

Alternativní genom

Mitochondriální DNA a její praktické důsledky

[Robert Pytlík](#)

Publikováno: Vesmír 75, 553, [1996/10](#)

Obor: [genetika](#)

Dokonalá organizovanost tzv. vyšší (též eukaryontní) buňky se projevuje existencí řady buněčných organel, které zajišťují její životní pochody. Mezi nejzajímavější z nich patří jistě mitochondrie ([obrázek](#)). Dvojitá mitochondriální membrána jednak udržuje v mitochondriích specifické mikroprostředí odlišné od okolní cytoplazmy, jednak poskytuje povrch, na němž může probíhat řada biochemických pochodů včetně toho nejdůležitějšího, jímž je proces buněčného dýchání – oxidativní fosforylace.

Mitochondrie – užiteční nájemníci

Mitochondrie jsou známy již od konce 19. století, jejich výzkum se však začal rychleji rozvíjet až po roce 1948, kdy se prvně zdařila jejich izolace z živých buněk. V průběhu poznávání struktury a funkce mitochondrií se zjistilo, že tyto organely obsahují svůj vlastní genetický systém, svou vlastní DNA, jejíž struktura i funkce jsou do značné míry odlišné od velkého genomu jaderného.

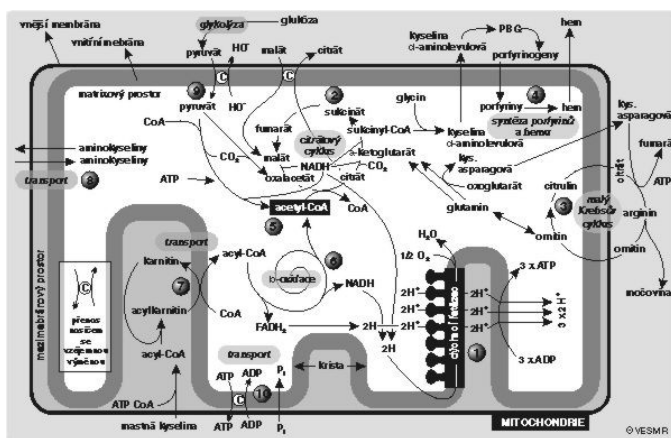


Schéma metabolismu mitochondrií

- **DÝCHACÍ ŘETĚZEC.** Jde o soubor enzymů, které umožňují přenos vodíku z redukováného NADH (nikotinamidadeninnukleotidu) na kyslík za vzniku H₂O. Dýchací řetězec dokáže přijímat i vodík z redukováného FADH₂ (flavinadenindinukleotidu) nebo ze sukcinátu. Ve všech případech se během přenosu vodíku na kyslík uvolňuje energie, která je použita k syntéze ATP (tzv. oxidativní fosforylace). Uvedené substráty (NADH, FADH₂) vznikají zejména ve velkém Krebsově (citrátovém) cyklu, ale i v jiných procesech intermediárního metabolismu (viz níže).
- **VELKÝ KREBSŮV (CITRÁTOVÝ) CYKLUS.** Zajišťuje substráty (NADH a FADH₂) pro oxidativní fosforylaci. Acetylový zbytek je z vazby na koenzym A přenesen na oxalacetát za vzniku citrátu. Citrát je potom přes jednotlivé meziprodukty degradován zpět na oxalacetát, přičemž dochází k přenesení vodíku na oxidované formy enzymů NAD⁺ a FAD a za vzniku jejich redukováných forem NADH a FADH₂ se uvolňují 2 molekuly CO₂ popsáného dýchacího řetězce.
- **MALÝ KREBSŮV CYKLUS.** Cyklus syntézy močoviny ze dvou molekul amoniaku a jedné molekuly oxidu uhličitého. Jde o energeticky náročný proces, při němž se spotřebovává ATP a který probíhá přes řadu

meziproduktů, jimiž jsou převážně aminokyseliny (ornithin, citrulin, arginin). Močovina se uvolňuje při přeměně argininu na ornithin.

- SYNTÉZA PORFYRINŮ A HEMU. Jde o syntézu krevního barviva z aminokyselin glycinu a alaninu a ze sukcinylu-CoA. Jde o osmistupňový proces, který probíhá z poloviny v cytoplazmě, z druhé poloviny v mitochondriích.
- PŘEMĚNA RŮZNÝCH SUBSTRÁTŮ NA ACETYL-KOENZYM A (ACETYL-COA). Jde o převedení cukrů a tuků na společného jmenovatele, jímž je kyselina octová ve vazbě na nosič (koenzym A), který umožňuje její mnohostranné užití v biochemických pochodech, zejména při přeměně substrátů na energii. Acetyl-CoA pak vstupuje do velkého Krebsova (citrátového) cyklu, jak naznačeno výše.
- PŘEMĚNA MASTNÝCH KYSELIN V PODOBĚ ACYL-COA NA ACETYL-COA, který pak vstupuje do Krebsova cyklu. V průběhu této přeměny rovněž vzniká NADH jako substrát pro oxidativní fosforylaci.

7.,8.,9. Jde o transportní mechanismy, dopravující do mitochondrie mastné kyseliny v podobě acyl-CoA (vázaného na karnitin), pyruvát jako produkt anaerobní glykolýzy a aminokyseliny.

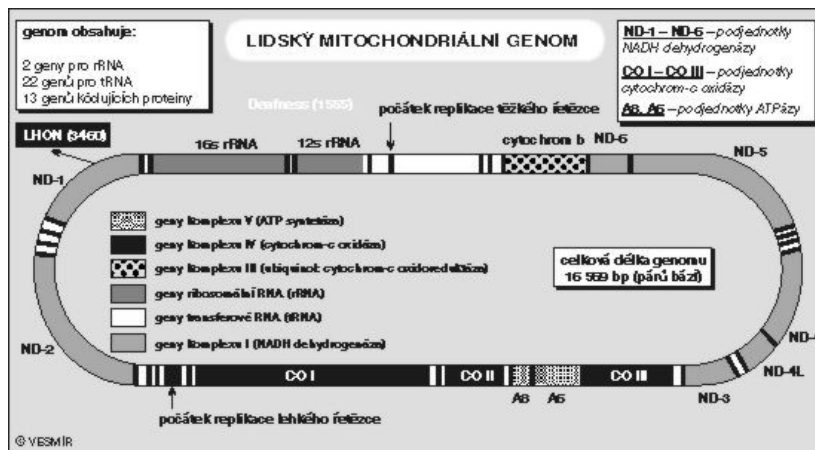
10. Transportní mechanismus dopravující vzniklou ATP z mitochondrie do cytoplazmy.

Jedinou další organelou, která s mitochondriemi tuto výsadu sdílí, je chloroplast. Mitochondrie a chloroplasty jsou pokládány za potomky původně nezávislých prokaryontních buněk, které byly „zabudovány“ do pravěkých buněk eukaryontních zhruba před 1,5 miliardy let. Podle tzv. endosymbiotické hypotézy utvořily dříve anaerobní eukaryontní buňky v průběhu svého vývoje oboustranně výhodné spojení s aerobní bakterií. Mitochondrie a chloroplasty tedy poskytují důkazy o tom, že dýchání i fotosyntéza byly původně bakteriálními „vynálezy“.

Mitochondrie se patrně vyvinuly z purpurových bakterií, které svou schopnost fotosyntézy v dalším vývoji ztratily. Do společného soužití s vývojově dokonalejší eukaryontní buňkou však přinesly schopnost aerobního metabolismu, který umožňuje mnohonásobně efektivnější využití energetických substrátů než metabolismus anaerobní (viz slovníček). Eukaryontní buňka navíc využila rozsáhlých ploch mitochondriální membrány k tomu, aby na ně přenesla část své vlastní biochemické „agendy“. Na oplátku za tyto služby zajistila mitochondriím „servis“ umožňující jejich rozmnožování a proteosyntézu.

Vlastní DNA nezajišťuje mitochondriím samostatnost

Genomy mitochondrií jsou většinou kruhové molekuly DNA, pouze mitochondrie některých prvoků a zelených řas mají DNA lineární. Rostlinné mitochondrie obsahují větší molekuly DNA než živočišné. Mitochondriální DNA živočichů se skládá ze 16 – 19 tisíc párů bází, rostlinné cca ze 150 – 2 500 tisíc. V každé mitochondrii existuje několik kopií jedné a téže molekuly DNA.



Zjednodušené schéma genomu lidské mitochondrie

Lidské mitochondrie se svými vlastnostmi nijak podstatněji neliší od mitochondrií jiných živočichů. Lidský mitochondriální genom obsahuje 16 569 párů bází a je schematicky znázorněn na [obrázku](#). Pohledem na toto schéma si můžeme uvědomit některá důležitá fakta. Lidská mitochondriální DNA kóduje pouze 13 proteinů (vesměs enzymů oxidativní fosforylace) 22 transferové a 2 ribozomální RNA. Jak již bylo řečeno výše, ostatní biochemické pochody byly na mitochondriální membrány přeneseny dodatečně a potřebné enzymy jsou tedy kódovány v buněčném jádře. Jejich syntéza je do značné míry tkáňově specifická – např. tzv. „malý Krebsův cyklus“ syntézy močoviny probíhá jen v některých tkáních, především v játrech. Mitochondrie orgánů, které nevytvářejí močovinu, enzymy malého Krebsova cyklu neobsahují.

Ze schématu uvedeného na [obrázku](#) dále vyplývá, že mitochondriální genom nekóduje žádný z enzymů nutných k proteosyntéze. V praxi to znamená, že ani zmíněné proteiny oxidativní fosforylace by nebyly mitochondrie schopny syntetizovat, nebýt pomoci „shůry“. Buněčné jádro kóduje více než 90 enzymů, které jsou k mitochondriální proteosyntéze nezbytné. Dokonce existuje jakási jaderně-mitochondriální zpětná vazba – dojde-li k zablokování mitochondriální proteosyntézy, výsledkem je nadprodukce příslušných enzymů, čímž se organizmus pokouší vzniklý blok překonat.

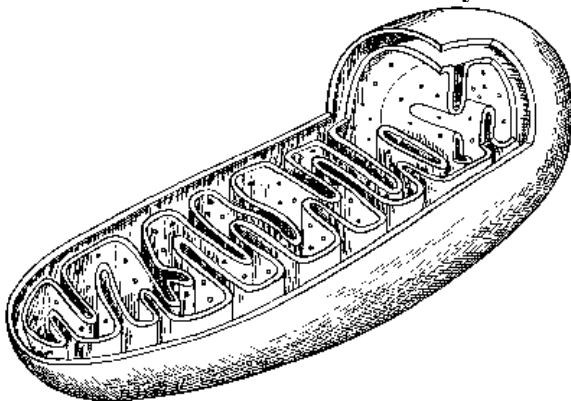
Nejen většina mitochondriálních bílkovin, ale dokonce i lipidy, které tvoří mitochondriální membrány, jsou vytvářeny v cytoplasmě a pod dohledem jádra. Takto se tedy jádro podílí jak na regulaci činnosti, tak na rozmnožování mitochondrií (aby se mohla mitochondrie rozdělit, musí pochopitelně nejprve zdvojnásobit svůj objem). Důvody tohoto podivuhodného uspořádání nejsou zcela jasné, mají však svůj praktický dopad, o němž se ještě zmíníme.

Rozmnožování mitochondrií se řídí zákony populační genetiky

I přes uvedenou závislost na jádře je rozmnožování mitochondrií unikátní záležitostí, která je s dělením jejich hostitelské buňky svázána jen velmi volně. Mitochondrie se sice rovněž množí dělením, to však probíhá značně odlišně od dělení buněčného. Jak již bylo

zmíněno, každá mitochondrie obsahuje několik molekul DNA (2 –10), které se při dělení vcelku náhodně rozptýlí do obou mitochondrií dceřiných. To by nevadilo, pokud by všechny tyto molekuly DNA byly stejné (shodnost všech molekul mitochondriální DNA v jedné buňce se nazývá homoplazmie). Mitochondriální DNA však podobně jako DNA jaderná podléhá mutacím. Mutace mitochondriální jsou dokonce asi 10krát častější než mutace jaderné, patrně proto, že mitochondrie na rozdíl od jádra nevlastní ani aparát ochranný (histony), ani aparát schopný všechny vzniklé chyby opravit. Jestliže v buňce vedle sebe existují normální i mutovaná mitochondriální DNA, hovoříme o tzv. heteroplazmii. Při dělení mateřské mitochondrie může dojít k rovnoměrnému rozdělení normální i mutované DNA, takže obě vzniklé mitochondrie mohou pracovat zcela normálně. Jestliže se však oba druhy DNA rozdělí nerovnoměrně, může dojít k tomu, že část populace mitochondrií v dané buňce je nefunkční. Stejně tak i při dělení buňky se v jedné dceřiné buňce může nahromadit takové množství nefunkčních mitochondrií, že je vážně ohrožen život buňky, orgánu či celého jedince. Na druhé straně může dojít k tomu, že ani letální mutace nemusí za jistých okolností (nízký podíl mutované DNA, příznivé rozdělení zdravých a dysfunkčních mitochondrií) vést k poškození buňky, orgánu či organismu. Toto jsou ale zásady dobře známé například z lidské populační genetiky – i zde se mohou letální či semiletální geny při nízké frekvenci udržovat v genofondu populace, aniž způsobí vážnější škody, zatímco jisté specifické situace (příbuzenské sňatky) mohou vést v určitém regionu k nahromadění vzácných genetických chorob.

Mitochondriální Eva aneb všechny mitochondrie v našem těle pocházejí od matky



Základní „kostru“ mitochondrie tvoří dvě plazmatické membrány, vnější hladká a vnitřní trubicovitě nebo častěji lamelovitě (viz obrázek) zvrásněná. Zvrásněním povrchu je silně zvětšena celková plocha vnitřní membrány, a tudíž i prostor pro membránové enzymy, které zajišťují buněčné dýchání.

Až dosud jsme hovořili pouze o rozmnožování buněk, nikoli o rozmnožování celých organismů. Omezíme-li své úvahy pro jednoduchost na vyšší živočichy, pak z hlediska mitochondrií nejsou vajíčko a spermie rovnocennými partnery. Vajíčko totiž obsahuje podstatně více cytoplazmy, a tedy i více mitochondrií než spermie. I zde tedy dochází k porušení zásad mendelovské genetiky. Extrémní případ nastává právě u člověka, jehož spermie neobsahují ani jedinou mitochondrii. Všechny, které máme, jsme zdědili od matky. To má dvojí důsledek: Za prvé, choroby mitochondrií se většinou dědí pouze po mateřské linii. Píšu většinou, protože výše uvedená dominance jádra má za následek, že některé mitochondriální nemoci (např. chronická progresivní zevní oftalmoplegie) se přenášejí autozomálněm způsobem. Za druhé, fakt, že veškeré mitochondrie pocházejí od matky, spolu s neobyčejnou frekvencí mitochondriálních mutací, vedl k zajímavé koncepci tzv. „mitochondriální Evy“. R. L. Cannová, M. Stoneking a A. C. Wilson uveřejnili r. 1987

v časopise Nature rozbor mitochondriálních genomů lidí z různých populací. Na základě tohoto rozboru a na základě odhadu frekvence mutací vyslovili hypotézu, že všechno lidstvo pochází z jediné matky, která žila v Africe zhruba před 180 – 240 tisíci lety. Tato zajímavá teorie má ovšem své vady – např. jednou ze základních tezí je předpoklad, že všechny mitochondrie jednoho konkrétního jedince jsou stejné. Jak jsme si ukázali, nemusí tomu tak být. Citovaný článek totiž vyšel rok před objevem prvního onemocnění způsobeného mutací mitochondriální DNA, a tudíž patrně dříve, než byly formulovány pojmy homoplazmie a heteroplazmie. Změny mitochondriálního genomu tedy mohou být podstatně rychlejší, než se domnívají autoři, což budí pochybnost především o správnosti uvedených časových odhadů.

Neurologické příznaky mitochondriálních chorob tabulka č. 1	
<ul style="list-style-type: none"> - obrna okohybných svalů - mozková mrtvice u mladého člověka - křeče - poškození zrakového nervu - svalové poškození - únava, neschopnost fyzické zátěže - ataxie (porucha koordinace pohybů) - demence - periferní neuropatie (poškození nervů) - kalcifikace (zvápenatění) bazálních ganglií 	
Projevy mitochondriálního poškození jiných orgánů	
<ul style="list-style-type: none"> - poruchy vedení srdečního vzruchu (např. Wolf-Parkinson-Whiteův syndrom) - onemocnění srdečního svalu (kardiomyopatie) - diabetes mellitus (cukrovka) - šedý zákal - laktátová acidóza - poškození ledvinných klubiček (glomerulů) - poškození sluchu - poškození jater - poškození slinivky břišní - intestinální pseudoobstrukce (porucha pasáže trávicím systémem bez zjevně definované překážky) - epizodické zvracení (může a nemusí souviset s intestinální pseudoobstrukcí) - pancytopenie (nedostatek všech krevních elementů – bílých i červených krvinek i krevních destiček) - deprese 	© VESMIR
<i>Upraveno z The New England Journal of Medicine</i>	

Neznámá nemoc známého sportovce

Uvážíme-li rychlost, s níž mitochondriální mutace probíhají, a důležitost, kterou má oxidativní fosforylace pro život organismu, je zvláštní, že choroby způsobené mutací mitochondriální DNA jsou popisovány až od r. 1988. Nejprve vzbuzovala pozornost převážně vzácná nervosvalová onemocnění, dědicí se po matce. Klasickým příkladem takové choroby je Leberova dědičná optická neuropatie, nemoc charakterizovaná vedle svého zvláštního typu dědičnosti především pozvolnou, nebolestivou ztrátou zraku, výpadky středu zorného pole a poruchami barevného vidění. I u této choroby se však projevuje dominance buněčného jádra nad mitochondriemi – onemocnění se sice přenáší po matce, ale je častější u mužů, což vedlo k hypotéze regulačního genu na chromozomu X. Posléze byla popsána řada onemocnění, která postihují kromě nervů a svalů i další orgány, jejichž funkce

je náročná na energii – játra, slinivku břišní, srdce či ledviny. Od té doby se zkoumání „alternativního genomu“ rozvinulo v nejdynamičtější odvětví molekulární genetiky. Byla objevena řada příznaků, které za jistých okolností mohou na poruchu mitochondrií upozornit ([obrázek](#)). Lékaři začali na onemocnění mitochondrií pomýšlet zejména u pacientů, kde se uvedené příznaky kombinují, což vedlo k definování dalších klinických jednotek ([obrázek](#)). Ke zvýšení zájmu o tyto choroby jistě přispělo i oznámení trojnásobného vítěze Tour de France, amerického cyklisty Grega LeMonda, který uvedl mitochondriální myopatii jako příčinu předčasného ukončení své závodní kariéry. (V zájmu objektivity je však nutno dodat, že tato diagnóza byla později bývalým LeMondovým lékařem zpochybněna.)

O nutnosti „vnitřní ekologie“ aneb získané poruchy mitochondriálního genomu

Zároveň s popisem vrozených chorob mitochondrií se začala pozornost lékařů obracet i dalším směrem. Postupné hromadění mutací mitochondriálního genomu s následnou poruchou funkce bylo označeno za možnou příčinu Alzheimerovy či Parkinsonovy nemoci a jiných tzv. degenerativních chorob stáří. Zvýšený zájem o získané poruchy mitochondriální DNA však vyvolalo onemocnění z nejpůvodnějších – aids.

Dosud užívané antivirové přípravky slouží většinou jako substráty virové DNA polymerázy či reverzní transkriptázy, jsou zabudovány do virového genomu a vedou k poruše replikace viru. Základním předpokladem léčebného užití těchto sloučenin je to, že nebudou poškozovat genom lidský. Ten byl většinou ztotožňován s genomem jaderným a mitochondrie z těchto úvah, alespoň zpočátku, poněkud vypadly. Až r. 1990 byla popsána první skupina nemocných aidsem, u nichž se po aplikaci zidovudinu rozvinula zvláštní forma myopatie, charakterizovaná mimo jiné poškozením svalových mitochondrií. Dalším zkoumáním bylo zjištěno, že zidovudin se může včlenit nejen do virové, ale i do mitochondriální DNA, kde způsobuje předčasné ukončení jejího řetězce. Následuje porucha syntézy enzymů oxidativní fosforylace a v jejím důsledku se rozvíjí zmíněné onemocnění. Stejně tak i nežádoucí účinky dalších léků proti aidsu – neuropatie způsobená zalcitabinem a zánět slinivky, který se vyskytuje až u 23 % pacientů léčených didanosinem – mají podklad v poruchách mitochondriální DNA. Doslova malou epidemií mitochondriální hepatopatie (poškození jater) způsobil lék fialuridin, zamýšlený k léčbě chronické hepatitidy B. Z 15 pacientů, kteří tento lék užívali po dobu půl roku, pět zemřelo na jaterní selhání a dvěma dalším zachránila život pouze neprodlená transplantace jater. Všechny popsané případy obrátily pozornost virologů i k mitochondriálnímu genomu. Poslední zpráva hovoří o tom, že nově zkoušený lék proti aidsu – lamivudin – nezpůsobuje žádné poškození mitochondrií, což odpovídá minimu nežádoucích účinků, které vyvolává u pacientů.

Co s tím?

Citlivost mitochondrií na zásahy do lidského organismu a vůbec citlivost mitochondrií by nás neměla příliš překvapit – koneckonců, jsou to jen bakterie a nemusí vydržet všechno, co vydržíme my. Můžeme ale těmto přátelským bakteriím jejich úděl nějak ulehčit? Můžeme včas zjistit, že jsou poškozené, a můžeme se pokusit o jejich (a vlastně i o naše) uzdravení?

Detegovat poškození mitochondrií již umíme a můžeme toho využít v genetickém poradenství některých vrozených chorob. Není přitom potřeba odebírat vzorek orgánu, kterého se onemocnění týká. Většinou je možné získat potřebné informace z mitochondrií bílých krvinek. Léčba pacientů s mitochondriálními chorobami se zatím potýká se stejnými problémy jako celá tzv. genová terapie. V zásadě jde o to, abychom dokázali poškozenou

mitochondrii (či její poškozený gen) „opravit“, vrátit ji zpátky do těla pacienta a zajistit, aby postupně „zabydlela“ dostatečné množství buněk daného orgánu. Vezmeme-li v úvahu rychlost, s jakou se toto relativně nové odvětví molekulární genetiky rozvíjí, na konkrétní výsledek bychom již nemuseli čekat příliš dlouho.

Slovníček nejdůležitějších pojmů

Aerobní a anaerobní metabolismus – anaerobní metabolismus probíhá i bez přísunu kyslíku, zatímco k aerobnímu metabolismu je třeba kyslík. Rozdíl v energetické efektivitě obou postupů je značný – při anaerobním rozštěpení jedné molekuly glukózy je možno získat pouze 2 molekuly ATP, při jejím aerobním rozštěpení 38 molekul!

Autozomální dědičnost – druh jaderné dědičnosti, kdy je příslušný gen umístěn na nepohlavním chromozomu (tj. jiném, než X,Y – na rozdíl od dědičnosti gonozomální).

Eukaryontní buňka – tzv. vyšší, dokonaleji organizovaná buňka, obsahující jádro a organely. Patří sem buňky všech organizmů od prvoků výše.

Laktátová acidóza – porucha vnitřního prostředí, vzniklá nadbytkem kyseliny mléčné (laktátu) v séru. Kyselina mléčná vzniká při anaerobní glykolýze (viz výše), při oxidativním metabolismu je rychle odstraňována. Poškození mitochondrií může vést k poruchám oxidativního metabolismu a tím i k poruchám odstraňování kyseliny mléčné.

Myopatie – velmi různorodá skupina onemocnění příčně pruhovaných (kosterních) svalů. Bez ohledu na příčinu onemocnění dochází většinou k poškození a zániku svalových vláken a nakonec k jejich náhradě vazivovou tkání.

Neuropatie – rovněž různorodá skupina onemocnění míšních a hlavových nervů. Většinou jde o nemoci degenerativní (nezánětlivé) povahy.

Organela – buněčný „orgánek“ sloužící vyšší (eukaryontní) buňce k určitým specializovaným úkonům. Kromě mitochondrií a chloroplastů sem patří např. lyzozomy, endoplazmatické retikulum, Golgiho komplex a vlastně i samotné buněčné jádro. Nižší, tzv. prokaryontní buňky (např. bakterie) organely nemají.

Oxidativní fosforylace – proces buněčného dýchání, při němž je energie uvolněná oxidací živin užita k tvorbě adenosintrifosfátu (ATP). Štěpení ATP je snadné a energeticky velmi vděčné, proto většina energeticky náročných pochodů v organismu získává potřebnou energii právě štěpením ATP.

Prokaryontní buňka – tzv. nižší buňka. Neobsahuje jádro ani organely, DNA je volně „smotána“ v cytoplazmě a v cytoplazmě též probíhají veškeré metabolické pochody. Patří sem např. všechny bakterie.