

MITOHONDRIJI IN PEROKSISOMI

1. MITOHONDRIJI

Mitohondrijske membrane, Mitohondrijski matriks, mitohondrijski genom, Vnos proteinov v mitohondrije, Transport elektronov in oksidativna fosforilacija

2. PEROKSISOMI

Funkcija peroksisomov, Nastanek peroksisomov

Glavni pojmi v poglavju

Zunanja mitohondrijska membrana, porin, notranja mitohondrijska membrana, dihalna veriga, transport elektronov, oksidativna fosforilacija, ATP sintaza, medmembranski prostor, mitohondrijski matriks, Krebsov/citratni cikel, mitohondrijski genom, Tom in Tim kompleks, katalaza, plasmalogen, peroksini, Zellwegerjev sindrom

1. MITOHONDRIJI – ENERGETSKE CENTRALE CELICE

Klinični primer:

Pri petih letih je navidezno zdrav fant pričel izgubljati sluh in popolnoma oglušel pri 18 letih. Pri 23 mu je pričel pešati vid, imel je katarakto, glaukom in propadanje retine. V naslednjih petih letih je prišlo do odpovedi ledvic. Umrl je pri 28 letih zaradi ledvične odpovedi in sistemske infekcije. Genetska analiza je pokazala napako v genu, vendar ne v jedrni DNA temveč v DNA mitohondrijev. Torej je šlo za mitohondrijsko dedno bolezen, kjer se bolezenski znaki najprej pokažejo na živčevju in mišičju, kasneje pa se razširijo na ostale organe.

V skoraj vseh evkariontskih celicah so mitohondriji področje v celici, kjer nastaja največji delež energetske bogatih molekul ATP. Za tvorbo ATP v mitohondrijih je potreben kisik. V odsotnosti kisika temelji nastajanje molekul ATP na procesu glikolize, ki je energetske mnogo manj učinkovita, saj iz ene molekule glukoze v procesu glikolize dobimo 2 molekuli ATP, v mitohondriju pa nastane na osnovi ene molekule glukoze 34 - 36 molekul ATP. Mitohondriji torej v aerobnih pogojih omogočajo bistveno bolj učinkovito izrabo hranil. Glikoliza kot samostojen način pridobivanja energije je v človeških celicah namenjena le ekstremnim razmeram, ko se v celičnem okolju začasno koncentracija kisika zmanjša pod kritično mejo.

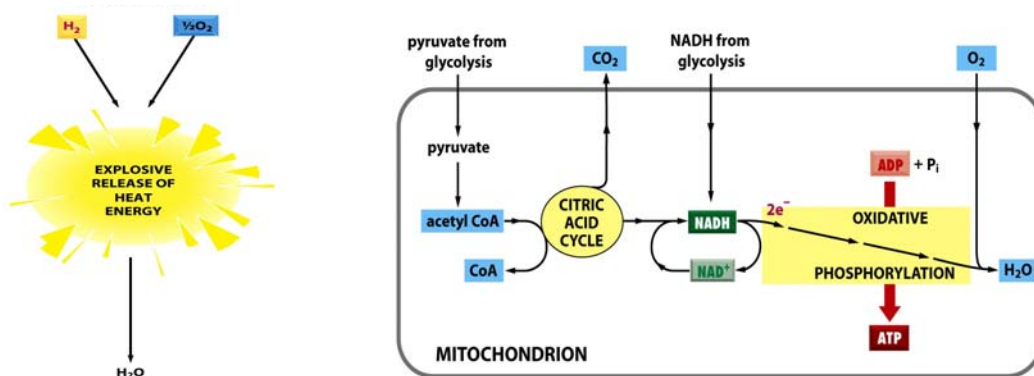
Struktura mitohondrija

Glavna strukturna posebnost mitohondrijev je prisotnost dveh funkcionalno in strukturno različnih membran: zunanje in notranje mitohondrijske membrane. Ti membrani predelujeta mitohondrij na dva kompartmenta: notranji matriks in medmembranski prostor. Vsaka mitohondrijska membrana in vsak mitohondrijski kompartment opravlja svojo specifično nalogo. Zunanja membrana s svojo veliko prepustnostjo olajša prehod ionov in metabolitov med mitohondrijem in citosolom. Zato se medmembranski prostor po kemijski sestavi ne razlikuje mnogo od citosola. Na notranji membrani pa so prisotni encimi dihalne verige in kompleks encimov, ki je neposredno udeležen v sintezi molekul ATP (ATP sintaza). Notranji predelek ali matriks mitohondrija vsebuje encime Krebsovega/citratnega cikla, mitohondrijske kromosome in aparat za sintezo lastnih beljakovin.

Dve membrani z različno sestavo in funkcijo

Zunanja mitohondrijska membrana vsebuje številne beljakovine iz skupine **porinov**. Te molekule tvorijo kanale, ki prepuščajo manjše molekule do velikosti 5kD, torej ione, metabolite in tudi manjše beljakovine. Zaradi prisotnosti porinov je omogočena hitra izmenjava snovi med medmembranskim prostorom in citosolom, kar poveča dostopnost metabolitov potrebnih za mitohondrij in oddajanje tistih, ki v mitohondriju nastajajo. Notranja membrana se od zunanje močno razlikuje tako po obliki, kot po sestavi. Notranja membrana je močno nagubana in oblikuje tako imenovane kriste, ki se iztezajo v matriks mitohondrija. Utežno razmerje proteinov proti lipidom v notranji membrani je 3:1, kar močno presega vsebnost proteinov v ostalih celičnih membranah, kjer je utežno razmerje med proteini in lipidi v povprečju 1:1. Večina proteinov notranje membrane je vključena v dihalno verigo in sintezo ATP ter transport metabolitov (n.pr. piruvata in maščobnih kislin) med citosolom in mitohondrijskim matriksom. Lipidni dvosloj vsebuje velik delež neobičajnega »dvojnega« fosfolipida – kardiolipina, ki vsebuje štiri maščobne kisline namesto dveh in tako prispeva k neprepustnosti membrane, predvsem za ione. Ta lastnost je pomembna predvsem pri vzpostavitvi gradienta protonov med matriksom in medmembranskim prostorom, ki poganja sintezo ATP.

Metabolni procesi v mitohondriju



SKICA: NASTAJANJE ENERGIJE V MITOHONDRIJU

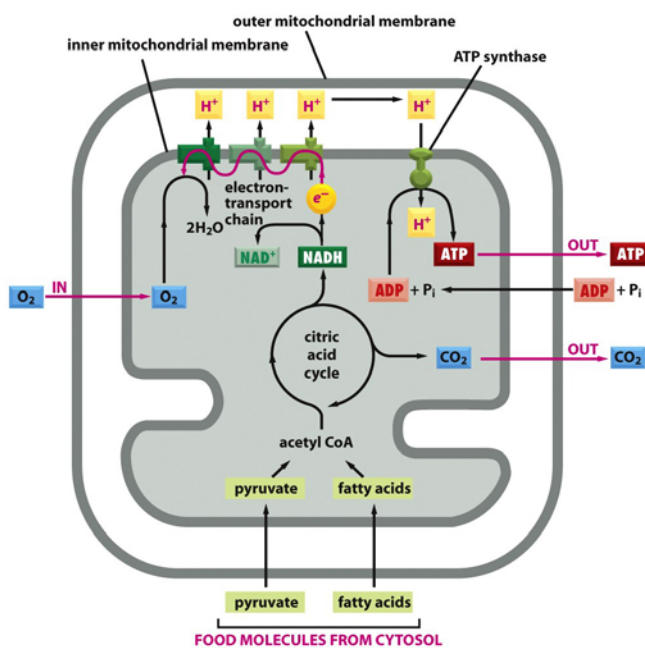
Živalske celice pridobijo večji del energije z oksidacijo sladkorjev in maščobnih kislin. Ob oksidaciji ogljikovih hidratov in maščobnih kislin se sprosti energija. Pri gorenju, kot najbolj poznani obliki oksidacije v neceličnih sistemih, se ta energija sprosti kot toplota. Sproščanje večje količine energije v obliki toplote bi bilo za celico lahko usodno, zato se ta energija v celici sprošča postopoma v manjših paketih. Celica to energijo shrani v energetsko bogati vezi med drugo in tretjo fosfatno skupino molekule ATP. V celicah poteka proces oksidacije ogljikovih hidratov in maščobnih kislin s postopnim prenosom elektronov iz ogljika na kisik. Večji del omenjene oksidacije poteka v mitohondrijih, vendar tako glukoza kot maščobne kisline potrebujejo predpripravo za vstop v procese pretvorbe energije v ATP. Predpriprava vključuje nastanek metabolita, ki je skupen razgradnji ogljikovih hidratov in maščobnih kislin. To je acetil koencim A, ki lahko nastane iz piruvata kot produkta razgradnje glukoze v procesu glikolize, ali pa v procesu beta-oksidacije maščobnih kislin v metabolizmu maščob. Metabolna energija nakopičena v molekulah acetil koencima A se v mitohondriju pretvori v ATP v dveh zaporednih procesih.

Prvi proces je **Krebsov/ citratni cikel** in poteka v matriksu mitohondrija (slika). V Krebsov/ citratni cikel vstopi molekula acetil koencima A, sestavljena iz dveh C atomov in se združi z oksalacetatom (4C atomi) ter nastane citrat (6C atomov – po tej molekuli se imenuje proces citratni cikel). V Krebsovem/ citratnem ciklu poteka oksidacija (natančneje dehidrogenacija) molekul. Hidridni ioni, sestavljeni iz protona in dveh elektronov ($H^- \rightarrow H^+ + 2e^-$) se preko prenašalcev NAD^+ in FAD odzamejo iz molekul udeleženih v Krebsovem/ citratnem ciklu in prenesejo do notranje mitohondrijske membrane. V Krebsovem ciklu nastanejo ob oksidaciji ene molekule acetil koencima A 3 molekule NADH, 1 molekula $FADH_2$ in 1 molekula GTP, ki se pretvori v ATP. Hkrati poteka tudi odstranitev dveh popolnoma oksidiranih C atomov ($2 CO_2$) iz molekul udeleženih v Krebsovem/ citratnem ciklu. Ta CO_2 se po difuziji iz celic s krvjo prenese do pljuč in ga izločimo z izdihnjanim zrakom.

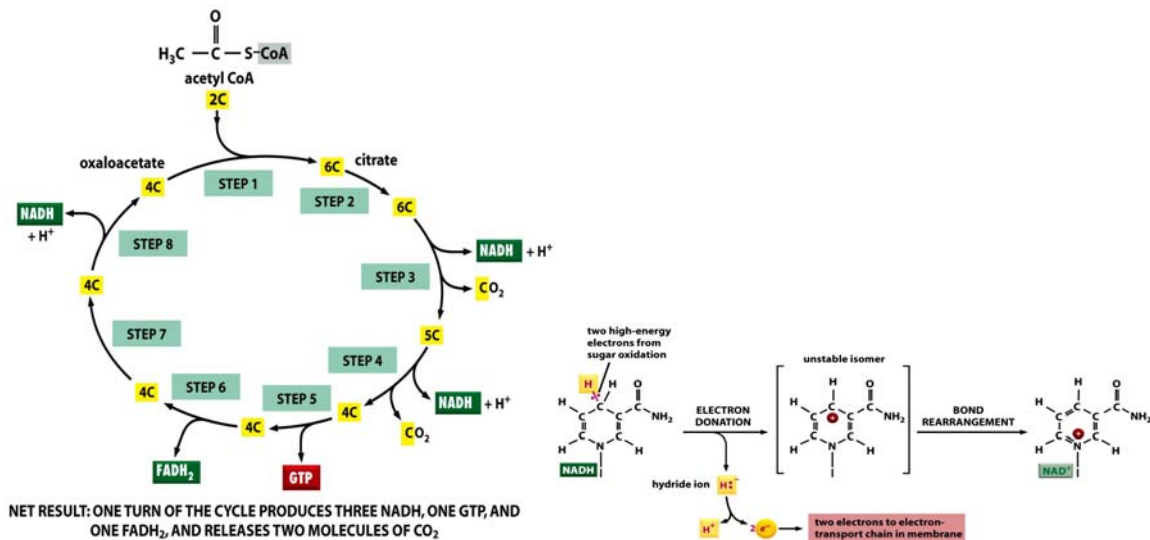
Drugi proces v tvorbi ATP se imenuje **dihalna veriga** in poteka na notranji membrani mitohondrija (slika). Elektroni hidridnih ionov, ki so jih iz Krebovega/citratnega cikla molekule NADH in $FADH_2$ prenesle do notranje mitohondrijske membrane, se v procesu dihalne verige prenesejo na kisik. Prenos elektronov poteka vzdolž vrste proteinskih kompleksov z naraščajočo afiniteto za elektrone (potencial E). Kisik kot končni sprejemnik elektronov ima v tej vrsti največjo afiniteto za elektrone. Transport elektronov poteka s pomočjo **proteinskih kompleksov I, III in IV kadar je prinašalec NADH, v primeru $FADH_2$ pa so udeleženi kompleksi II, III in IV**. Ta prenos elektronov vzdolž dihalne verige daje energijo za transport protonov iz matriksa mitohondrija v medmembranski prostor. Ob tem se koncentracija H^+ v matriksu zmanjša. Ker je notranja mitohondrijska membrana neprehodna za protone, se ob membrani vzpostavi koncentracijski gradient, ki predstavlja potencialno energijo za tvorbo glavne ATP v mitohondriju. Protoni se lahko prenesejo nazaj v matriks le skozi proteinske kanale. Kot takšen protonski kanal deluje **proteinski kompleks V**, ki je obenem **ATP sintaza**. Uvrščamo ga med F črpalke. Po svoji zgradbi je podoben protonski črpalki (V črpalka), le da deluje v obratni smeri. Protonska črpalka namreč troši energijo ATP zato, da potiska protone proti koncentracijskemu gradientu. Pri sintazi ATP pa protoni potujejo v smeri koncentracijskega gradienta in ob tem poganjajo sintezo ATP (skica).

Oba procesa, ki potekata na notranji membrani mitohondrija s skupnim imenom označujemo **oksidativna fosforilacija**. Termin združuje oksido-redukcijske reakcije, ki nastopajo v dihalni verigi in fosforilacijo ADP molekule na kompleksu ATP sintaze. Torej energija, ki se sprosti pri prenosu elektronov iz molekul NADH in FADH₂ na kisik (oksidaciji) se uporabi za fosforilacijo ADP v ATP.

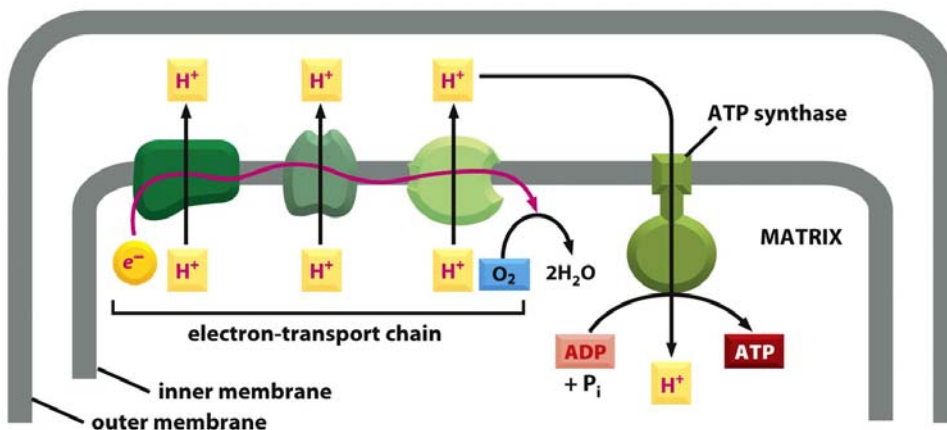
V matriksu mitohondrija nastanejo pri razgradnji ene molekule glukoze **32 ali 34 molekul ATP** molekule in **molekule vode**



SKICA: MESTO METABOLNIH PROCESV V MITOHONDRIJU

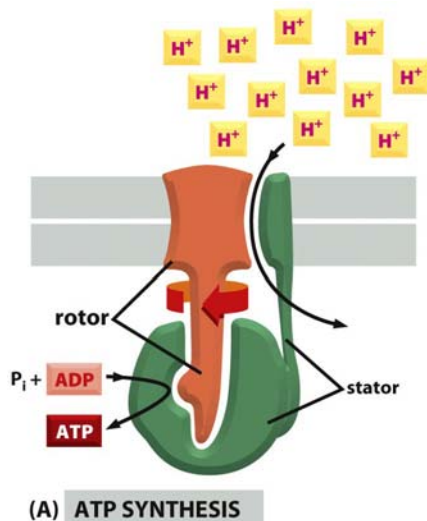


SKICA: CITRATNI (KREBSOV) CIKEL IN NADH V citratnem ciklu nastanejo pri vsakem obratu cikla **tri molekule NADH** in **ena molekula FADH₂**, ki se uporabijo v dihalni verigi, kjer poteka oksidativna fosforilacija. Hkrati nastane v citratnem ciklu **ena molekula GTP** iz katere nastane en ATP. Obenem se sprostita dve molekuli CO₂.



SKICA: OKSIDATIVNA FOSFORILACIJA sestavljena iz dihalne verige in sinteze ATP

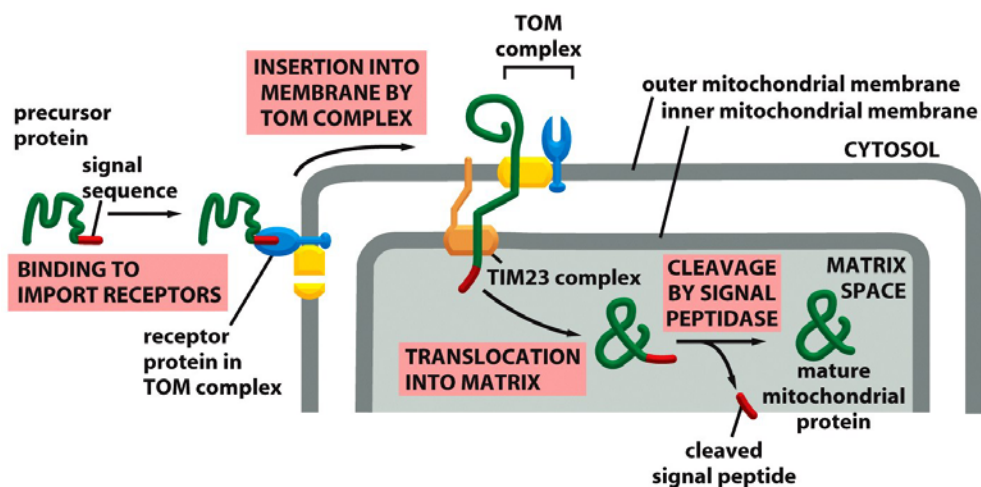
Na notranji membrani mitohondrija poteka proces dihalne verige, kjer se elektroni iz NADH in FADH₂ prenesejo na O₂ vzdolž vrste proteinskih kompleksov z naraščajočo afiniteto do elektronov (potencial). Transport elektronov poteka s pomočjo **proteinskih kompleksov I, III in IV pri NADH** ali **II, III in IV pri FADH₂**. Energija, ki se sprošča ob transportu elektronov se porablja za prenašanje protonov (H⁺) iz matriksa mitohondrija v medmembranski prostor. Pri prenosu enega elektrona od NADH do O₂ se prenesejo trije H⁺.



SKICA: SINTAZA ATP

Transport proteinov v mitohondrij

Zapis za večino proteinov, ki jih mitohondrij potrebuje nosi jedrna DNA in se torej sintetizirajo v citosolu. Za prenos proteinov skozi membrani ima mitohondrij komplekse proteinov **TOM** ki se nahaja v zunanji membrani (translocator of outer membrane) in kompleksa **TIM 22** in **TIM 23** (translocator of inner membrane) ki se nahajata v notranji mitohondrijski membrani. Proteinski kompleksi omogočajo vnos mitohondrijskih proteinov v tri področja mitohondrija: Zunanjo membrano, notranjo membrano in matriks. Za prenos proteinov so pogosto potrebni šaperoni (Hsp 70), ki ob uporabi ATP vzdržujejo delno razvito konformacijo proteinov, ki je nujna za prehod skozi membrano ali vgraditev v membrano.



SKICA: PRENOS PROTEINOV V MATRIKS MITOHONDRIJA

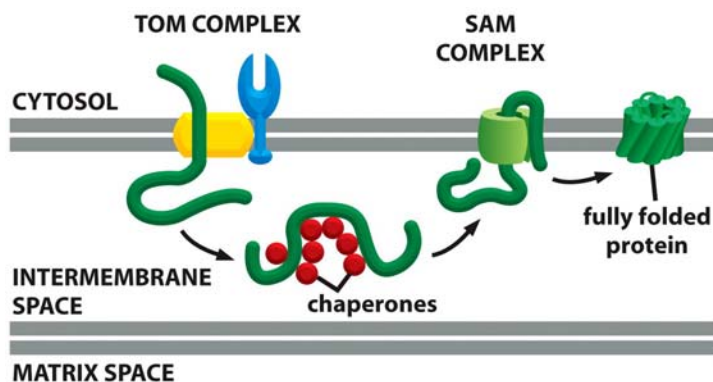
a) Prenos proteinov v matriks mitohondrija

S pomočjo sporočilnega zaporedja na aminokoncu proteina se protein namenjen v matriks mitohondrija pritrdi na receptor, ki je sestavni del kompleksa TOM. Nato ga translokatorski del kompleksa TOM prenese do notranje mitohondrijske membrane, kjer sporočilno zaporedje proteina najde kompleks TIM23. Oba kompleksa oblikujeta tunel skozi katerega se prerine protein v matriks, kjer mu signalna peptidaza odcepi sporočilno zaporedje in nastane zrel mitohondrijski protein.

b) Prenos proteinov v notranjo mitohondrijsko membrano

Notranja mitohondrijska membrana vsebuje množico različnih proteinov, ki v mitohondrij vstopajo na podoben način kot v matriks mitohondrija. Vgraditev v notranjo membrano omogočajo proteinski kompleksi kot so OXA in TIM 22.

c) Prenos porinov v zunanjo membrano.



SKICA: PRENOS PORINOV V ZUNANJO MEMBRANO MITOHONDRIJA

Najpogostejši proteini zunanje mitohondrijske membrane so porini, proteini ki v membrani tvorijo kanalček (poro), ki omogoča prepustnost za majhne molekule. S pomočjo sporočilnega zaporedja na aminokoncu proteina se protein namenjen v zunanjo membrano mitohondrija pritrdi na receptor, ki je sestavni del kompleksa TOM. Nato se protein prenese skozi translokatorski del TOMa v medmembranski prostor. Tam protein ujamejo šaperoni in mu omogočijo, da ga kompleks SAM vključi v zunanjo membrano in oblikuje v poro.

Dedni material in izvor mitohondrijev

Mitohondriji so po svoji obliki in velikosti podobni bakterijskim celicam. Torej so paličaste oblike, veliki od enega do nekaj μm . Vsebujejo tudi lasten dedni material, sistem za podvajanje dednega materiala, in samostojen sistem za sintezo lastnih beljakovin. Dedni material je urejen v krožne kromosome (vsak mitohondrij ima 2 do 10 kromosomov). Aparat za sintezo beljakovin je podoben prokariotskemu in se dovolj razlikuje od evkariontskega, tako da upravičeno sklepamo, da je mitohondrij nastal s simbiozo prokariotske celice z evkariontsko celico. To hipotezo so potrdili s sekvenčno analizo molekul DNA pri različnih prokariotih, evkariontih in mitohondrijih. Rezultati so razkrili presenetljive podobnosti med genomi mitohondrijev in genomi bakterij. Mitohondrijski genom je še posebno podoben

genomu bakterije iz skupine rikecij *Rickettsia prowazekii*. Rikecije so parazitski prokarionti, ki živijo v evkariontskih celicah in se lahko množijo le v tem okolju. Na osnovi sekvenčne analize molekul DNA so postavili domnevo, da imajo rikecije in mitohondriji skupnega prednika. Kljub podobnosti med mitohondrijem in bakterijo mitohondriji niso več samostojni organizmi. Sčasoma je namreč zapise za sintezo večine proteinov prokariontskega simbionta prevzelo jedro gostiteljske celice. Mitohondrijski genom v človeških celicah kodira le še 13 proteinov, ki so vključeni v transport elektronov in oksidativno fosforilacijo. Sinteza teh proteinov poteka na ribosomih v mitohondrijskem matriksu. Poleg tega mitohondrijska DNA kodira še rRNA in tRNA molekule, ki so potrebne pri prevajanju (translaciji) proteinov. Mitohondrijska DNA je slabše zaščitena od jedrne (nima histonov) in nima popravljalnih mehanizmov zato mnogo hitreje mutira. Tako so se nekatere regije mitohondrijske DNA tudi do 10 krat hitreje »razvijale« v primerjavi z jedrno DNA. Hitrost spreminjanja predelov mitohondrijske DNA je temelj za uporabo mitohondrijske DNA pri študiju sorodstvenih odnosov med ljudmi in ugotavljanju poteka migracij v človeški preteklosti. Mitohondrij ima tudi lastno dinamiko delitev, ki je le delno odvisna od delitve celice. Predvsem je odvisna od potreb celice po molekulah ATP. Celica lahko v področjih, kjer začuti primanjkljaj ATP molekul vzpodbudi namnožitev mitohondrijev.

Vpašanja za ponavljanje:

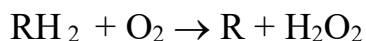
1. Kako in kje poteka proces oksidativne fosforilacije?
2. Kakšen je pomen Krebsovega cikla za nastanek molekul ATP?
3. Kako vstopajo proteini v mitohondrij?
4. Po čem se mitohondrijska DNA loči od jedrne?

2. PEROKSISOMI

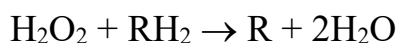
So kroglasti organeli, s premerom od 0.1 do 1.0 μm in se nahajajo v skoraj vseh evkariontskih celicah. Vsebujejo več deset različnih encimov, ki sodelujejo v dveh pomembnih procesih: **metabolizmu maščob** (sintezi in razgradnji) in v **detoksifikaciji** (razgradnji toksičnih molekul).

Naloge peroksisomov

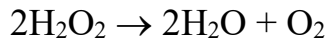
Ime so peroksisomom dale reakcije pri katerih encimi peroksidaze prenesejo 2 H^+ iz organskih molekul na kisik in pri tem nastane H_2O_2 .



V peroksisomih nastali vodikov peroksid se lahko porablja za razgradnjo določenih toksičnih molekul. Na primer 25% etanola se razgradi v jetrnih in ledvičnih peroksisomih.

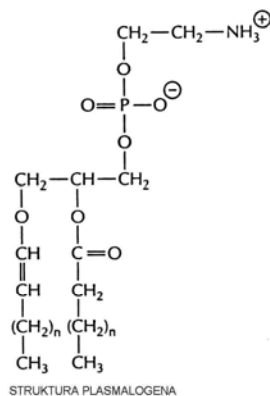


Odvečen H_2O_2 , ki je za celico toksičen, ker lahko oksidira proteine ali maščobne kisline membrane peroksisomov, se razgradi z najbolj značilnim encimom peroksisomov – katalazo. Nastaneta kisik in voda.



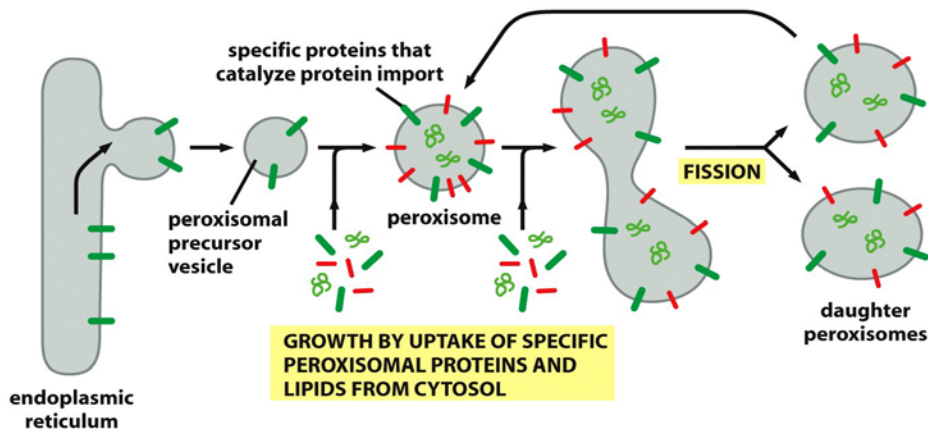
V peroksisomih poteka β -oksidacija pri kateri se od maščobnih kislin odcepljajo molekule z dvema ogljikoma (acetil koencim A), ki se prenesejo v citosol in uporabijo predvsem v biosintetskih reakcijah.

V peroksisomih poteka del sinteze lipidov. Med drugim nastaja poseben fosfolipid plazmalogen, ki je glavni fosfolipid mielinske ovojnice. Neaktivni encimi za tvorbo tega lipida vodijo v nepravilno delovanje živčevja. V peroksisomih poteka tudi del sintetske poti holesterola.



SKICA : ZGRADBA PLAZMALOGENA

Nastanek peroksisomov



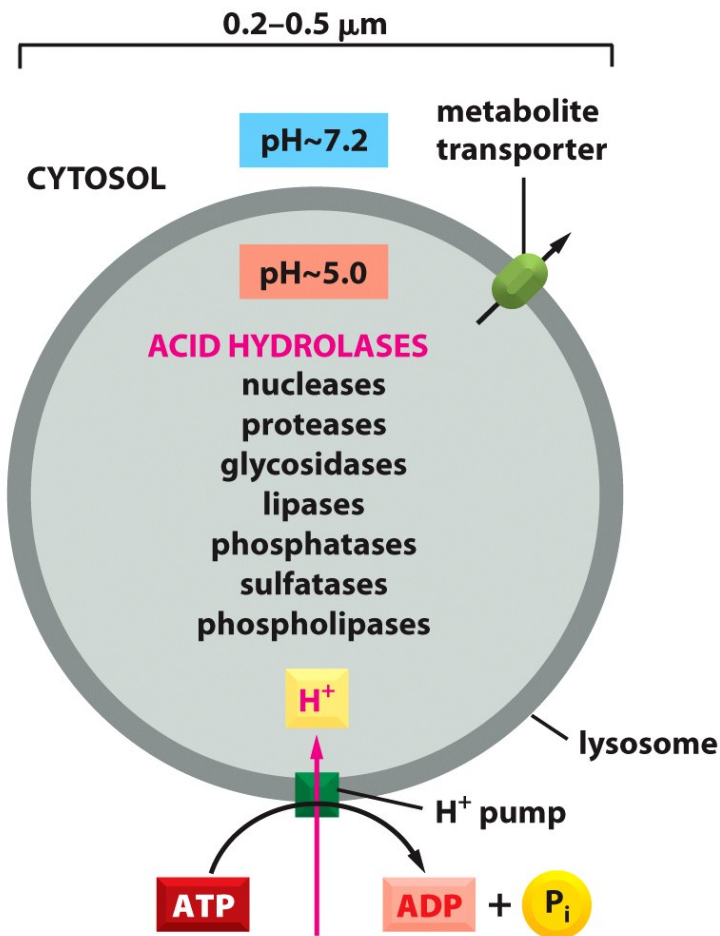
Nastanek peroksisomov je še slabo raziskan. Verjetno nastanejo iz dela ER. Vezikli, ki pri tem nastanejo nosijo prenašalne proteine **peroksine**, ki prenašajo nove peroksisomske proteine iz citosola v notranjost organela. Peroksisomski proteini nastajajo na prostih polisomih v citosolu in se zaradi posebne signalne sekvence prenesejo v notranjost peroksisomov ali v njihovo membrano. Peroksini za razliko od prenašalcev proteinov v mitohondrijih in ERu prenašajo proteine v nerazviti konformaciji. Mutacija peroksinov povzroči bolezen Zellwegerjev sindrom, za katerega je značilno, da peroksisomi ne vsebujejo encimov in so tako nefunkcionalni. Osebe s Zellwegerjevim sindromom imajo težje nepravilnosti v razvoju centralnega živčevja, ledvic in jeter in umrejo kmalu po rojstvu.

LIZOSOMI

Glavni pojmi v poglavju: kisle hidrolaze, lizosomska membrana, endocitoza, avtofagija, fagocitoza, M-6-P, bolezn vključkov, Tay-Sachsova bolezen.

Lizosomi so kroglasti organeli, ki vsebujejo encime za razgradnjo več ali manj vseh vrst bioloških makromolekul – proteinov, nukleinskih kislin, ogljikovih hidratov in lipidov. V lizosomih se razgrajujejo snovi, ki jih celica sprejme iz zunanosti in celici lastne molekule, ki sestavljajo izrabljene ali v določeni fazi nepotrebne celične strukture.

Lizosomi vsebujejo več kot 40 različnih vrst hidrolitičnih encimov; to so proteaze, nukleaze, glikozidaze, fosfolipaze, fosfataze in sulfataze. Vsi lizosomski encimi so kisle hidrolaze, ki imajo pH optimum v kislem območju (pH med 4,5 in 5). Kislo območje v katerem so lizosomski encimi aktivni predstavlja pomembno zaščito celice pred razgradnjo s temi prebavnimi encimi. Ob poškodbi lizosomske membrane se v citosolu ti encimi hitro inaktivirajo zaradi bistveno višjega pH citosola (okoli 7). Citosol je pred lizosomskimi encimi dodatno zaščiten še s številnimi inhibitorji lizosomskih encimov. Na poseben način je zaščiten tudi membrana, ki obdaja lizosom. Njena posebnost je zelo intenzivna glikozilacija tako proteinov kot lipidov na lumenski strani lizosoma, ki jo ščiti pred razgradnjo z lastnimi encimi.



SKICA: ZGRADBA LIZOSOMA

Za vzdrževanje kislega pH znotraj lizosoma so v lizosomski membrani prisotne protonske črpalke, ki ob uporabi energije ATP v lumen lizosoma transportirajo protone. Podoben tip V-črpalk se nahaja v vseh endocitotskih organelih s kislino notranjostjo.

Osnovna naloga lizosoma je razgradnja makromolekul na sestavine, ki jih celica lahko uporabi za izgradnjo novih struktur. V ta namen so v membrani lizosoma številne transporterske molekule, ki prenašajo razgradne produkte kot so amino kisline, sladkorji, maščobne kisline, holesterol in nukleotidi v citosol.

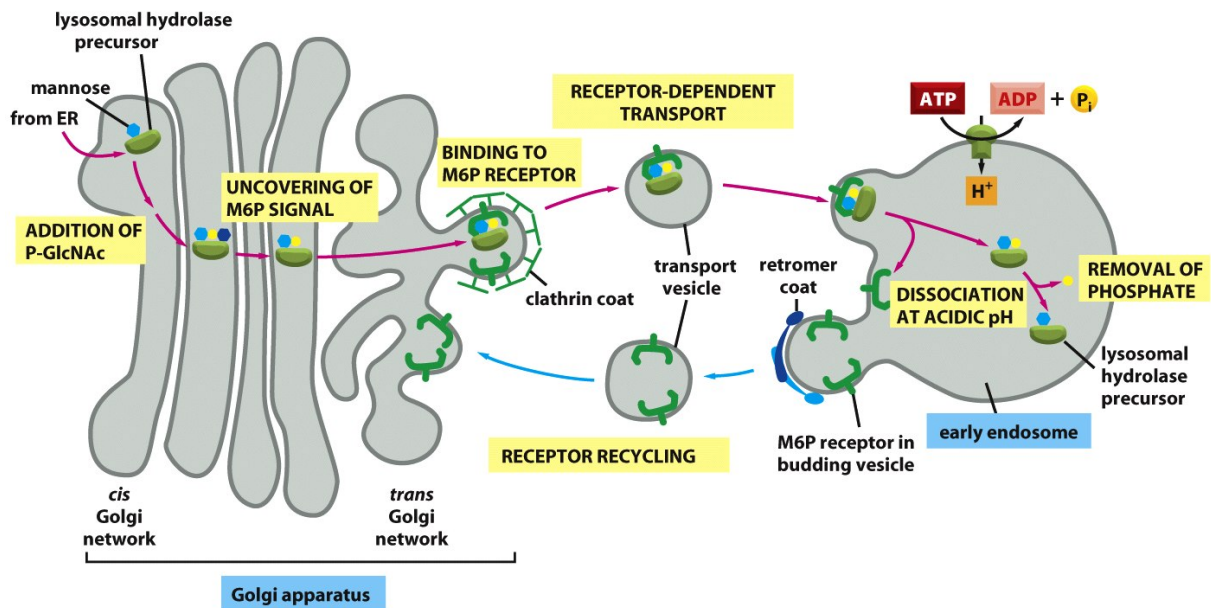
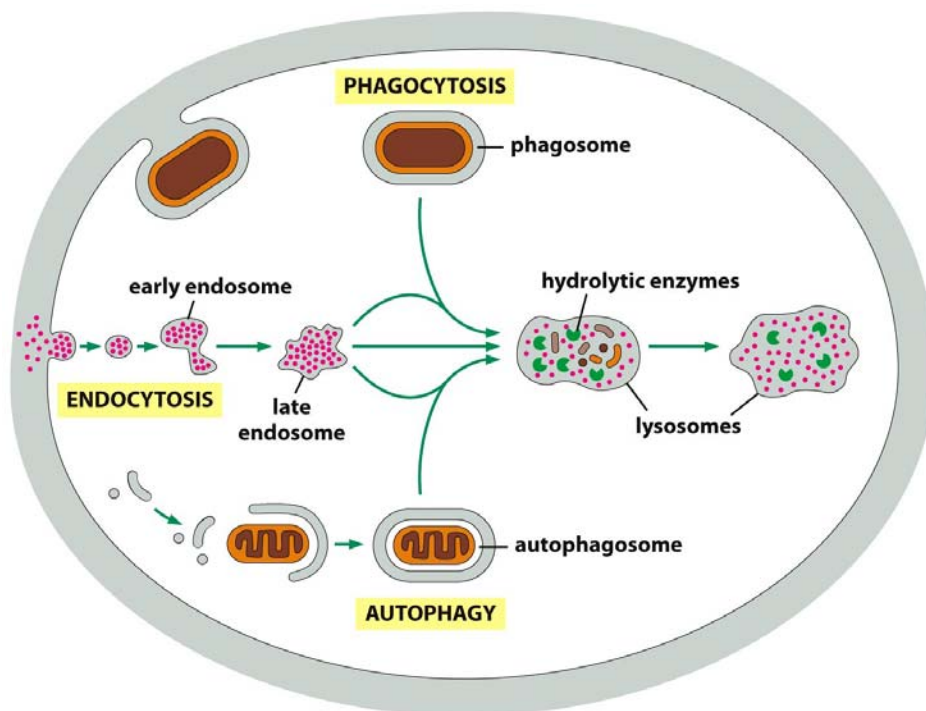


Figure 13-44 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

SKICA :Sl. Struktura M6P na lizosomskem encimu

Sinteza kislih hidrolaz poteka v zrnatem ER. Da bi se ti encimi ločili od proteinov, ki bodo potovali proti plazmalemi, imajo lizosomski encimi poseben označevalec. To je manosa-6-fosfat (M6P). Na lizosomske hidrolaze se M6P dodaja v *cis* Golgijevem mrežju. To skupino prepoznajo v *trans* Golgijevem mrežju transmembranski M6P receptorjski proteini. Ti receptorji med vsemi proteini, ki potujejo skozi Golgijev aparat, odberejo lizosomske hidrolaze. Membranski receptorji, ki imajo na lumenski strani vezane lizosomske encime se na citosolni strani povežejo z adaptini, ob katerih nastane klatrinski plašč. Klatrinski vezikli s kislimi hidrolazami nato brstijo iz *trans* Golgijevega mrežja. Ko se od transportnih veziklov odcepi klatrinski plašč, se ti vezikli zlijejo s poznimi endosomi. Kisel medij v poznih endosomih ($\text{pH} = 6$) omogoči ločitev encimov od receptorjev. S pomočjo transportnih veziklov se receptorji za M6P vrnejo v *trans* Golgijevo mrežje, kjer se lahko ponovno uporabijo za transport lizosomskih encimov.

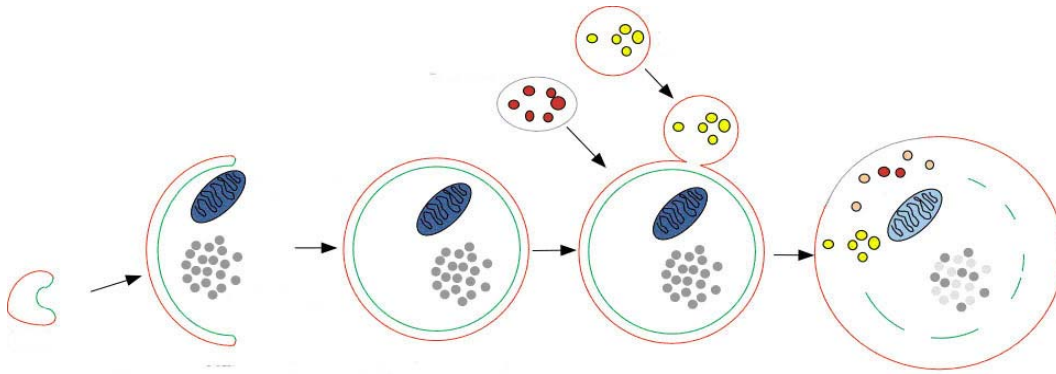
Lizosomi – stičišče razgradnih poti



SKICA: STIČIŠČE RAZGRADNIH POTI V LIZOSOMIH

V lizosomih poteka razgradnja snovi, ki jih celica sprejme iz zunajosti po že opisanih endocitotskih poteh ali snovi, ki so celici lastne in jih razgrajuje zaradi njihove iztrošenosti ali večje potrebe po drugačnih celičnih strukturah. Pomen razgradnje v lizosomih je dvojen: po eni strani gre za pridobivanje gradnikov za izgradnjo novih celičnih struktur, po drugi pa se produkti razgradnje lahko usmerijo v mitohondrije, kjer služijo za pridobivanju energije. Pri razgradnji endocitiranega materiala se lahko pojavijo snovi, ki jih celica ne more razgraditi. Te se kopičijo v lizosomih in predstavljajo **rezidualna telesa**, ki se iz celice lahko izločijo ali pa jih celice kopičijo. Več takšnih vključkov najdemo v starejših dolgoživih celicah, še posebno pri starejših organizmih, kar nakazuje, da se s starostjo aktivnost lizosomskih encimov manjša.

Razen endocitiranega materiala se v lizosomih razgrajuje tudi celici lasten material v posebnem procesu imenovanem **avtofagija**. Celični organeli namenjeni razgradnji se v tem procesu ločijo od preostale citoplazme z membrano, ki najverjetneje izvira iz endoplazemskega retikuluma in jo imenujemo fagofor. Ta membrana obda strukture namenjene razgradnji in oblikuje vezikel imenovan avtofagna vakuola. Avtofagne vakuole se lahko nato zlijejo z lizosomi, kjer se prične razgradnja vsebine avtofagnih vakuol. Pogosto pa se avtofagne vakuole predhodno zlijejo z endosomi, ki prinašajo endocitiran material iz zunanosti celice in skupno oblikujejo vakuole z raznovrstno vsebino imenovanimi **amfisomi**. Vsebinska amfisomov se nato razgradi po združitvi z lizosomom.



SKICA: OMEJITEV DELA CITOPLAZME NAMENJENEGA RAZGRADNJI V AVTOFAGNI VAKUOLI

Združitev endocitotske in avtofagne poti izkoriščajo nekateri prokarionti, ki so se prilagodili na življenje znotraj evkariontskih celic in so torej znotrajcelični paraziti. Te bakterije s fagocitozo vstopijo v celico in se naselijo v avtofagnih vakuolah oziroma amfisomih. Tam se prehranjujejo z vsebino avtofagne vakuole. S posebnimi obveščevalnimi molekulami preprečijo združitev avtofagne vakuole z lizosomom in se na ta način zavarujejo pred hidrolitičnimi encimi in kislim pH encimov. Najbolj znan primer takšnega endoparazita je bakterija *Mycobacterium tuberculosis* ki povzroča tuberkulozo. Drugačen način preživetja znotraj celic je izbrala bakterija *Coxiella burneti*, ki je postala odporna na kislo okolje in lizosomske encime in lahko preživi znotraj lizosomov. Bakterije *Listeria monocytogenes*, ki povzročajo meningitis, pa sintetizirajo encim fosfolipazo s katero poškoduje lizosomsko membrano in prodrejo iz lizosomov v citosol.

Lizosomske bolezni

Mutacije lizosomskih encimov povzročajo nesposobnost razgradnje določenih snovi, ki se v celicah pričnejo kopičiti, to pa povzroči motnje v delovanju lizosomov in kasneje celotnih celic, kar povzroča različna obolenja imenovana lizosomske bolezni.

Odkritje, da so fosforilirani manozni preostanki (manozna-6-fosfat) na lizosomskih encimih ključnega pomena za transport teh encimov v lizosome, izvira iz raziskav dedne bolezni - t.i. bolezni vključkov (I-cell disease). Ugotovili so, da pri teh bolnikih poteka sinteza lizosomskih encimov povsem normalno, toda namesto, da bi se ti encimi usmerili v lizosome, se izločajo iz celice. Izločeni encimi namreč nimajo fosforiliranih manoznih preostankov, kot jih imajo lizosomski encimi v celicah zdravih oseb. Vzrok za bolezen vključkov je torej odsotnost encima, ki v *cis* Golgijevem mrežju omogoči fosforilacijo manoznih preostankov na lizosomskih encimih, zato se ne usmerijo v lizosome. Pri tej bolezni torej manjkajo vsi lizosomski encimi torej so lizosomi povsem nefunkcionalni.

Pri večini lizosomskih bolezni pa gre za odsotnost ali nefunkcionalnost posameznega tipa lizosomskega encima. V to skupino prištevamo mukopolisaharidoze, sfingolipidoze in napake v katabolizmu glikoproteinov. V teh primerih prihaja do akumulacije določenih makromolekul v lizosomih, kar privede do nepravilnega delovanja organov. Kot primer takšne bolezni omenimo Tay-Sachsovo bolezen, za katero je značilna odsotnost

lizosomskega encima, ki razgrajuje ganglioizid G_{M2} . G_{M2} je pomembna sestavina membran možganskih celic. V odsotnosti tega encima se G_{M2} kopiči v možganih in s tem povzroča njihovo nepravilno delovanje. V primeru Pompove bolezni, za katero je vzrok odsotnost lizosomskega encima α -glukozidaze, se nerazgrajen glikogen nabira v lizosomih, ki zato nabreknejo in motijo delovanje celic.