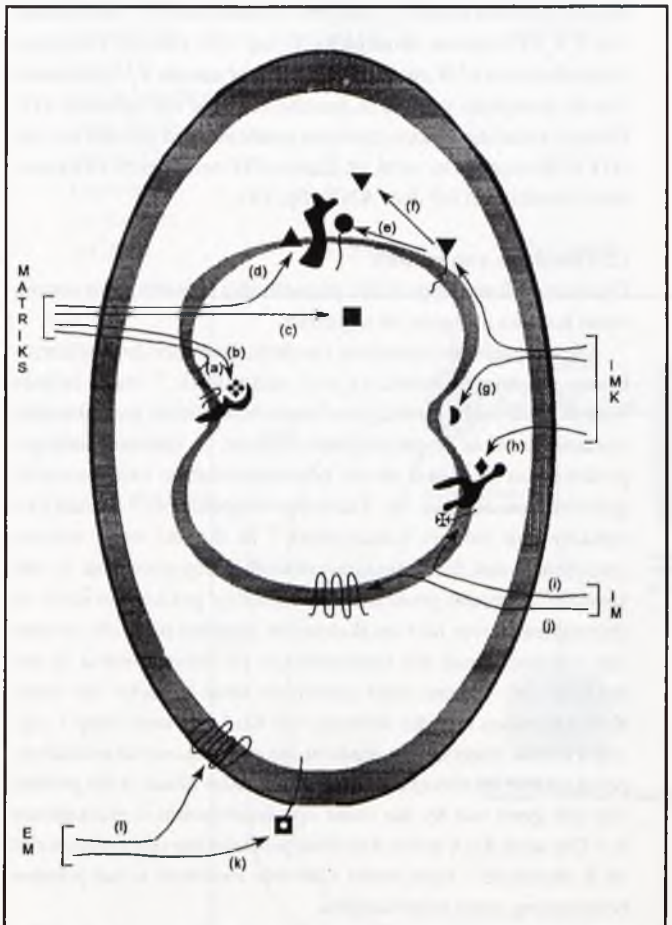
porieë in membraanproteïene, sogenaamde MTP's ("mitochondrial transition pores") wat onder verskillende fisiologiese en patologiese toestande 'n geslote konfigurasie of 'n oop konfigurasie (die "permeability transition" of **PT**) kan aanvaar.[24,25] MTP het 'n deursnit van ongeveer 3 nm., en aanvaarding van die "oop" of PT-konfigurasie elimineer alle permeabiliteitskanse in die IM vir opgeloste stowwe met 'n molmassa van ≤1500 dalton. PT word geïnduseer deur binding van Ca^{2+} aan 'n spesifieke lokus op die matriksoppervlak van die IM. Styging in die mitochondriale $[Ca^{2+}] > 100$ µM induseer PT, maar gewoonlik vereis die Ca-effek samewerking met ander induseerders:[24]

- verhoogde konsentrasies in die matriks van oksaalasetaat, asetoasetaat en anorganiese fosfaat;
- oksidatiewe stres deur metaboliete van piridiennukleotiede of deur verlaging van matriksglutatioon;
- fosfolipase A_2-reaksieprodukte soos lisofosfolipiede.

Die meganismes waardeur hierdie faktore PT induseer, sluit in depolarisasie van die IM of ontwikkeling van 'n alkaliese pH in die matriks.

Opening van MTP kan onderdruk word deur anti-oksidante, inhibitore van fosfolipase A_2 en chelering van vry Ca^{2+}. Die mees dramatiese inhibisie en omkering van PT word egter gevind na toediening van die sikliese immuunonderdrukkende peptied-siklosporiene A,[26] G en H.[27] Die effek van siklosporien A is besonder spesifiek en geen ander mitochondriale funksies word beïnvloed nie. Studies oor die "sluiting" van MTP deur die siklosporiene het baie bygedra tot kennis oor die meganismes wat aanleiding mag gee tot die ontsluiting van die nie-spesifieke porie.[27] Die siklosporiene bind aan 'n 17 kDa-sitosolproteïen, siklofilien, wat funksioneer as 'n peptidiel-prolil cis-trans-isomerase (PPI-ase). Wanneer PPI-ase aan 'n adenielnukleotied-translokase (? ANT, sien hierbo) in die IM bind, ontstaan PT. Inhibisie van PPI-ase deur die siklosporiene hou die MTP in 'n geslote konfigurasie.

Die fisiologiese funksie(s) van MTP is nog onduidelik, maar dit mag wel 'n rol speel in intramitochondriale Ca^{2+}-homeostase. Dit is duidelik dat gedurende PT die protongradiënt en membraanpotensiaal in die IM mag verdwyn. Patologiese gevolge kan ontwikkel as gevolg van uitvloei van mitochondriale Ca^{2+} en belemmering van OKSFOS. Morfologies word PT gesien as swelling van mitochondria (veral in hartspier, fig. 13). Die rol van PT in mitochondriale siektes sal later bespreek word.



FIGUUR 12: Skematiese voorstelling van intramitochondriale sortering van proteïene in 4 lokalisasies: EM-proteïene; K: die Mas70-proteïen en L: mitochondriale porien IM-proteïene: i: subeenheid Va van sitochroom-oksidase; j: ADP/ATP-translokase. Intermembraankompartement (IMK) (Sien teks vir "permanente" lokalisasies) e: sitochroom c_1; f: sitochroom b_2; g: sitochroom c-heemliase; h: sitochroom c. Matriks: a : subeenheid a van F_0ATP-ase; b: β-subeenheid van F_1-ATP-ase; c: mitochondriale alkoholdehidrogenase, d: Fe-S-proteïen van kompleks III (Gewysig uit Glick, B.S., Beasley, E.M., Schatz, G. (1992)[11]).

Biogenese van mitochondria

Mitochondria ontstaan vanaf reeds bestaande organelle deur binêre verdeling. Hierdie proses word gekenmerk deur instulpings van die IM wat uiteindelik oor die hele organel strek en dit in twee verdeel (fig. 14). Dit word direk beïnvloed deur eksterne faktore, byvoorbeeld verhoogde aantal mitochondria in skeletspierselle na volgehoue fisiese oefening.

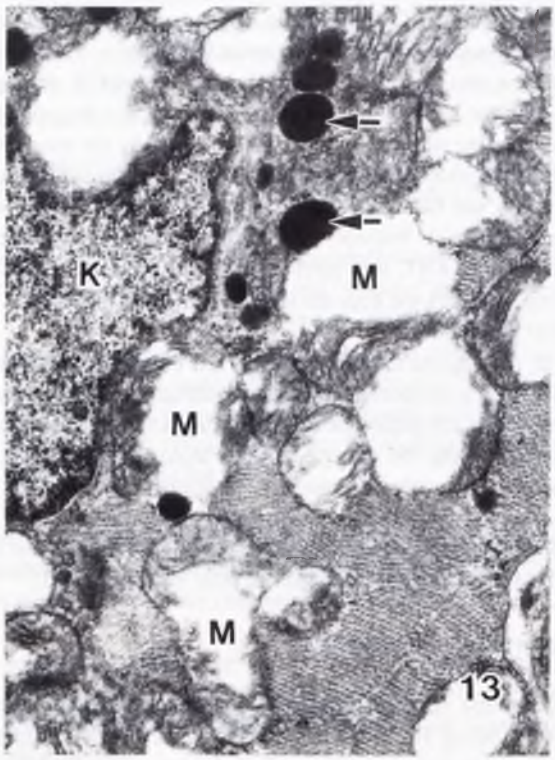
Alhoewel die "grondstowwe" soos mitDNS, mitRNS, proteïene, lipiede, wat vir biogenese nodig is, in die organel aanwesig is, is dit duidelik uit die bespreking van hierdie bestanddele van mitochondria, dat vorming van nuwe organelle samewerking tussen twee genetiese sisteme (nukleositoplasmies en intrinsiek mitochondriaal) vereis[5]: mitDNS kodeer slegs vir enkele subeenhede van OKSFOS-komplekse I, III, IV en V (tabel 1), meeste mitochondriale proteïene word deur die kerngenoom beheer en moet ingevoer word, terwyl feitlik alle lipiede van ekstramitochondriale oorsprong is. Mitochondria is dus nie outonome organelle nie, en het gedurende die gang van evolusie die meeste van hul genetiese materiaal aan die selkern afgestaan.

Funksies van mitochondria

Slegs die metaboliese reaksies wat met die belangrikste mitochondriale kliniese sindrome geassosieer word, sal kortliks hier bespreek word:

1) Energietransduksie met die vorming van ATP deur 'n proses van oksidatiewe fosforilering (OKSFOS) is die primêre funksie van eukariotiese mitochondria. Die besonderhede van OKSFOS is reeds teksboekkennis en word in verskillende oorsigte (byvoorbeeld verw. 2) volledig bespreek. Ten einde die biochemiese basis van die sg. OKSFOS-siektes (sien later) te begryp, sal dus slegs 'n kort opsomming van dié proses hier verskaf word.

OKSFOS geskied deur 'n chemiosmotiese meganisme wat deur vyf ensiemkomplekse plus die adeniennukleotied-translokase (ANT) uitgevoer word. Soos reeds beskryf, is hierdie ses proteïenkomplekse ingebed in die IM van mitochondria (fig. 15) en kan hulle deur toepassing van gespesialiseerde voorbereidingstegnieke morfologies gevisualiseer word. Die verskillende subeenhede van komplekse I, III, IV en V is onder genetiese beheer van sowel mit- en kernDNS, terwyl kompleks II en ANT uitsluitlik deur kernDNS gekodeer word (fig. 15 en



FIGUUR 13: Geswelde mitochondria (M) in atrium-spiersel van die rot; pyltjies: spesifieke atriumgranules; K: kern, x 22 700.

FIGUUR 14: Mitochondria (M_1 en M_2) in rotlewersel wat volgens die vries-ets-tegniek voorberei is. Een mitochondrion (M_1) vertoon aanvang van binêre verdeling, x 28 200.

tabel 1).

In die matriks van mitochondria vind **ß-oksidasie** van vetsure (sien later) en metabolisme van pirovaat deur die **sitroensuursiklus van Krebs** plaas, en NADH + H^+ en $FADH_2$ word gevorm. Komplekse I-IV (die **elektrontransportketting**, fig. 15) ontvang elektrone van dié metaboliese produkte en gebruik suurstof as terminale elektronakseptor. NADH verskaf elektrone aan NADH:ubikinoon-oksidoreduktase of **Kompleks I** (fig. 15). Elektrone word dan oorgeplaas na koënsiem Q (ubikinoon), wat ook elektrone vanaf verskeie $FADH_2$-bevattende dehidrogenases, sowel as van suksinaat: ubikinoon-oksidoreduktase of **kompleks II** (fig. 15) kan ontvang. Elektrone vanaf gereduseerde koënsiem Q (ubikinol) word nou in volgorde oorgeplaas na:

- ubikinol:sitokroom C-oksidoreduktase of **kompleks III** (fig. 15) wat bestaan uit sitokrome b en c en die Rieske-FeS-proteïen;
- sitokroom C en sitokroom C-oksidase of **kompleks IV** (fig. 15), en bereik uiteindelik suurstof. Kompleks IV bevat sitokrome a + a_3 en twee Cu-atome.

Gedurende deurgang van elektrone deur komplekse I, III en IV word protone vanuit die matriks oor die IM na die intermembraankompartement gepomp met die gevolglike ontwikkeling van 'n **elektrochemiese gradiënt** oor die membraan. H^+ wat saam met die gradiënt beweeg, gaan deur 'n porie in die F_0-subeenheid van F_1F_0ATP-sintase (**kompleks V**, fig. 15). Hierdie kompleks fosforileer nou ADP en anorganiese P wat aan die F_1-subeenheid van die kompleks verbind is, met die vorming van gebonde ATP. Energie vanaf die elektrochemiese gradiënt word gebruik om vry ATP in die matriks te vorm, en hierdie ATP word geruil vir ekstra-mitochondriale ADP deur **ANT** (fig. 15).

(2) Oksidasie van vetsure

Die belangrikste stappe in die intrasellulêre hantering van vetsure word kortliks in figuur 16 opgesom:

Die meganismes waardeur langkettingvetsure deur selmembrane opgeneem word, is nog onduidelik,[28] maar behels waarskynlik beide versadigbare draer-bemiddelde gefasiliteerde opname sowel as onversadigbare diffusie. 'n Vetsuur-bindingsproteïen van 40 kDa is uit die plasmamembraan van lewerselle geïsoleer en mag in die natriumgekoppelde ATP-afhanklike opname van vetsure funksioneer.[29] In die sel word vetsure geassosieer met laemolmassa-vetsuurbindingsproteïene in die sitosol.[30] Hierdie proteïene is volledig gekarakteriseer in dermepiteel, lewer, hart- en skeletspier, maar hul rol in die vervoer van vetsure vanaf die selmembraan na mitochondria is nie duidelik nie. Vetsure word geaktiveer deur 'n reeks van asiel-KoA-sintetases met die vorming van KoA-tioësters (stap 1, fig. 16). Hierdie sintetases is reeds in die endoplasmiese retikulum, peroksisome en mitochondria beskryf, maar almal is die produk van een geen wat by die mens op chromosoom 4 gelokaliseer is.[30] Die asiel-KoA-esters kan deur peroksisome opgeneem word vir ß-oksidasie.[31] Veral onder vastende toestande is hul primêre bestemming egter mitochondria.

Die inkorporasie van vetsure in mitochondria vereis **karnitien**, 'n derivaat van lisien. Die karnitiensiklus (stap 2, fig. 16) behels 4 stappe: 'n karnitien-transportproteïen in die selmembraan; karnitien-palmitoiel transferase I (KPT I) in die EM wat asiel-KoA-verbindings tot hul asielkarnitien-analoë metaboliseer; oordrag van asielkarnitiene oor die mitochondriale membrane deur karnitien/asielkarnitien-translokase; verestering van asielkarnitiene tot asiel-KoA-esters deur KPT II in die matriks (stap 3, fig. 16). Mediumkettingvetsure (~10 C) het nie karnitien vir translokasie tot in die mitochondriale matriks nodig nie (fig. 16).

Asiel-KoA-esters in die matriks van mitochondria is die substrate vir die ß-oksidasiespiraal (stap 4, fig. 16). Met elke "omwenteling" van die spiraal word asetiel-KoA gelewer en word die vetsuurketting met 2C-atome verkort. In meeste weefsels (veral lewer en hartspier) word asetiel-KoA in die trikarboksielsuursiklus volledig tot CO_2 (fig. 16) en H_2O geoksideer, maar in die lewer- en nierweefsel kan die metaboliese produk ook deur die proses van **ketogenese** tot die ketoonliggame (ß-hidroksibutiraat en asetoasetaat) gemetaboliseer word (stap 5, fig. 16). Laasgenoemde produkte word dan in sekere weefsels (veral brein en spier) finaal geoksideer.

Volledige besonderhede oor die ensieme betrokke by ß-oksidasie verskyn in oorsigte soos die van Roe en Coates:[32] vier groepe ensieme funksioneer in volgorde: asiel-KoA-dehidrogenases, 2-enoïel-KoA-hidratases, L-3-hidroksiasiel-KoA-dehidrogenases en 3-ketoasiel-KoA (of 3-oksoasiel-KoA)-tiolase. Mutasies in die eerste groep, naamlik **asiel-KoA-dehidrogenases** (AS-KoA-D) is van primêre kliniese belang. Die substrate en kromosomale lokalisasie van hierdie ensieme kan as volg opgesom word:

Ensiem	Substraat (lengte van vetsuurketting)	Chromosoom (mens)
Langketting As-KoA-D (LCAD)	12-18 C	2q34-q35
Mediumketting As-KoA-D (MCAD)	4-12 C	1p31
Kortketting As-KoA-D (SCAD)	4 en 6 C	12q22-qter

'n Verdere As-KoA-D is in rotlewer gekarakteriseer, naamlik baie-langketting-As-KoA-D (VLCAD).[33] VLCAD het 14-20 C vetsuurkettings as substrate en vertoon dus oorvleueling met LCAD, maar VLCAD is in die IM van mitochondria gelokaliseer, terwyl LCAD 'n matriksensiem is.

Soortgelyke reaksies is betrokke by die oksidasie van **onversadigde vetsure**. Een ensiem van ß-oksidasie van hierdie vetsure wat van kliniese belang is, is 2,4-dienoïel-KoA-reduktase wat 'n dubbelband reduseer met die vorming van 'n 3-trans-intermediêre produk. Een van die produkte van die groep van As-KoA-D is $FADH_2$ wat soos reeds beklemtoon (fig. 15) elektrone aan die elektrontransportketting lewer.

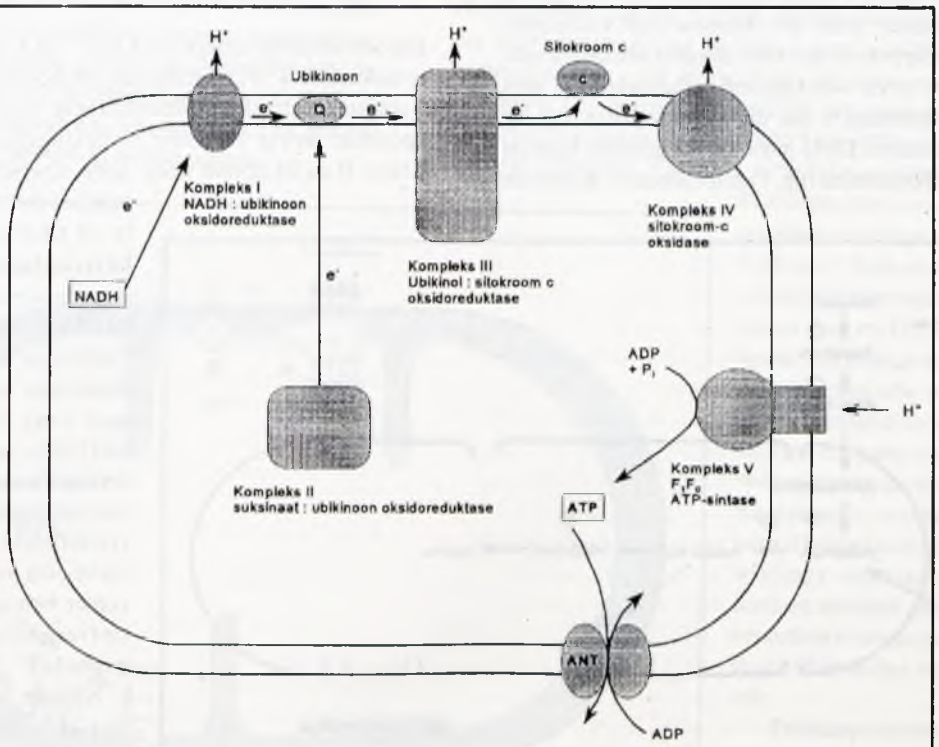
(3) Ca^{2+} en mitochondria

Opname van Ca^{2+} deur mitochondria is reeds in die vroeë sestigerjare beskryf.[34] Die fisiologiese funksie(s) van mitochondriale Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_m$) is egter nog nie duidelik nie, maar die volgende moontlikhede kan genoem word:[24]

$[Ca^{2+}]_m$ -
- beheer vry Ca^{2+}-konsentrasie in die sitosol ($[Ca^{2+}]_s$);
- dien as "stoorplek" vir Ca^{2+} veral gedurende toestande van Ca^{2+}-oormaat, ten einde $[Ca^{2+}]_s$ te stabiliseer;
- dien as vrystelbare bron van Ca^{2+} vir aktivering van verskillende sellulêre funksies;
- beskerm die sitosol teen skade as gevolg van verhoogde $[Ca^{2+}]_s$;
- speel 'n rol in metaboliese beheer deur aktivering van Ca^{2+}-sensitiewe dehidrogenases en ander ensieme.

Soos bespreek deur Gunter et al.[24] is dit egter duidelik dat beskerming van die sitosol en metaboliese beheer die mees waarskynlikste funksies van $[Ca^{2+}]_m$ is.

Dit is welbekend dat in alle tipes eukariotiese selle die $[Ca^{2+}]_s$



FIGUUR 15: Skematiese voorstelling van die vyf primêre mitochondriale elektrontransportkomplekse. Elke kompleks bestaan uit verskeie subeenhede (nie gewys nie). 'n Protongradiënt genereer deur komplekse I, III en IV word deur kompleks V gebruik om ATP uit ADP te fosforileer. (Gewysig uit Beal, M.F. et al. (1993). Do defects in mitochondrial energy metabolism underlie the pathology of neuro-degenerative diseases, Trends Neurosc., *16, 125-131.)*

baie laer is as die sirkulerende, ekstrasellulêre $[Ca^{2+}]_e$. Hierdie $[Ca_e^{2+}]$ $[Ca_s^{2+}]$-gradiënt word deur 'n Ca^{2+}-ATPase en deur Ca^{2+}/$3Na^+$-draers in die selmembraan gehandhaaf. Verder bestaan daar ook Ca^{2+}-kanale in die selmembraan, en beide spannings- en agonis-afhanklike kanale word gevind. Mitochondria vertoon eiesoortige meganismes vir Ca^{2+}-transport oor hul membrane.

Kalsiumtransport oor mitochondriale membrane betrek drie afsonderlike meganismes:[35]

- Invloei van Ca^{2+} geskied deur 'n Ca^{2+}-unipoortsisteem.
- Uitvloei van Ca^{2+} word bewerkstellig deur Na^+-afhanklike en Na^+-onafhanklike meganismes.

Die **Ca^{2+}-uniporter** (fig. 17) benodig 'n interne negatiewe membraanpotensiaal oor die IM en dit is waarskynlik dat hierdie membraanpotensiaal die uniporter in 'n transport-kompetente konformasie handhaaf.[36] Die membraanproteïen word deur Ca^{2+}, ADP, verskeie aminoglukosied antibiotika, tri-etileentetramien en protamien geaktiveer.

Die waarskynlikste meganisme vir **Na^+-onafhanklike** Ca^{2+}-effluks uit mitochondria is 'n Ca^{2+}/$2H^+$-antipoortsisteem in die IM (fig. 17). ATP-energie vanaf die elektrontransportketting is noodsaaklik vir hierdie sisteem (fig. 17), wat geïnhibeer kan word deur sianied en deur verskeie ontkoppelaars van OKSFOS.

Die aktiefste Ca^{2+}-uitvloei uit die matriks vind plaas deur middel van 'n **Na^+afhanklike**, Ca^{2+}/$2Na^+$-antiporter (fig. 17) wat waarskynlik ook energie vanaf die elektrontransportketting nodig het.

Die aard en moontlike funksie van die sg. **PT**-porie (fig. 17) in die IM is reeds kortliks hierbo bespreek. Die rol van hierdie meganisme van verlies van Ca^{2+} (en ander ione en klein molekule) uit die mitochondriale matriks in die ontstaan van verskeie kliniese sindrome sal later bespreek word.

Mitochondriale kalsium is feitlik uitsluitlik in die matriks van die organel gelokaliseer, maar die chemiese aard van hierdie kalsium is nie volledig bekend nie. Mitochondria van sekere selle (byvoorbeeld spier) bevat wel kalsiumbindingsproteïene soos **kalmitien**,[37] wat homoloog is aan die kalsekwestrien van die sarkoplasmiese retikulum. Dit is moontlik dat gebonde kalsium veral in die sg. matriksgranules (fig. 1) gelokaliseer is. Kalmitien mag van patogenetiese belang in sekere spierdistrofieë wees (sien later).

Siektes van mitochondria

Verskeie oorsigte oor die klassifikasie, patogenese, kliniese beeld, diagnose en behandeling van die besonder heterogene groep van mitochondriale genetiese sindrome is beskikbaar.[3,4,32,38] Slegs defekte wat mag volg na belemmering van mitochondriale funksies wat hierbo beskryf is, sal dus hier beskryf word.

Defekte in energiemetabolisme

Gebrekkige aktiwiteit van ensieme betrokke by **piruvaatmetabolisme** (byvoorbeeld piruvaatkarboksilase) en ensieme van die **sitroensuursiklus** (byvoorbeeld fumarase) gee aanleiding tot kliniese sindrome gekenmerk deur vertraagde ontwikkeling by pasgeborenes, hipotonie, miopatie en ander verskynsels. Slegs enkele gevalle van sulke gebreke is egter beskryf,[4] en die grootste groep afwykings in energiemetabolisme ontstaan as gevolg van **OKSFOS-siektes**:

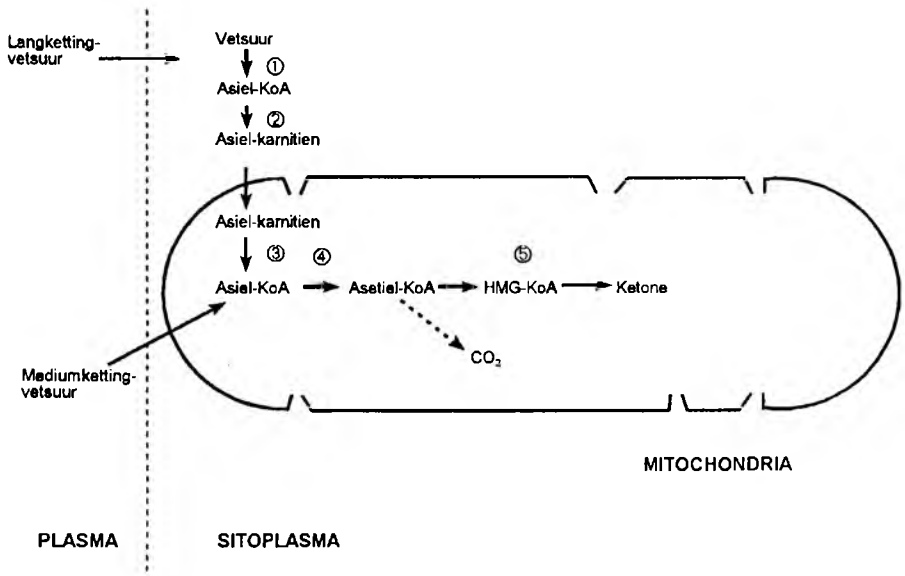
Biochemies word die sindrome gekenmerk deur gebreke in ensieme van die respiratoriese ketting (komplekse I-V).[4] Brein- en/of spierweefsel word gewoonlik aangetas (mitochondriale miopatieë, enkefalomiopatieë). Spiervesels vertoon dikwels groot, onreëlmatige versamelings mitochondria wat helderrooi kleur met gemodifiseerde Gomori-trikroom en dus as uitgerafelde rooi vesels (RRV) beskryf word.[39]

Geneties kan vier groepe onderskei word:[38]

- Mutasies van kern-DNS (Klas I-mutasies)
- Puntmutasies van mitDNS (Klas II-mutasies)
- Wissing en duplikasies in mitDNS (Klas III-mutasies)
- Ongedefinieerde genetiese defekte (Klas IV-mutasies).

Die betroubaarste metode om Klas I- van Klas II- en III-mutasies te onderskei, is 'n gedetaileerde stamboomanalise, wat by Klas I-sindrome klassieke Mendeliaanse oorerwingspatrone sal openbaar, terwyl maternale oorerwingspatrone gewoonlik by Klasse II en III gevind word. Selle, weefsels en selkulture van pasiënte met mitochondriale Klas II- of III-mutasies is gewoonlik **heteroplasmies**, met ander woorde vertoon beide mutante-mitDNS (mut-mitDNS) en "wilde-tipe" of wt-mitDNS. Mitochondriale funksies sal normaal wees tensy die verhouding mut-mitDNS vs. wt-mitDNS 'n sekere **drempelwaarde** bereik. Hierdie drempelwaarde mag varieer vir verskillende mutasies (byvoorbeeld punt vs. wissing) en word verder beïnvloed deur die suurstofvereistes van verskillende weefsels.[40]

Kliniese sindrome geassosieer met kern- of **Klas I-mutasies** behels dikwels verskillende tipes en grade van miopatieë wat kan varieer vanaf benigne infantiele mitochondriale miopatie (BIMM) met spontane herstel op ouderdom 6-9 maande, tot letale infantiele mitochondriale defek (LIMD),



FIGUUR 16: Skematiese voorstelling van vyf stappe in die opname en metabolisme van vetsure in die sitoplasma en mitochondria (sien teks vir beskrywing). (Gewysig uit Roe, C.R., Coates, P.M. (1995)[32].)

met skynbaar normale kliniese voorkoms en Apgartellings by geboorte, maar gevolg word deur vinnige agteruitgang en dood binne die eerste jaar. Skeletspier in BIMM vertoon verminderde sitokroom C-oksidase-aktiwiteit, terwyl defekte in komplekse I, III, IV asook verskillende gekombineerde defekte in LIMD beskryf is.

Klas II-mutasies gee onder andere aanleiding tot die volgende sindrome:

- Leber se hereditêre optiese neuropatie (**LHON**)
- Miokloniese epilepsie en uitgerafelde rooi vesels (MERRV) (Engels: "**MERRF**") en
- Mitochondriale enkefalomiopatie, melksuurasidose en beroertesoortige aanvalle (algemeen bekend as **MELAS**" "mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes").

LHON is die eerste sindroom met 'n puntmutasie in mitDNS wat by die mens beskryf is.[41] Sedert 1988 is verskeie LHON-mutasies gevind,[38] maar die kliniese fenotipe behels gewoonlik akute of subakute, pynlose verlies van sentrale gesigskerpte, wat begin tussen die ouderdomme van 12-30 jaar. Sommige LHON-stambome, veral die wat voor ouderdom 5 jaar voorkom, vertoon addisionele neurologiese abnormaliteite van die basale ganglia, veral nekrose van die korpus striatum.[42] Die algemeenste oorsaak van "klassieke" LHON is egter 'n mutasie in basispaar 11,778 wat lei tot vervanging van hoogs gekonserveerde arginien met histidien by die 340e aminosuur van die sg. ND4-geen (fig 9).[41] (ND4 is 'n subeenheid van die groot hidrofobiese proteïen-domein van kompleks I.)

Afgesien van die miokloniese epilepsie doen **MERRF** voor as 'n stadige, progressiewe demensie wat in die laat kinderjare of vroeë volwasse lewe kan begin, en dikwels geassosieer word met doofheid en ataksie. RRV's word nie altyd in skeletspierselle gevind nie. Ongeveer 80-90% MERRF-fenotipes word veroorsaak deur 'n heteroplasmiese glisien tot alanienmutasie by basispaar 8344 in een lus van die oRNS-lisiengeen (K, fig. 9).[43] Ensimologies lei dit tot vermindering van kompleks I-IV geassosieerde aktiwiteite en dus defekte in proteïensintese.

MELAS word beskryf as 'n progressiewe neurodegeneratiewe siekte gekenmerk deur beroertesoortige aanvalle en mitochondriale miopatie. Ongeveer 80% van die pasiënte vertoon 'n heteroplasmiese alanien tot glisienmutasie in die dihidro-uridienlus van die oRNA Leu (UUR)-geen by basispaar 3243 (M, fig 9).[44] Die beroertesoortige aanvalle is geassosieer met infarkte in verskillende lobbe van die brein, maar die infarkte is nie-vaskulêr en word veroorsaak deur OKSFOS-disfunksies in die breinparengiem.[45]

Klas III-mutasies

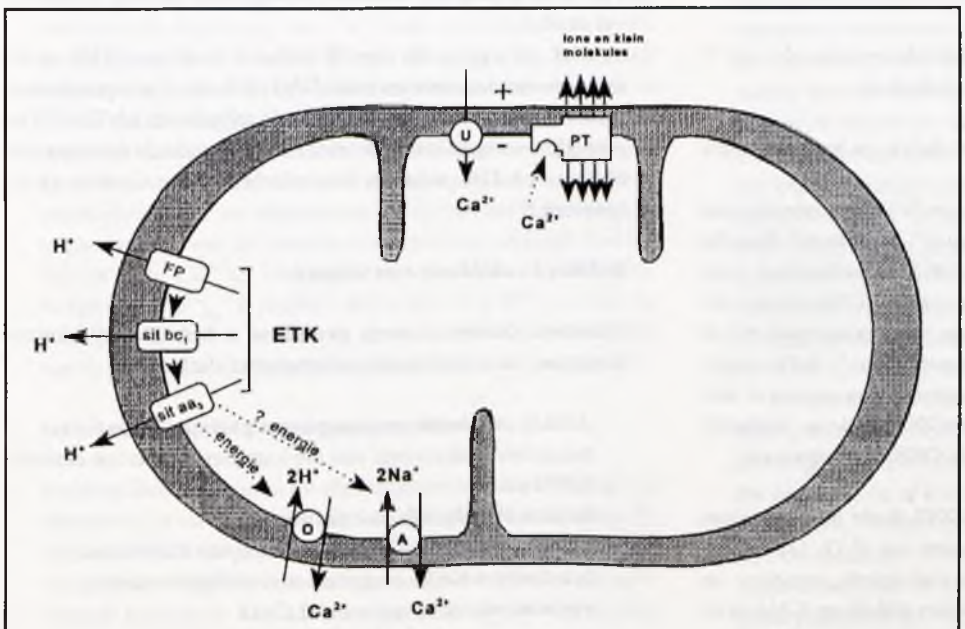
Slegs twee sindrome wat hoofsaaklik te wyte is aan wissings in mitDNS sal kortliks bespreek word:

- Kearns-Sayre-sindroom (KSS) en verwante sindrome;
- Pearson-sindroom (PS).

KSS begin voor die ouderdom van 20 jaar en word gekenmerk deur oftalmoplegie, atipiese retinitis pigmentosa, mitochondriale miopatie plus een van die volgende: geleidingsdefek in die hart, serebellêre sindroom of serebrospinaalvog-proteïenvlak bokant 100 mg/dL.[46] Indien simptome na ouderdom 20 jaar begin, word pasiënte geklassifiseer[38] as chroniese progressiewe eksterne oftalmoplegie (CPEO) wat mag wissel vanaf geïsoleerde aantasting van die eksterne oogspiere (CPEO) tot CPEO plus 'n verwarrende verskeidenheid van ander kliniese beelde (CPEO PLUS-sindroom), wat mag insluit kardiale geleidingsdefekte, doofheid, demensie, motiliteitsteurnisse in die spysverteringskanaal, endokrinopatieë soos diabetes mellitus, hipoparatireose, ensovoorts.[38,47] Verder mag CPEO PLUS-pasiënte verwar word met ander sindrome soos Bartter-sindroom.[48]

Die verwarrende kliniese beelde by KSS-, CPEO- en CPEO PLUS-pasiënte kan tot 'n mate verklaar word deur die feit dat die mutasies begin as wissings van mitDNS gedurende embriogenese, en dat die wissings skynbaar vermeerder met ouderdom. Die delesies van mitDNS verantwoordelik vir KSS en CPEO is heteroplasmies en kan 9 tot 50% van die mitDNS-genoom verwyder. Alhoewel 80% KSS-pasiënte, 70% CPeo PLUS-pasiënte en 40% CPEO-pasiënte wissings van mitDNS vertoon,[49] kan ander mutasies insluitende puntmutasies en duplikasies van mitDNS ook gevind word[38]. Wissings bly egter die primêre mutasie en die groot verskeidenheid fenotipes vanaf okulêre miopatie tot fatale sistemiese degeneratiewe beeld, word waarskynlik verklaar deur die ontwikkelingstadium waarin die wissings ontstaan en die persentasie mitDNS met delesies in verskillende weefsels sowel as die suurstofbehoeftes van die weefsels.

Pearson-sindroom (PS) is interessant omdat dit 'n sistemiese defek in OKSFOS, wat hoofsaaklik in belemmering van beenmurgfunksie openbaar word, verteenwoordig. Hematopoiëtiese-wanfunksie lei tot ernstige, bloedtransfusie-afhanklike makrositêre anemie met variërende grade



FIGUUR 17: Meganismes van Ca^{2+}-hantering deur mitochondria: U: Ca^{2+}-uniporter; O: Natrium-onafhanklike Ca^{2+}-effluks; A: Natrium-afhanklike Ca^{2+}-effluks; PT: porie gevorm gedurende permeabiliteitstransisie; FP: Flavoproteïene; ETK: Elektrontransportketting. (Gewysig uit Gunter, T.E., Gunter, K.K., Sheu, S.S. (1994)[24].)

van trombositopenie en neutropenie.[50] Beenmurgsmere vertoon kenmerkende vakuolisasie van rooi- en witselvoorlopers, hemosiderose en sideroblaste. Sommige pasiënte vertoon spontane remissie van hul pansitopenie waarskynlik weens infiltrasie van die beenmurg deur selle met normale mitDNS. Sulke pasiënte ontwikkel egter simptome in ander organe weens OKSFOS-defekte as gevolg van wissings in mitDNS: pankreasdisfunksie en mitochondriale miopatieë word byvoorbeeld dikwels gevind. Die primêre mutasie in alle PS-pasiënte is egter altyd delesies in mitDNS wat dikwels sporadies in stambome met geen bewyse van hematologiese afwykings by ander familielede nie, ontstaan.[51]

'n Verskeidenheid neuromuskulêre sindrome wat met OKSFOS-defekte geassosieer is, kan nog nie geneties geklassifiseer word nie en word dus as **Klas IV-mutasies** beskryf.[38] Verskeie mitochondriale miopatieë ressorteer onder hierdie groep en dit is interessant dat die eerste OKSFOS-sindroom wat by die mens beskryf is, naamlik **Luft se sindroom** (LS)[52] ook in hierdie klas val. LS-pasiënte presenteer met nontiroïedale hipermetabolisme, verhoogde BMS en liggaamstemperatuur, oormatige sweetsekresie, tagikardie en verspreide miopatie met kenmerkende RRV's en parakristallyne insluitings in spiermitochondria. Biochemies is LS waarskynlik die gevolg van ontkoppeling van OKSFOS sodat die elektrochemiese gradiënt nie lei tot ATP-sintese nie: oligomisien, 'n inhibitor van ATP-sintase (kompleks V), inhibeer nie respirasie in LS-mitochondria nie. Die "ineenstorting" van die elektrochemiese gradiënt mag die gevolg wees van die onvermoë van LS-mitochondria om Ca^{2+} te behou.

Alhoewel bogenoemde OKSFOS-siektes van primêre belang vir genetici en neuroloë is, kan hulle nie as algemeen-voorkomende kliniese sindrome beskryf word nie. Daar is egter 'n groeiende besef dat verwante defekte in OKSFOS 'n bydraende patogenetiese rol in verskeie algemene kliniese probleme mag speel. Hierdie oortuiging word ondersteun deur studies oor die betrokkenheid van

- OKSFOS-defekte in veroudering en
- OKSFOS-defekte en algemene degeneratiewe sindrome.

OKSFOS en veroudering

Morfologiese, biochemiese en molekulêre studies dui op 'n geleidelike afname in OKSFOS met ouderdom:

- die aantal sitokroom c-negatiewe skelet- en hartspiervesels neem met ouderdom toe;[53]
- ensiemaktiwiteite van komplekse I en IV daal progressief met ouderdom in menslike skeletspier[54] en lewer.[55] Hierdie ouderdomsverwante afname in OKSFOS-aktiwiteit gaan gepaard met toenemende grade van mitDNS-skade: die persentasie mitDNS 4997-wissings neem progressief toe in menslike hartspier na 35-jarige ouderdom.[56] Sulke waarnemings suggereer dus dat veroudering geassosieer is met progressiewe akkumulasie van mitDNS-skade in "stabiele" weefsels met gevolglike afname in OKSFOS-kapasiteit.[3]

Die waarskynlikste oorsaak van mitDNS-skade met ouderdom is oksidasie deur superoksiedanione en H_2O_2 (suurstofradikale).[57,58] Sulke radikale reageer met lipiede, proteïene en nukleïensure met die vorming van timien-glikole en 8-hidroksiguanosien in DNS, met gevolglike inhibisie van replikasie en transkripsie. Verder is bewys[58] dat

- suurstofradikale natuurlike neweprodukte van OKSFOS is, verantwoordelik is vir 1-4% van die suurstofopname van die sisteem, en op twee plekke in OKSFOS gevorm word, naamlik die raakvlak tussen die flavien-dehidrogenases en koënsiem Q en by kompleks III;
- mitDNS ongeveer 16X meer vatbaar vir oksidatiewe skade is as kernDNS.[57,58]

Mutasies wat aanleiding gee tot OKSFOS-defekte is beskryf in sogenaamde siektes van veroudering, veral Alzheimer se siekte (AS), Parkinson se siekte (PS) of kombinasies van die twee (AS + PS). Die mutasie wat die beste korrelasie met As, PS en AS+PS vertoon het, was 'n alanien- tot glisienmutasie by basispaar 4336 van die oRNS Gln=geen (Q, fig. 9). Die mutasie was teenwoordig in 3,2% breinweefsel van AS-pasiënte, 6,8% van AS+PS en 5,3% van PS-pasiënte; insidensies wat veel hoër is as in kontrole Kaukasiese bevolkings. Alhoewel ander mutasies ook beskryf is,[59] gee alle variante waarskynlik aanleiding tot belemmering van Komplekse I- en IV-aktiwiteite en dit is insiggewend dat defekte in hierdie twee respiratoriese komplekse reeds voorheen in PS beskryf is.[60]

Soos beklemtoon deur Wallace[3] mag OKSFOS-defekte 'n rol speel in die patogenese van ander **chroniese degeneratiewe sindrome**. Volgens Wallace[3] het die ontrafeling van mitDNS-mutasies bewys dat OKSFOS-siektes vier algemene kenmerke vertoon:

- hulle is geassosieer met OKSFOS-ensiemdefekte in pasiënte met die betrokke sindrome;
- hulle betrek gewoonlik weefsels wat die meeste van mitochondriale energie afhanklik is (sentrale senustelsel, hart, skeletspier, pankreasweefsel, nier en lewer);
- hul vertoon komplekse genetiese patrone waarin verskeie kern- of mitDNS-mutasies soortgelyke fenotipes kan veroorsaak;
- hulle verskyn dikwels in jong volwassenes en vererger met ouderdom.

Een of meer van hierdie eienskappe word ook in verskeie degeneratiewe toestande, byvoorbeeld epilepsie, sekere kardiomiopatieë en tipe II diabetes mellitus gevind. OKSFOS-defekte mag dus van meer algemene kliniese belang wees as wat voorheen vermoed is.

Met verwysing na tipe II diabetes mellitus (DM) is dit insiggewend dat mutasies in mitDNS reeds voorheen geassosieer is met die patogenese van sogenaamde mitochondriale DM.[61] Die moontlike verband tussen defekte in mitochondriale energiemetabolisme en DM word in besonderhede deur Gerbitz et al. bespreek.[62]

Defekte in oksidasie van vetsure

Genetiese defekte in **nege proteïene** is betrokke by kliniese sindrome van mitochondriale vetsuuroksidasie:[32]

- defekte in karnitientransport oor die selmembraan;
- belemmerde aktiwiteit van die karnitientransferase-ensieme KPT I en II;
- karnitien/asielkarnitien-translokase;
- LCAD-, MCAD- en SCAD-ensieme van ß-oksidasie;
- 2,4-dienoïel-KoA-reduktase (onversadigde vetsure);
- verminderde aktiwiteit van VLCAD.

Die algemeenste kliniese sindroom is egter **MCAD-gebrek**, wat ook kenmerke van ander afwykings in ß-oksidasie vertoon. Meer as 200 pasiënte is reeds beskryf en die meerderheid was Kaukasiërs van Noord-Wes Europa. Dit is primêr 'n siekte van

belemmerde vetsuuroksidasie in die lewer en verwarring met onder andere Reye-sindroom is beskryf. Dit begin gedurende die eerste 2 jaar van lewe met vomering en lusteloosheid na 'n vasperiode. Geskiedenis van 'n vooralgaande respiratoriese virusinfeksie word dikwels gevind. Met so 'n eerste episode is die kind dikwels komateus met uitgesproke hipoglukemie en verlaagde ketoonvlakke in die uriene. Herhaalde episodes van hipoglukemiese, hipoketotiese koma volg en in sommige reekse was die mortaliteit so hoog as 20%. Diagnose berus dikwels op bepaling van verhoogde vlakke van metaboliete wat beskou kan word as algemene indikatore van defektiewe ß-oksidasiesindrome (byvoorbeeld dikarboksielsure in uriene) of metaboliete wat meer spesifiek is vir MCAD-gebrek (byvoorbeeld fenielpropionielglisien en andere[32]). Oorspronklik is beweer dat pasiënte wat die aanvanklike akute episodes oorleef, geen nadelige gevolge in die latere lewe ondervind nie. Daar is egter bewyse dat probleme soos langtermyn vertraagde ontwikkeling veral van spraak, gedragsprobleme, proksimale spierswakhede en kroniese epilepsie-tipe aanvalle wel ondervind word.

Gedurende die afgelope paar jaar is gevind dat ongeveer 80% MCAD-pasiënte 'n enkele punt mutasie in cDNS vertoon: 'n alanien(A)- tot glisien(G)-mutasie by basis 985 van MCAD-cDNS. Hierdie A_{985} G-mutasie verander die aminosuurvolgorde in 'n α-heliksarea van die karboksieldeel van die polipeptied.

Terapie van die akute episodes behels vermyding van vasperiodes en behandeling met intraveneuse glukose.

Ander afwykings van die mitochondriale ß-oksidasiespiraal lei dikwels tot swakheid van skelet- of hartspier, sommige met episodiese mioglobienurie. Primêre karnitiengebrek volg na belemmering van karnitientransport oor die selmembraan en pasiënte reageer dramaties op karnitienterapie. Karnitiengebreksimptome mag egter sekondêr by ander ß-oksidasiedefekte gevind word, behalwe KPT I-gebrek wat deur verhoogde vlakke van plasmakarnitien gekenmerk word.

3. Defekte in mitochondriale hantering van Ca^{2+}: die rol van PT

Die belangrikste meganisme wat aanleiding kan gee tot 'n wye verskeidenheid patologiese prosesse wat gekoppel word aan belemmerde hantering van Ca^{2+} deur mitochondria, is die ontwikkeling van PT in die IM van dié organelle. Soos reeds beklemtoon, is die PT-porie blykbaar volkome nie-spesifiek in dié sin dat die enigste vereiste waaraan Ca^{2+} en ander ione en opgeloste stowwe moet voldoen om deur die porie te beweeg 'n molmassa van ≤ 1500 Da is. Die siklosporiene is spesifieke inhibitore van PT en langtermynsluiting van die porie mag die toksiese effekte van die immuno-onderdrukkers verklaar: verhoed "uitlek" van Ca^{2+} en ander potensieel toksiese metaboliete. Aangesien $[Ca^{2+}]_m$ 'n primêre aktiveerder van PT is, word die volgende sindrome beskou as prosesse waarby defektiewe hantering van Ca^{2+} 'n belangrike patogenetiese rol mag speel:

Selnekrose as gevolg van isgemie en hipoksie

Intrasellulêre hipoksie lei tot afname in membraanpotensiaal van mitochondria en verlaagde pH van die matriks, wat albei PT aktiveer. Verder mag 'n oormaat Ca^{2+} die onmiddellike oorsaak van seldood wees.[63] In teenstelling met lewer-, glia- en nierselle vertoon hipoksiese kardiale miosiete 'n twee- tot viervoudige toename in $[Ca^{2+}]_x$.[64,65]

Die PT-meganisme speel 'n rol in die ontwikkeling van anoksiese dood in hepatosiete[66] en in die neuronale seldood wat gevind word in verskeie neurodegeneratiewe siektes.[67] Verder is mitochondria ook betrokke by apoptotiese seldood.[68,69]

Selskade as gevolg van reperfusie

Reperfusie van veral isgemiese spierselle word vergesel van die ontwikkeling van toksiese suurstofradikale, vrystelling van aragidoonsuur en 'n vinnige invloei van Ca^{2+}.[70] Reperfusie van isgemiese miokardselle lei tot swelling van mitochondria en verlaagde OKSFOS: albei onmiskenbare tekens van PT.[70] Hipoksie van geïsoleerde rotkardiomiosiete lei tot matige verhoging van $[Ca^{2+}]_m$. Heroksigenering na 80 minute van hipoksie het egter 'n drastiese toename in $[Ca^{2+}]_m$ tot > 5 µm veroorsaak.[71]

Die ontstaan van toksiese suurstofradikale soos H_2O_2, $OH^{\cdot}$ en $O_2^{\cdot-}$ het veel wyer kliniese implikasies[72] en is nie beperk tot reperfusieskade nie. Die feit dat die elektrontransportketting van mitochondria 'n belangrikte intrasellulêre bron van sulke radikale is,[73] dui op moontlike betrokkenheid van die organelle by verskeie patologiese prosesse, insluitende karsinogenese.

Opsommend: Alhoewel genetiese defekte in ensiemkomplekse van OKSFOS of van vetsuuroksidasie in mitochondria aanleiding gee tot progressiewe en dikwels fatale kliniese sindrome, word hierdie groepe mitochondriale siektes nie gereeld in kliniese praktyk gesien nie. Die afgelope paar jaar het dit egter duidelik geword dat defekte in sekere mitochondriale funksies 'n rol mag speel in die patogenese van meer algemeenvoorkomende kliniese sindrome, en dat die volgende faktore in hierdie verband belangrik mag wees:

- afname in OKSFOS met ouderdom;
- selbeskadiging deur suurstofradikale wat in mitochondria gevorm word;
- defekte in mitochondriale hantering van Ca^{2+}.

Summary

Mitochondria are found in the cytoplasm of all eucaryotic cells except mature red blood cells. The structural components of these organelles consist of two surrounding membranes: an external membrane which is permeable to all molecules < 10 000 daltons and an internal membrane which is relatively impermeable. These membranes divide the organelle into two compartments: a narrow intermembrane space and a much larger matrix-compartment within the internal membrane. The latter membrane forms a series of infoldings, the cristae mitochondriales, which project into the matrical space. The enzyme complexes of the respiratory chain are sequentially embedded within the inner membrane and are essential to the process of oxidative phosphorylation (OXPHOS) for the generation of ATP. The matrix contains mitochondrial DNA (mitDNA), ribosomes and electron-dense matrix granules. Although these structural components are found in all mitochondria, these organelles are extremely pleomorphic with reference to number, form and localization in the cell.

Human mitDNA consists of approximately 16,5 kb and is a double-stranded circular molecule comprised of a heavy chain and a light chain. It is maternally inherited and certain aspects of the genetic code of mitDNA are different from those of the universal code. Transcription of mitDNA yields certain types of mRNA-molecules. The latter resemble procaryotic mRNA which support the concept that mitochondria probably evolved from endosymbiotic bacteria.

Although protein synthesis does occur in mitochondria, most mitochondrial proteins are imported from the cytoplasm. Proteins destined for mitochondria usually have an aminoterminal signal peptide of basic amino acids and are kept in an import-

competent configuration by chaperone proteins, i.e. a 70 kDA heat shock protein and a dimeric mitochondrial stimulation factor (MSF). Four proteins in the external membrane act as receptors for mitochondrial proteins. Translocation across the internal membrane requires a membrane potential and ATP and is accomplished by six membrane proteins. Further protein sorting occurs within mitochondria and proteins are eventually localized in the outer membrane, inner membrane, intermembrane space or matrix compartment.

Most mitochondrial lipids are imported from the endoplasmic reticulum. Phospholipid-transport proteins are involved in the transport of lipids to mitochondria and within the organelle certain lipids are decarboxylated to cardiolipin, a double phospholipid found mainly in the inner membrane. Cardiolipin contributes to the relative impermeability of this membrane, which contains mitochondrial transition pores. The latter may undergo a permeability transition or PT. Assumption of the PT-configuration allows translocation of solutes < 1500 dalton. PT may be induced by increased mitochondrial $[Ca^{2+}]$, depolarization of the inner membrane and alkalinization of the matrix.

The most important function of mitochondria is energy conversion with the formation of ATP through the process of OXPHOS. The latter occurs by a chemiosmotic mechanism accomplished by four enzyme complexes (I-IV) of the electron transport chain, complex V (ATP-synthase) and adenine-nucleotide translocase (ANT).

Carnitine is required for uptake of fatty acids by mitochondria. After activation, ß-oxidation of these fatty acids occurs in the matrix of the organelle. The acyl-coA-dehydrogenase-group of enzymes is of primary clinical importance in disorders linked to defective oxidation of fatty acids.

Finally, mitochondria are involved in the handling of divalent cations especially Ca^{2+}. Inflow of Ca^{2+} occurs through an uniport system, while Na^{2+}-dependent and -independent mechanisms are involved in the outflow of the cation. Mitochondrial calcium is localized almost exclusively in the matrix where calciumbinding proteins such as calmitine are found.

Defects in mitochondrial energy metabolism are involved in the so-called OXPHOS-diseases. Brain and/or muscle tissue are affected and the various clinical syndromes can be divided into mutations in nuclear DNA, point mutations in mitDNA (e.g. LHON-MERRF- and MELAS-syndromes), deletions and duplications in mitDNA (e.g. Kearns-Sayre-and Pearson-syndromes), and a fourth group of mitochondrial myopathies in which the genetic defects have not been delineated. OXPHOS declines with advancingage and decreased activity may be involved in diseases of ageing (e.g. Alzheimer, Parkinson) and in chronic degenerative syndromes.

Genetic defects in nine proteins have been described in syndromes linked to impairment of mitochondrial fatty acid metabolism. However, the most prevalent syndrome is due to decreased activity of medium chain (4-12 C)-acyl-coA-dehydrogenase.

Defects in the mitochondrial handling of Ca^{2+} may lead to development of PT in the internal membrane of the organelle. The cyclosporins are specific inhibitors of PT, while activation of PT may be involved in ischemic and hypoxic cellular necrosis and in reperfusion damage.

LITERATUURVERWYSINGS

1. Bogorad, L. (1981). Chloroplasts, *J. Cell Biol*, 91, 256s-270s.
2. Hatefi, Y. (1985). The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system, *Annu. Rev. Biochem.*, 54. 1015-1069.
3. Wallace, D.C. (1992). Diseases of the mitochondrial DNA, *Annu. Rev. Biochem.*, 61, 1175-1212.
4. Zeviani, M., Bonilla, E., De Vivo, D.C. et al. (1989). Mitochondrial diseases, *Neurol. Clinics*, 7, 123-156.
5. Kroon, A.M., Van den Bogert, C. (1987). Biogenesis of mitochondria and genetics of mitochondrial defects, *J. Inher. Metab. Dis.*, 10 (Suppl. 1), 54-61.
6. Attardi, G. (1986). The elucidation of the human mitochondrial genome, *Bio Essays*, 5, 34-48.
7. Olivo, P.D., Van de Walle, M.J., Laipis, P.J., Hauswirth, W.W. (1983). Nucleotide sequence evidence for rapid genotypic shifts in the bovine mitochondrial DNA D-loop, *Nature*, 306, 400-402.
8. Cann, R.L., Stoneking, M., Wilson, A.C. (1987). Mitochondrial DNA and human evolution, *Nature*, 325, 31-36.
9. De Duve, C. (1996). The birth of complex cells, *Scient. Amer.*, 274, 38-45.
10. Attardi, G., Schatz, G. (1988). Biogenesis of mitochondria, *Annu. Rev. Cell Biol.*, 4, 289-333.
11. Glick, B.S., Beasley, E.M., Schatz, G. (1992). Protein sorting in mitochondria, *TIBS*, 17, 453-459.
12. Ryan, K.R., Jensen, R.E. (1995). Protein translocation across mitochondrial membranes: what a long, strange trip it is, *Cell*, 83, 517-519.
13. Mihara, K., Amora, T. (1996). Cytoplasmic chaperones in precursor targeting to mitochondria, *Trends cell Biol.*, 6, 104-108.
14. Hachiya, N., Komiya, T., Alam, R. et al. (1994). MSF, a novel cytoplasmic chaperone which functions in precursor targeting to mitochondria, *EMBO J.*, 13, 5146-5154.
15. Alam, R., Hachiya, N., Sakaguchi, M. et al. (1994). cDNA cloning and characterization of mitochondrial stimulation factor (MSF) purified from rat liver cytosol, *J. Biochem.*, 116, 416-425.
16. Pfaller, R., Steger, H.F., Rassow, J. et al. (1988). Import pathways of precursor proteins into mitochondria: multiple receptor sites are followed by a common membrane insertion site, *J. Cell Biol.*, 107, 2483-2490.
17. Mayer, A., Neupert, W., Lill, R. (1995). Mitochondrial protein import: reversible binding of the presequence drives partial translocation and unfolding, *Cell*, 80, 127-137.
18. Berthold, J., Bauer, M.F., Schneider, H.C. et al. (1995). The MIM-complex mediates preprotein translocation across the mitochondrialinner membrane and couples it to the mt-HSP70/ATP driving system, *Cell*, 81, 1085-1093.
19. Ungermann, C., Neupert, W., Cyr, D.M. (1994). The role of HSP70 in conferring unindirectionality on protein translocation into mitochondria, *Science*, 266, 1250-1253.
20. Glick, B.S. (1995). Can HSP-70 proteins act as force-generating motors?, *Cell*, 80, 11-14.
21. Bishop, W.R., Bell, R.M. (1988). Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement, and intracellular translocation, *Annu. Rev. Cell Biol.*, 4, 579-611.
22. Wirtz, K. (1990). Phospholipid transfer proteins, *Annu. Rev. Biochem.*, 60, 73-99.
23. Trotter, P., Volker, D. (1994). Lipid transport processes in eukaryotic cells, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1213, 241-262.
24. Gunter, T.E., Gunter, K.K., Sheu, S.S. (1994). Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance, *Am. J. Physiol.*, 267, C313-C339.
25. Duchen, M.R., McGuiness, O., Brown, L.A. et al. (1993). On the involvement of a cyclosporin A-sensitive mitochondrial pore in myocardial reperfusion injury, *Cardiovasc. Res.*, 27, 1790-1794.
26. Broekemeier, K.M., Carpenter-Deyo, D.J., Reed, D.J. et al. (1989). Cyclosporin A is a potent inhibitor of the inner membrane permeability transition in liver mitochondria, *J. Biol. Chem.*, 264, 7826-7830.
27. Griffiths, E.J., Halestrap, A.P. (1991). Further evidence that cyclosporin A protects mitochondria from calcium overload by inhibiting a matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, *Biochem. J.*, 274, 611-614.
28. Berk, P.D. (1996). How do long-chain free fatty acids cross cell membranes?, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 212, 1-4.
29. Stremmel, W., Strohmeyer, G., Borchard, F. et al. (1985). Isolation and partial characterization of a fatty acid binding protein in rat liver plasma membranes, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, U.S.A., 82, 4-12.
30. Abe, T., Fujino, T., Fukuyama, R. et al. (1992). Human long-chain

acyl-CoA synthetase: structure and chromosomal localization, *J. Biochem.*, 111, 123-132.
31. Theron, J.J. et al. (1996). Fisiologie en patofisiologie van selorganelle. 1. Peroksisome, *S.A. Tydskr. Natuurwet. Tegnol.*, 15, 156-161.
32. Roe, C.R. & Coates, P.M. (1995). In *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. Scriver, C.R. et al. eds., 7th ed. (McGraw-Hill, New York), p. 1501.
33. Izai, K., Uchida, Y., Oril, T. et al. (1992). Novel fatty acid ß-oxidation enzymes in rat liver mitochondria. 1. Purification and properties of very long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase, *J. Biol. Chem.*, 267, 1027-1038.
34. DeLuca, H.F., Engstrom, G.W. (1961). Calcium uptake by rat kidney mitochondria, *Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A., 47, 1744-1750.
35. Gunter, T.E., Pfeiffer, D.R. (1990). Mechanisms by which mitochondria transport calcium, *Am. J. Physiol.*, 258, C755-C786.
36. Kapus, A., Szaszi, K., Kaldi, K. et al. (1991). Is the mitochondrial Ca^{2+} uniporter a voltage-modulated transport pathway? *FEBS Lett.*, 282, 61-64.
37. Bataille, N., Schmitt, N., Aumercier-Maes, P. et al. (1994). Molecular cloning of human calmitine, a mitochondrial calcium binding protein, reveals identity with calsequestrine, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 203, 1477-1482.
38. Shoffner, J.M. & Wallace, D.C. (1995). In *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. Scriver, C.R. et al. eds., 7th ed. (McGraw-Hill, New York), p. 1535.
39. Engel, W.K., Cunningham, C.G. (1963). Rapid examination of muscle tissue: an improved trichrome stain method for fresh frozen biopsy sections, *Neurology*, 13, 919-923.
40. Shoffner, J.M., Wallace, D.C. (1994). Oxidative phosphorylation diseases and mitochondrial DNA mutations: diagnosis and treatment, *Annu. Rev. Nutr.*, 14, 535-568.
41. Wallace, D.C., Singh, G., Lott, M.T. et al. (1988). Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy, *Science*, 242, 1427-1430.
42. Novotny, E.J.J., Singh, G., Wallace, D.C. et al. (1986). Leber's disease and dystonia: a mitochondrial disease. *Neurology*, 36, 1053-1058.
43. Shoffner, J.M., Lott, M.T., Lezza, A.M. et al. (1990). Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERFF) is associated with a mitochondrial DNa Trna (Lys) mutation, *Cell*, 61, 931-937.
44. Goto, Y., Nonaka, I. & Horai, S. (1990). A mutation in the tRNA (Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies, *Nature*, 348, 651-653.
45. Pavlakis, S.G., Phillips, P.C., DiMauro, S. et al. (1984). Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and strokelike episodes: a distinctive clinical syndrome, *Ann. Neurol.*, 16, 481-487.
46. Rowlann, L.P. (1983). Molecular genetics, pseudogenetics and clinical neurology, *Neurology*, 33, 1179-1185.
47. Shoffner, J.M., Wallace, D.C. (1990). Oxidative phosphorylation diseases. Disorders of two genomes, *Adv. Hum. Genet.*, 19, 267-294.
48. Goto, Y., Itami, N., Kajii, N. et al. (1990). Renal tubular involvement mimicking Bartter syndrome in a patient with Kearns-Sayre syndrome, *J. Pediatr.*, 116, 904-910.
49. Mornes, C.T., DiMauro, S., Zeviani, M. et al. (1989). Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome, *New. Engl. J. Med.*, 320, 1293-1299.
50. Pearson, H.A., Lobel, J.S., Koconhis, S.A. et al. (1979). A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and defective exocrine pancreatic function, *J. Pediatr.*, 95, 976-985.
51. Rotig, A., Calonna, M., Blanche, S. et al. (1989). Mitochondrial DNA deletions in Pearson's marrow/pancreas syndrome, *Lancet*, 1, 902-903.
52. Luft, R., Ikkos, D., Palmieri, G. et al. (1962). A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical and morphological study, *J. Clin. Invest.*, 41, 1776-1804.
53. Muller-Hocker, J. (1989). Cytochrome-c-oxidase deficient cardiomyocytes in the human heart - an age-related phenomenon, *Am. J. Pathol.*, 134, 1167-1173.
54. Trounce, I., Byrne, E. & Marzuki, S. (1989). Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function : possible factor in ageing, *Lancet*, 1, 637-639.
55. Yen, T.C., Chen, Y.S., King, K.L. (1989). Liver mitochondrial respiratory functions decline with age, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 165, 944-1003.
56. Corral-Debrinski, M., Stepien, G., Shoffner, J.M. et al. (1991). Hypoxemia is associated with mitochondrial DNA damage and gene induction, *J. Am. Med. Ass.*, 266, 1812-1816.
57. Ames, B.N. (1989). Endogenous DNA damage as related to cancer and ageing, *Mutat. Res.*, 214, 41-46.
58. Gaubatz, I.W. (1990). Extrachromosomal circular DNA's and genome sequence plasticity in eukaryotic cells, *Mutat. Res.*, 237, 271-292.
59. Shoffner, J.M., Brown, M.D., Torroni, A. et al. (1993). Mitochondrial DNA variants observed in Alzheimer disease and Parkinson disease patients, *Genomics*, 17, 171-185.
60. Shoffner, J.M., Watts, R.L., Juncos, J.L. et al. (1991). Mitochondrial oxidative phosphorylation defects in Parkinson's disease, *Ann. Neurol.*, 30, 332-339.
61. Gerbitz, K.D. (1992). Does the mitochondrial DNA play a role in the development of diabetes? *Diabetologia*, 35, 1181-1186.
62. Gerbirtz, K.D., Gempel, K. & Brdiczka, D. Mitochondria and diabetes: Genetic, biochemical and clinical implications of the cellular eneFrgy circuit, *Diabetes*, 45, 113-126.
63. Nicotera, P., Bellomo, G., Orrenius, G. (1990). The role of Ca^{2+} in cell killing. *Chem. Res. Toxicol.*, 3, 484-494.
64. Rim, D.S., Altschuld, R.A., Ganote, C.E. (1990). Effects of calcium depletion and loading on injury during metabolic inhibition of isolated adult rat myocytes, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 22, 227-237.
65. Di Lisa, F., Blank, P.S., Colonna, R. et al. (1995). Mitochondrial membrane potential in single living adult rat cardiac myocytes exposed to anoxia or metabolic inhibition, *J. Physiol.*, 486, 1-13.
66. Pastorino, J.G., Snyder, J.W., Serroni, A. et al. (1993). Cyclosporin and carnitine prevent the anoxic death of cultured hepatocytes by inhibiting the mitochondrial permeability transition, *J. Biol. Chem.*, 268, 13791-13798.
67. Beal, M.F., Hyman, B.T., Koroshetz, W. (1993). Do defects in mitochondrial energy metabolism underlie the pathology of neuro-degenerative diseases, *Trends Neurosc.*, 16, 125-131.
68. Newmeyer, D.D., Farschon, D.M., Reed, J.C. (1994). Cell-free apoptosis in Xenopus egg extracts: inhibition by Bcl-2 and requirement for an organelle fraction enriched in mitochondria, *Cell*, 79, 353-364.
69. Marchetti, P., Susin, S.A., Decaudin, D. et al. (1996). Apoptosis-associated derangement of mitochondrial function in cells lacking mitochondrial DNA, *Cancer Res.*, 56, 2033-2038.
70. Karmazyn, M. (1991). Ischemic and reperfusion injury in the heart. Cellular mechanisms and pharmacological interventions, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 69, 719-730.
71. Allen, S.P., Darley-Usmar, V.M., McCormack, J.G. et al. (1993). Changes in mitochondrial matrix free calcium in perfused rat hearts subjected to hypoxia-reoxygenation, *J. Mol. Cell Cardiol.*, 25, 949-958.
72. Cross, D.B., Halliwell, B., Borish, E.T. et al. (1987). Oxygen radicals and human disease, *Ann. Intern. Med.*, 107, 526-545.
73. Vercesi, A.E., Hoffmann, M.E. (1993). Generation of reactive oxygen metabolites and oxidative damage in mitochondria: role of calcium, *Methods Toxicol.* 2, 256-265.