
Membrana celulară

4

Celula este separată de mediul extracelular prin formațiuni înalt diferențiate care au rolul esențial de a menține în limite constante structura sa complexă. Având în vedere caracterul de sistem deschis al celulei, structurile de la periferia sa asigură în mod selectiv și controlat, schimbul de substanțe dintre mediul intra- și extracelular, precum și stabilirea de relații specifice cu alte celule.

Se poate afirma că membrana celulară este componenta cea mai importantă a celulei deoarece majoritatea structurilor celulare au la baza organizării lor membrane celulare. Este foarte sugestiv termenul folosit tot mai frecvent de *sistem de membrane celulare*. În această noțiune se includ în principal, două categorii de formațiuni membranare, și anume:

-*membrana celulară externă* sau *plasmalema*, care este dispusă la periferia celulei, mărginind-o;

-*endomembranele celulare*, care intră în structura majorității organelor citoplasmatiche.

Atât plasmalema cât și endomembranele, cu toate că au la bază o organizare moleculară identică, îndeplinesc o multitudine de funcții esențiale pentru viața celulei.

Învelișul celular

Membrana celulară nu este singura structură care se află la periferia celulei. La acest nivel există un ansamblu molecular numit **înveliș celular**, alcătuit din formațiuni complexe, între care se stabilesc relații structurale și funcționale.

Componentele învelișului celular

Se consideră că învelișul celular este format din trei componente principale:

Plasmalema sau **membrana plasmatică** are o compoziție moleculară lipidică și proteică complexă. Structura sa moleculară este în general unitară la toate celulele, precum și la toate membranele intracelulare (endomembrane).

Glicocalixul, se prezintă ca un înveliș de natură glucidică, glicoproteică și glicolipidică, la suprafața externă a plasmalemei.

Corticala celulară este reprezentată de o zonă cu grosimea de 1-2 μm din citoplasma celulară din imediata vecinătate a feței citoplasmatică a plasmalemei (ectoplasma). La acest nivel există diferențieri fizico-chimice și structurale importante, care stabilesc relații între plasmalemă și citoscheletul celular.

Învelișul celular prezintă la suprafața celulei o serie de **diferențieri** cu rol important în realizarea adeziunii intercelulare - **joncțiuni celulare**, în mărirea suprafeței celulare - **microvili**, și în motilitatea celulară - **cili, flageli, pseudopode**.

Toate formațiunile care intră în alcătuirea învelișului celular trebuie privite ca un tot unitar, între componente stabilindu-se relații structurale și funcționale complexe.

Funcțiile învelișului celular

Prin structura moleculară și prin proprietățile sale, învelișul celular realizează separarea mediului intracelular de cel extracelular și totodată permite efectuarea de schimburi de materie și energie între aceste două medii. El conferă individualitate celulei, fiind indispensabil vieții celulare prin funcțiile complexe și variate pe care le îndeplinește:

Funcția de barieră fizică. Prin aceasta, se menține structurarea mediului intracelular la un înalt nivel de organizare, stare care se păstrează, în anumite limite, indiferent de "gradul de dezordine" din mediul extern. În plus, membranele intracelulare, care au o structură similară cu cea a plasmalemei, realizează compartimentarea celulei, asigurând astfel desfășurarea anumitor funcții în cadrul unor structuri specifice (organitele celulare).

Funcția de transport. Plasmalema asigură desfășurarea schimburilor de energie și materie între cele două medii pe care le separă.

Funcția de a recepționa informații. Plasmalema conține receptori capabili de a capta foarte specific mesageri extracelulari, receptori care apoi modifică în mod adecvat anumite funcții ale celulei. Prin aceasta, celula devine capabilă să răspundă prin modificări funcționale, la acțiunea diferitelor substanțe, de exemplu, hormoni, medicamente etc.

Funcția de a asigura adeziunea intercelulară. Printr-o serie de diferențieri specifice (joncțiuni celulare), învelișul celular participă la realizarea conexiunilor dintre celulele aflate într-un țesut.

Funcția de a asigura apărarea celulei. Se realizează împotriva unor factori care interacționează "agresiv" cu celula, plasmalema fiind implicată în imunitatea celulară a organismului.

Pe lângă aceste funcții generale, există tipuri particulare de celule ale căror plasmalemă are unele funcții specifice, ca de exemplu: membrana neuronală conduce impulsul nervos și îl transmite la nivelul sinapsei, membrana celulelor fotoreceptoare retiniene captează și transformă radiațiile fotonice în potențiale de acțiune etc.

Structura moleculară a plasmalemei

Membranele celulare au o structură moleculară unitară, comună tuturor membranelor biologice. Componentele chimice care intră în structura plasmalemei sunt lipidele și proteinele. Glucidele nu pot fi considerate separat deoarece formează complexe macromoleculare cu lipidele și proteinele (glicolipide și glicoproteine).

Tipurile de lipide membranare

Aportul lipidelor la constituirea membranei plasmatică este însemnat, având în vedere proporția de masă de 1:1 lipide/proteine în plasmalema celulei animale. Principalele tipuri de lipide care intră în alcătuirea membranei sunt: fosfolipidele, colesterolul și glicolipidele.

Toate cele trei categorii de lipide membranare au moleculele *amfipatice* sau *amfifile*, ceea ce înseamnă că au un capăt hidrofil și un capăt hidrofob. Această proprietate este extrem de importantă deoarece asigură autoasamblarea moleculelor aflate în mediu apos în structuri ordonate, ceea ce duce la formarea unui *bistrat lipidic*.

Fosfolipidele membranare

Fosfolipidele sunt de două categorii: *fosfogliceridele* și *sfiingolipidele*.

Fosfogliceridele au la bază o moleculă de glicerol la care două grupări hidroxil sunt esterificate cu acizi grași de lungime variabilă (14-24 atomi de carbon). Aceste lanțuri de acizi grași alcătuiesc porțiunea hidrofobă a moleculei. A treia grupare hidroxil a glicerolului este ocupată (prin legătură fosfodiestică) de o grupare chimică polară. Această grupare alcătuiește porțiunea hidrofilă a moleculei (Figura 4-1). La majoritatea fosfogliceridelor membranare "coada" hidrofobă conține un acid gras saturat și unul nesaturat.

Grupările organice polare sunt variabile, cele mai comune fiind: colina, etanolamina, serina, inozitolul; rezultă astfel fosfogliceride ca *fosfatidilcolina*, *fosfatidiletanolamina*, *fosfatidilserina* și respectiv, *fosfatidilinozitolul*.

Sfiingolipidele, a doua clasă de fosfolipide membranare, au aceeași structură spațială cu a fosfogliceridelor, având o grupare polară, hidrofilă și două lanțuri hidrocarbonate hidrofobe. De exemplu, cel mai răspândit sfiingolipid, *sfiingomielină*, are la baza structurii sale un aminoalcool cu lanț lung (sfiingozina), întotdeauna același, de care se leagă prin legătură amidică (-CO-NH-) un acid gras variabil. De gruparea hidroxil terminală a sfiingozinei, se leagă, prin legătură fosfodiestică, colina, aceasta contribuind la formarea capătului hidrofil (Figura 4-2).

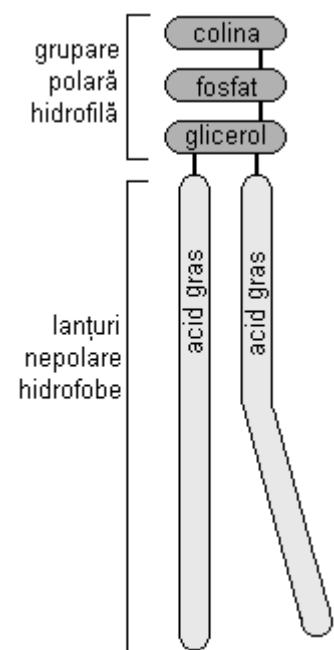


Figura 4-1 Molecula celui mai comun triglicerid, fosfatidilcolina.

Glicolipidele membranare

Glicolipidele membranare au o structură moleculară asemănătoare cu a sfinbolipidelor, deosebindu-se de acestea prin faptul că un locul grupării polare fosforilcolinice, au radicali glucidici (de la 1 la 15). Acești radicali glucidici sunt orientați întotdeauna înspre fața externă a plasmalemei, participând la formarea glicocalixului.

După tipul glucidelor pe care le conțin, glicolipidele sunt clasificate în două categorii: *glicolipidele neutre* și *gangliozele*.

Glicolipidele neutre au radicali glucidici neutri, iar unul din cei mai cunoscuți este *galactocerebrozida*, fiind și cel mai simplu (Figura 4-3). Galactocerebrozida este componenta majoră, glicolipidică, a mielinei ce formează teaca axonilor neuronali; teaca de mielină este alcătuită din membrane concentrice ale celulelor Schwan.

Gangliozele sunt cele mai complexe glicolipide. Conțin întotdeauna, pe lângă radicali glucidici neutri, și *acid sialic* (denumirea sa prescurtată este *NANA*, de la *N-Acetil-Neuraminic Acid*) (vezi Figura 4-3). Gangliozele alcătuiesc 6% din lipidele membranei neuronale, dar sunt prezente și în alte membrane.

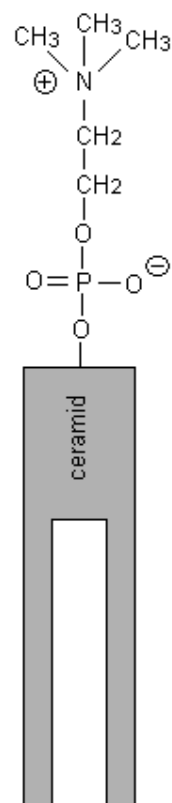


Figura 4-2
Molecula de sfinbolipină.

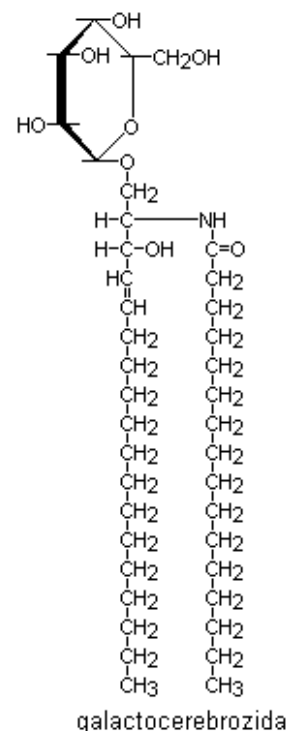


Figura 4-3
Un glicolipid membranar.

Glicolipidele cu diferite structuri se află pe suprafața membranelor celulare

Glicolipidele sunt situate mai ales, deși nu exclusiv, pe suprafața membranei celulare, cu capătul glucidic orientat spre exterior. Astfel, acidul sialic al glicolipidelor face ca majoritatea celulelor animale să aibă o încărcătură ionică negativă pe suprafața lor.

Glicolipide și glicoproteine umane importante sunt antigenele grupelor sanguine. La om, ca și la unele animale, structura exactă a unor oligozaharide legate de lipidele și proteinele membranare este determinată genetic. Oligozaharidele care determină grupele sanguine A, B, O, au fost studiate în detaliu. Antigenele A, B și O sunt oligozaharide asemănătoare structural, fiind legate de lipide sau proteine. Antigenul O este un lanț de fucoză, galactoză, N-acetilglucozamină și glucoză, legate la un lipid ceramidic (sau la un radical hidroxil al unei proteine). Antigenele A și O sunt identice exceptând doar o N-acetilgalactozamină atașată la galactoza periferică; antigenul B este și el foarte asemănător, având un radical galactozic atașat la ultima galactoză a lanțului oligozaharidic. Toți indivizii din populația umană posedă enzimele care sintetizează antigenul O. Indivizii din grupa A au în plus enzima care adaugă la lanțul oligozaharidic al antigenului O, N-acetilgalactozamina suplimentară, iar cei cu grupa B au enzima care adaugă în aceeași poziție a antigenului O, galactoza. Indivizii cu grupa AB sintetizează atât antigenele A cât și antigenele B.

Colesterolul membranar

Membrana celulelor eucariote conține cantități însemnate de colesterol, până la câte o moleculă pentru fiecare moleculă de fosfolipid. Și molecula de colesterol este amfifilă, capătul hidrofil, polar, fiind reprezentat de gruparea hidroxil a inelului steric, iar capătul hidrofob, de lanțul hidrocarbonat atașat la acest inel (Figura 4-4). Pentru că în

structura bistratului lipidic membranar se inseră între moleculele fosfolipidice, colesterolul influențează fluiditatea membranei; inelul sterolic interacționează cu lanțurile de acizi grași având tendința de a le imobiliza. Efectul asupra fluidității este variabil și depinde de compoziția lipidică. Astfel, colesterolul împiedică mișcarea liberă a porțiunilor externe a lanțurilor de acizi grași din bistrat dar, în același timp, desparte și îndepărtează regiunile interne ale acestora ceea ce face ca zona internă a bistratului să devină mai fluidă. La concentrațiile mari existente în membranele eucariotelor, colesterolul are tendința de a micșora fluiditatea la temperatura de 37°C. La temperaturi mai scăzute de temperatura de tranziție a bistratului, colesterolul menține membrana în stare fluidă împiedicând lanțurile de acizi grași de a se împacheta unul lângă altul. Pe lângă faptul că influențează fluiditatea, colesterolul scade în același timp permeabilitatea bistratului la molecule mici, hidrofile și, de asemenea, crește flexibilitatea și stabilitatea fizică a acestuia. Acest efect se datorează capacității moleculelor de colesterol de a se distribui de pe o față pe alta a bistratului în funcție de acțiunea forțelor mecanice exercitate asupra membranei.

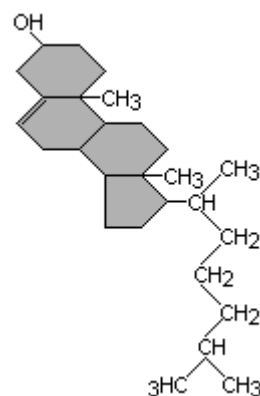


Figura 4-4
Molecula de colesterol.

Importanța colesterolului în menținerea stabilității mecanice a membranei celulelor eucariote, se evidențiază în cazul celulelor animale mutante care sunt incapabile să sintetizeze colesterol. Aceste celule se lizează ușor (se sparg) dacă nu se adaugă colesterol în mediul lor de creștere. Dacă se adaugă colesterol, acesta este încorporat în membrană și celulele pot supraviețui.

Bistratul fosfolipidic

Datorită faptului că moleculele lipidice membranare au proprietatea de a fi amfifile, ele se dispun în structura membranei celulare într-un **dublu strat (bistrat lipidic)**, cu capetele hidrofile orientate spre fața externă, respectiv spre fața citoplasmatică a bistratului, iar cu capetele hidrofobe orientate spre interiorul bistratului. Această dispoziție particulară, cea mai posibilă din punct de vedere termodinamic deoarece pe ambele fețe există câte un mediu apos, conferă bistratului proprietăți particulare; posibilitatea de **autoasamblare**, **fluiditatea** și **asimetria**. Acestea, pe lângă faptul că facilitează rolul de barieră al bistratului, îi conferă și caracteristici esențiale pentru exercitarea funcțiilor membranei de către proteinele inserate în structura sa.

Astăzi s-au acumulat un număr mare de date experimentale care susțin faptul că bistratul fosfolipidic este baza structurală a tuturor membranelor. Se poate pune întrebarea: sunt lipidele singure responsabile pentru structurarea membranei? În structura membranei nu intră doar lipidele; în toate membranele purificate s-a constatat că există și proteine. Procentul și tipul de proteine variază însă considerabil, în funcție de tipul de membrană. Dar, sunt proteinele o componentă esențială pentru structurarea membranelor sau au ele doar un rol

funcțional? Datele actuale sugerează că în structura membranelor biologice, proteinele îndeplinesc funcțiile specifice, iar fosfolipidele sunt responsabile pentru integritatea structurală.

Prima dovadă experimentală directă privind dispoziția lipidelor în membranele biologice într-un dublu strat, datează din 1925 și a fost demonstrată de către E. Gorter și F. Grendel. Acești cercetători au extras lipidele din membranele eritrocitelor și le-au dispus pe suprafața unui vas cu apă. Lipidele astfel dispuse formează la suprafața apei un strat monomolecular, cu moleculele având capătul hidrofil orientat spre apă și capătul hidrofob înspre aer (Figura 4-5). Măsurând aria acestui film monomolecular de lipide, Gortel și Grendel au ajuns la concluzia că aceasta este dublă față de suprafața eritrocitelor folosite pentru extracția lipidelor. Interesant este faptul că experimentul efectuat de cei doi cercetători conține două erori fundamentale. Prima eroare este aceea că nu au reușit să extragă absolut toate lipidele din membranele hematiilor. A doua eroare provine din tehnica folosită pentru măsurarea suprafeței hematiilor; suprafața a fost măsurată în mod greșit, obținându-se o valoare mai mică decât cea reală. Aceste două erori s-au compensat însă reciproc, astfel că rezultatul experimentului a dus la o concluzie corectă.

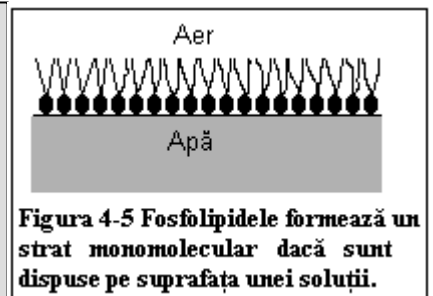


Figura 4-5 Fosfolipidele formează un strat monomolecular dacă sunt dispuse pe suprafața unei soluții.

Autoasamblarea bistratului fosfolipidic

Moleculele lipidice, datorită caracterului amfifil, manifestă tendința de a forma bistraturi în mediu apos. Acest proces a fost studiat intensiv pe membrane artificiale. Prepararea membranelor artificiale este posibilă deoarece moleculele fosfolipidice și glicolipidice, aflate într-un mediu apos, tind să se orienteze în așa fel încât capătul lor hidrofob să nu vină în contact cu moleculele polare ale apei. Prin agitarea acestor molecule în apă, se formează două tipuri de agregate moleculare: **micelile** și respectiv, **bistraturile** (Figura 4-6). Dacă se formează bistraturi (aceasta depinde de concentrație), ele au tendința de a forma vezicule, închizând în interior compartimente apoase, precum și de a reface continuitatea bistratului ori de câte ori acesta este dezamblat. Acest fapt stă la baza proceselor de refacere și reînnoire a membranelor celulare.

O mare parte a proprietăților bistraturilor lipidice a fost elucidată ca urmare a studiului membranelor artificiale. Astfel, se pot sintetiza pe cale artificială două tipuri de bistraturi lipidice: (1) bistraturi care formează vezicule sferice, numite *liposomi*) și care pot avea un diametru cuprins între 25 nm și 1 μm , în funcție de procedura de preparare, și (2), "*membrane negre*" ("black membranes"), care sunt bistraturi plane formate pe suprafața unui mic orificiu dispus în așa fel încât să separe două medii apoase (Figura 4-7).

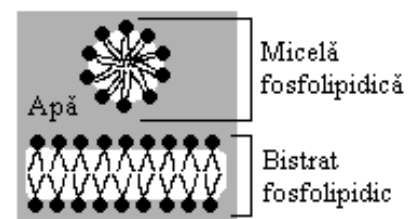


Figura 4-6 Agregate moleculare formate de lipide în mediu apos.

Veziurile fosfolipidice numite **liposomi** au fost descrise în anul 1965, iar astăzi sunt extensiv folosite în cercetări din domeniul farmacologiei. Astfel, deoarece delimitează un compartiment apos, liposomii pot fi considerați ca veritabile "capsule farmacologice". În momentul preparării, în veziculele liposomale se pot încapsula diferite substanțe cu efect terapeutic. Deoarece liposomii sunt mărginiți de o membrană-bistrat fosfolipidic, cu aceeași structură ca și membranele biologice naturale, ei nu sunt toxici dacă sunt administrați în organism. S-a demonstrat de asemenea, că liposomii interacționează specific cu celulele, fiind captați de către acestea prin endocitoză sau fuziune. Toate aceste argumente experimentale stau la baza speranțelor ca liposomii în care se încorporează medicamente să fie folosiți în viitorul apropiat, ca vectori farmacologici în administrarea dirijată a preparatelor terapeutice către anumite celule țintă.

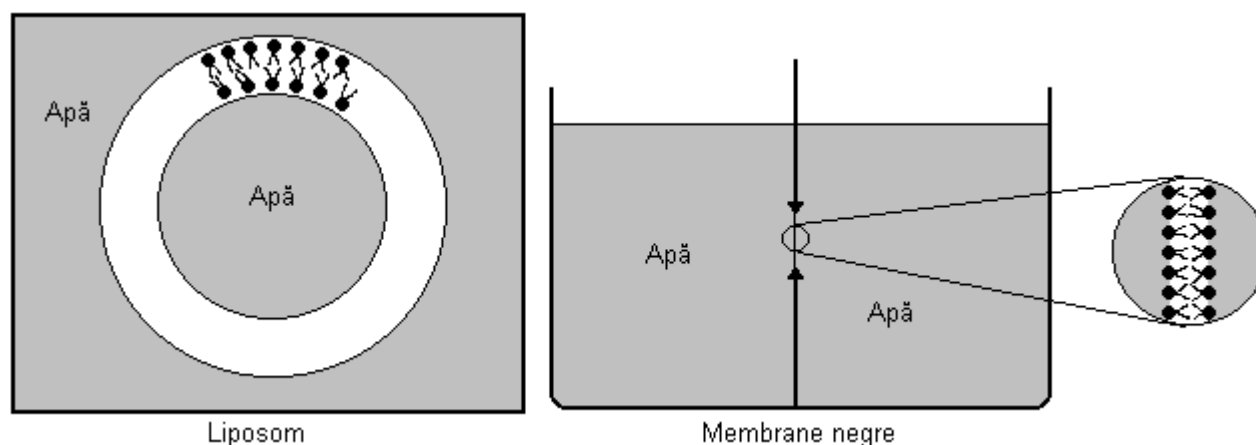


Figura 4-7 Modele de membrane artificiale folosite pentru studierea proprietăților bistratului fosfolipidic.

Fluiditatea bistratului fosfolipidic

Primele date cu privire la capacitatea moleculelor lipidice de a difuza în planul bistratului au fost obținute tot pe membrane artificiale, după anul 1970. Ulterior, această proprietate a fost demonstrată și pe membrane biologice izolate, precum și pe formațiuni celulare simple, ca bacteriile și eritrocitele.

Mișcarea moleculelor în bistratul membranelor este de trei tipuri: (1) rotația în jurul axului molecular; (2) difuziunea în planul stratului în care se află; (3) trecerea dintr-un strat în celălalt (mișcare "flip-flop") (Figura 4-8). Mișcarea de rotație și difuzia laterală au loc frecvent, în schimb, mișcarea "flip-flop" este foarte rară, dacă nu chiar absentă.

Factorii majori care determină gradul de fluiditate al membranei celulare sunt: gradul de saturare al acizilor grași și lungimea lanțului lor de carbon, temperatura și proprietățile particulare ale moleculelor de colesterol. Sub o anumită temperatură, numită *temperatură de tranziție*, structura de cristal lichid a bistratului trece într-o structură cristalină rigidă, de gel, ceea ce determină abolirea funcțiilor membranei. La membranele biologice, temperatura de tranziție este mult mai scăzută decât temperatura fiziologică, ceea ce previne rigidizarea bistratului. Acizii grași cu lanț lung și nesaturat împiedică împachetarea strânsă a moleculelor în bistrat, crescând astfel fluiditatea sa. Celula posedă mecanisme care îi permit ajustarea compoziției în acizi grași a

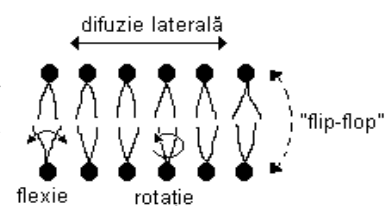


Figura 4-8 Mișcări posibile ale moleculelor fosfolipidice în bistrat.

fosfolipidelor în așa fel încât să evite tranziția membranei din starea fluidă în starea rigidă. O importanță deosebită în păstrarea fluidității bistratului se acordă colesterolului.

Menținerea fluidității bistratului membranal este esențială pentru creșterea și reproducerea celulară normală. În membranele biologice există o mixtură de tipuri de acizi grași care au rolul de a menține fluiditatea la 37°C. În cazul organismelor poikiloterme, a căror temperatură variază cu cea a mediului, membranele celulare își schimbă compoziția în acizi grași în așa fel încât fluiditatea să se mențină în limite constante, indiferent de temperatura ambiantă. De exemplu, dacă temperatura scade, se sintetizează în membrane fosfolipide în care predomină acizi grași nesaturați (cu duble legături), astfel că descreșterea fluidității, odată cu scăderea temperaturii, este evitată.

Asimetria bistratului fosfolipidic

Asimetria este determinată de compoziția lipidică diferită a celor două jumătăți ale bistratului (Figura 4-9). Repartiția moleculelor lipidice în cele două jumătăți ale bistratului este următoarea:

În **stratul extern** predomină lipidele cu gruparea colinică (neutre), toate glicolipidele și lipidele cu acizi grași nesaturați.

În **stratul intern** predomină lipidele cu sarcină electrică (fosfatidilserina negativă, fosfatidiletanolamina) și lipidele cu acizi grași nesaturați.

Deoarece moleculele lipidice nu pot executa mișcări "flip-flop", se consideră că asimetria bistratului este determinată încă din momentul biosintezei intracelulare a membranei, proces care are loc la nivelul reticulului endoplasmic. Acest proces este asigurat de enzime asociate la membrană, numite translocatori fosfolipidici. Acești translocatori determină mișcarea de "flip-flop" a fosfolipidelor în cursul sintezei membranelor, proces care este foarte specific și care stă la originea asimetriei. Asimetria bistratului are o importanță funcțională deosebită deoarece determină orientarea proteinelor membranare, condiție esențială pentru îndeplinirea funcțiilor acestora. O importanță deosebită în determinarea asimetriei bistratului o au glicolipidele. Acestea sunt orientate exclusiv cu radicalii glucidici spre fața extracelulară a membranei. Se presupune că această dispoziție are un rol important în stabilirea comunicărilor intercelulare. Totuși, rolul glicolipidelor este încă insuficient demonstrat. Grupările oligozaharidice de pe fața externă a membranei sunt de multe tipuri și se presupune că pot funcționa ca receptori.

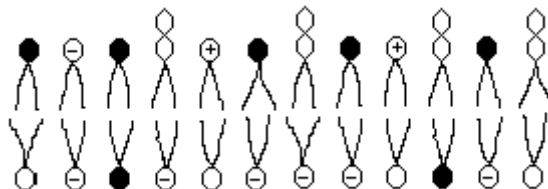


Figura 4-9
Reprezentare schematică a asimetriei bistratului fosfolipidic membranal.

Glicolipidul numit G_{M1} acționează ca receptor de suprafață pentru toxina bacteriană a holerei. Legarea toxinei la acest receptor prezent pe membrana celulelor intestinale, determină boala diareică ce apare în holeră. Prezența toxinei pe celulele intestinale, determină o creștere prelungită a concentrației intracelulare a AMP ciclic, ceea ce cauzează un masiv eflux de Na^+ și apă, în lumenul intestinal și deci, diaree severă. Cu toate că legarea toxinelor bacteriene nu este o funcție normală a glicolipidelor membranare, aceste observații sugerează că glicolipidele membranare pot avea rol de receptor și în semnalizarea celulară în condiții normale.

Proteinele membranare

Cu toate că structura de bază a membranelor biologice o constituie bistratul fosfolipidic, majoritatea funcțiilor specifice sunt îndeplinite de proteine. Cu cât conținutul în proteine al unei membrane este mai mare, cu atât funcțiile sale sunt mai complexe. De exemplu, *membrana mielinică* are doar rolul de a izola axonii neuronali și conține numai 18% proteine; *membranele mitocondriale*, au rolul în producția de energie celulară și conțin până la 76% proteine (Tabel 4-1).

Tabel 4-1 **Compoziția chimică a unor membrane purificate**

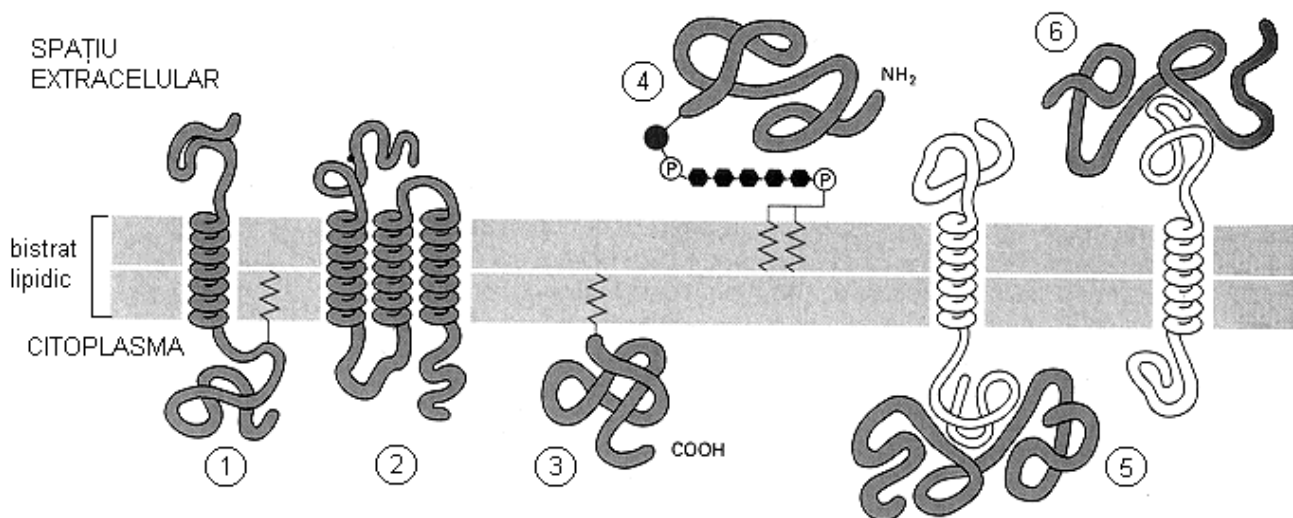
Membrana	Procentaj din masa totală		
	Proteine	Lipide	Glucide
Mielina	18	79	3
Membrane plasmatică			
Eritrocit uman	49	43	8
Ficat de șoarece	44	52	4
Amoeba	54	42	4
Cloroplaste	70	30	0
Membrana de <i>Halobacterium</i>	75	25	0
Membrana internă mitocondrială	76	24	0

După: G. Guidotti, 1972, Ann. Rev. Biochem, 41, 731.

Tipurile de proteine membranare

Unele proteine membranare traversează bistratul fosfolipidic odată sau de mai multe ori (Figura 4-10). La fel ca moleculele fosfolipidice, aceste proteine, numite **proteine transmembranare**, sunt amfipatice; ele conțin regiuni hidrofobe care trec prin membrană interacționând cu lanțurile hidrofobe ale moleculelor fosfolipidice din interiorul bistratului, precum și regiuni hidrofile, expuse la apă, pe ambele fețe ale membranei.

Caracterul hidrofob al proteinelor transmembranare poate fi crescut prin atașarea la moleculă a unui lanț de acid gras care este inserat în monostratul lipidic de pe fața citoplasmatică (vezi Figura 4-10, exemplul 1).



Unele proteine membranare, se asociază cu bistratul prin intermediul unor lanțuri hidrocarbonate (acizi grași) (vezi Figura 4-10, exemplul 3 și 4). Aceste proteine legate de lipide sunt grupate în trei clase:

Proteinele ancorate la glicozil-fosfatidilinozitol sunt caracteristice pentru fața externă a membranei celulare. Ele se ancorează la bistrat printr-un glicolipid complex. Acesta conține două lanțuri de acizi grași și mai multe monozaharide printre care N-acetilglucozamina, manoză și inozitolul (vezi Figura 4-10, exemplul 4).

Proteinele ancorate la miristat și proteinele ancorate la farnezil se leagă întotdeauna pe fața citoplasmatică a membranei prin intermediul acidului miristic sau respectiv printr-un lanț policarbonat nesaturat farnezil (vezi Figura 4-10, exemplul 3). Aceste proteine intră în categoria proteinelor *transformante* deoarece sunt implicate mai mult sau mai puțin direct în procesele de transformare celulară și diviziune celulară.

Alte proteine membranare nu pătrund în interiorul hidrofob al bistratului, ci sunt legate pe o față sau alta a membranei prin interacțiuni necovalente cu proteinele transmembranare (vezi Figura 4-10, exemplul 5). Unele dintre acestea pot fi eliberate de pe membrană prin folosirea unor proceduri de extracție relativ blânde, cum ar fi expunerea la soluții cu concentrații ionice mari sau la pH-uri extreme. Acești factori interferă cu legăturile proteină-proteină, însă nu distrug bistratul fosfolipidic. Aceste proteine au fost denumite **proteine membranare periferice**.

Figura 4-10 Modalitățile prin care proteinele membranare se pot asocia la bistratul fosfolipidic. Explicațiile în text.

Proteinele membranare care sunt atașate la bistrat prin intermediul unor lanțuri hidrocarbonate (acizi grași), sunt proteine membranare descrise relativ recent. Fosfataza alcalină este ancorată pe fața externă a membranei plasmatică prin intermediul glicozil-fosfatidilinozitolului (vezi Figura 4-10). Dacă suprafața celulelor se tratează cu fosfolipază C, proteina se eliberează de pe suprafața celulară. Proteina *v-src* este o mutantă a proteinei *c-src* și are capacitate transformantă, determinând ca o celulă normală să devină celulă canceroasă. În forma sa normală (*c-src*), este liberă în citoplasmă și nu

produce transformare celulară. Această proteină normală (*c-src*), dacă se integrează în membrană, pe fața citoplasmatică, prin intermediul acidului miristic, devine *v-src*, cu capacitate transformantă. Mecanismul prin care proteina atașată la membrană produce transformare celulară, iar liberă în citoplasma nu, este neelucidat. **Proteina p21^{ras}** este o altă proteină transformantă care, pentru a determina ca o celulă normală să devină celulă canceroasă, trebuie să fie integrată în membrană printr-un acid gras farnezil.

Proprietățile specifice ale proteinelor transmembranare

În cazul proteinelor transmembranare, zona din lanțul polipeptidic care este "scufundată" în mediul hidrofob al bistratului, este formată, în special, din aminoacizi cu radicali nepolari. Dar pentru că legăturile peptidice sunt ele însele polare și pentru că apa este absentă în acest mediu, toate legăturile peptidice vor fi forțate să formeze legături de hidrogen, una cu cealaltă. Formarea punților de hidrogen dintre legăturile peptidice este favorizată atunci când lanțul polipeptidic se dispune în α -helix în zona hidrofobă a bistratului. De aceea, practic toate proteinele transmembranare traversează bistratul sub forma de lanțuri α . În cazurile în care lanțul polipeptidic trece de mai multe ori prin bistrat, legăturile peptidice nu pot satisface, în principiu, necesitățile formării punților de hidrogen dacă se dispun în pachete β . Tendința mare de formare a numărului maxim de punți de hidrogen în absența apei, face ca lanțul polipeptidic care intră într-o zonă hidrofobă, mai degrabă să traverseze această zonă, decât să-și schimbe direcția pentru a forma pachete β . Schimbarea direcției lanțului polipeptidic necesită "renunțarea" la punțile de hidrogen dispuse regulat.

Proteinele transmembranare au o orientare unică în membrană. Aceasta reflectă, atât mecanismul asimetric după care sunt ele sintetizate și inserate în bistrat la nivelul reticulului endoplasmic, cât și funcțiile diferite ale domeniului citoplasmatic și respectiv extracelular al moleculei.

Marea majoritate a proteinelor transmembranare sunt glicozilate. La fel ca în cazul glicolipidelor, lanțurile oligozaharidice sunt prezente întotdeauna pe fața extracelulară a membranei. Caracterul asimetric este accentuat și de gruparea sulfhidril (-SH) prezentă în aminoacidul cisteina din structura proteinelor. Aceasta rămâne în stare redusă (-SH) pe fața citoplasmatică, dar participă la formarea legăturilor disulfurice (S-S) pe fața externă (Figura 4-11).

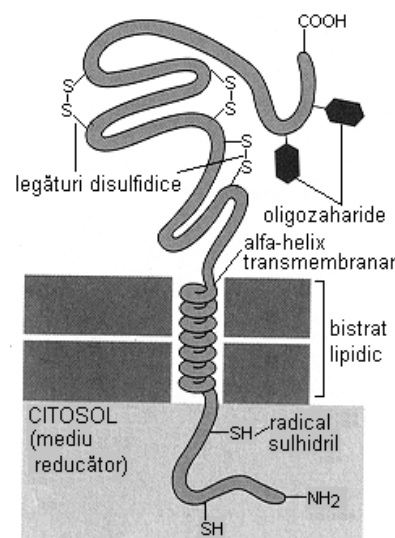


Figura 4-11 O proteină transmembranară tipică.

Porinele sunt o clasă de proteine transmembranare a căror structură diferă radical de celelalte proteine membranare. Ele au fost descrise în membrana externă a bacteriilor gram-negative cum este *E.coli*. Membrana externă a acestor bacterii intestinale asigură protecția împotriva agenților dăunători cum ar fi antibioticele, sărurile biliare sau proteazele intestinale dar permite și captarea sau eliminarea unor mici molecule hidrofobe (substanțele nutritive sau produșii de metabolism). Porinele de la *E.coli* realizează canale prin care trec dizaharidele, fosfații și alte molecule de mărimi similare. Cristalografia cu raze X a evidențiat că porinele sunt trimeri de subunități identice, fiecare subunitate conținând 16 lanțuri de aminoacizi dispuse în pachete β . Aceste pachete sunt astfel aranjate încât formează în centru un por hidrofob care permite pasajul moleculelor mici hidrofobe prin membrană.

Reconstituirea experimentală a funcțiilor proteinelor transmembranare

În general, proteinele transmembranare pot fi solubilizate doar cu agenți care distrug bistratul prin disocierea legăturilor hidrofobe. Cei mai utilizați asemenea agenți sunt detergenții. În contact cu membranele, capetele hidrofobe ale moleculelor de detergent se asociază cu zona hidrofobă a moleculelor proteice, îndepărtând astfel din complex, moleculele lipidice. Deoarece celălalt capăt al moleculei de detergent este polar, această interacțiune tinde să transfere moleculele proteinelor membranare în soluție, sub formă de complexe proteină-detergent (Figura 4-12).

Capătul polar al moleculelor de detergent, poate fi încărcat electric (ionic), cum este cazul *dodecilsulfatului* (SDS), sau neutru (neionic), cum este cazul detergenților de tip *Triton*.

Cu detergenți ionici puternici, cum este SDS, pot fi solubilizate aproape toate proteinele membranare. Aceasta a permis analiza lor prin *SDS-gel electroforeză în poliacrilamidă*, procedură care a revoluționat studiul proteinelor membranare. Acest detergent puternic denaturează (desfășoară) moleculele proteice deoarece se poate leaga de miezul hidrofob, ceea ce le face inactive și neutilizabile pentru cercetări funcționale. Totuși, proteinele pot fi purificate ușor în această formă denaturată și, ulterior, pot fi renaturate la forma lor funcțional activă, prin îndepărtarea detergentului. Dacă detergentul este îndepărtat, moleculele proteice scoase din bistrat, se agregă și precipită. Dacă însă proteina purificată este amestecată cu fosfolipide înainte de îndepărtarea detergentului, ea se poate insera în forma sa activă în bistratul lipidic format spontan de fosfolipide. În acest fel, proteinele extrase din membrane în stare inactivă, devin funcțional active, adică are loc o reconstituire a funcțiilor lor în componentele purificate. Metodele de reconstituire a funcțiilor proteinelor membranare în sisteme artificiale sunt foarte prețioase pentru cercetarea membranelor biologice.

Mobilitatea proteinelor membranare

Mobilitatea proteinelor în bistrat a fost evidențiată printr-o serie de tehnici de mare acuratețe. Astfel, s-a demonstrat că proteinele, ca și moleculele fosfolipidice, pot prezenta mișcări de *rotație*, în jurul unui ax perpendicular pe planul membranei, și mișcări de *difuziune laterală*, în planul membranei, dar nu sunt capabile să treacă dintr-un strat în celălalt (mișcări "flip-flop").

Difuziunea laterală a proteinelor, în planul membranei, este foarte importantă pentru exercitarea funcțiilor acestor molecule. Celula posedă mecanisme complexe care asigură "dirijarea" moleculelor proteice membranare în zonele necesare pentru desfășurarea unei anumite activități fiziologice.

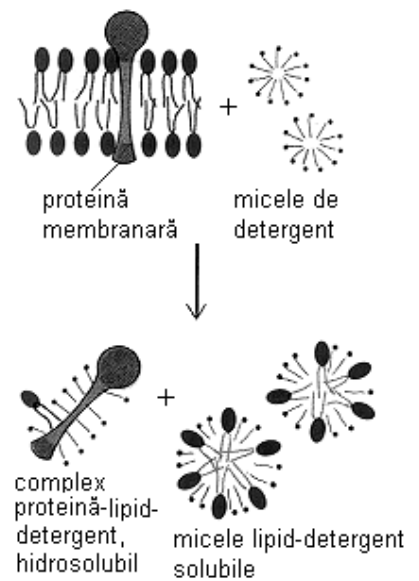


Figura 4-12 Solubilizarea proteinelor membranare cu detergenți.

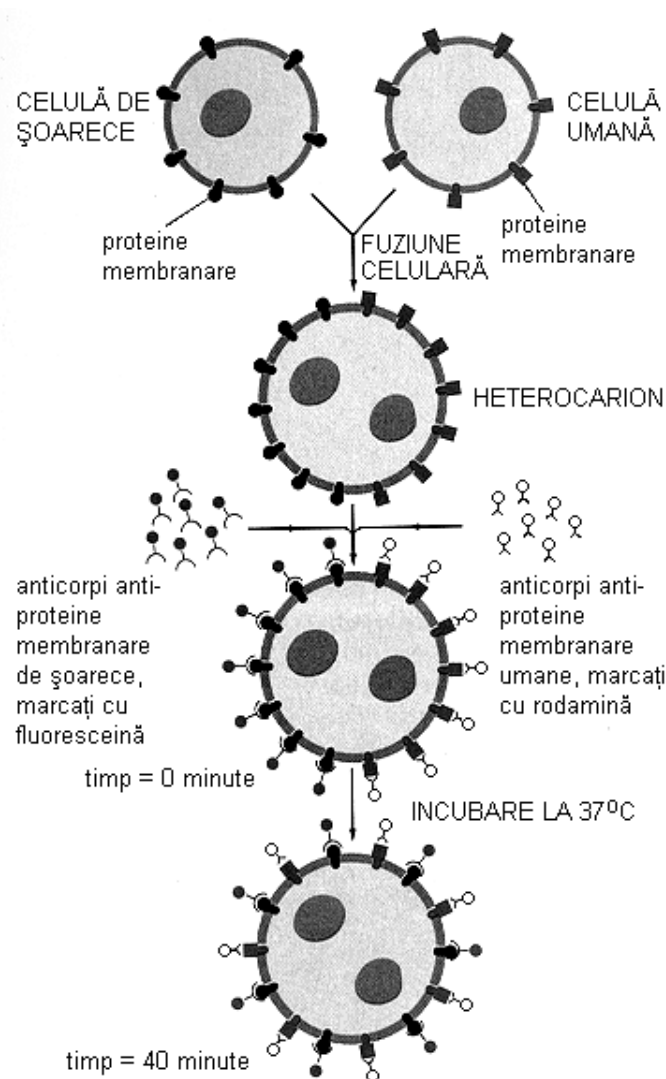


Figura 4-13 Experiența lui FRYE și EDIDIN care demonstrează difuziunea proteinelor membranare. Explicațiile în text.

Tehnicile de fuziune celulară și de marcarea cu anticorpi fluorescenți, au permis evidențierea directă a mobilității proteinelor membranare. În acest context, este foarte cunoscut experimentul efectuat de FRYE și EDIDIN în 1970 (Figura 4-13). Astfel, două tipuri de celule, de șoarece și umane, având deci diferite antigene de suprafață, au fost marcate cu anticorpi corespunzători, cuplați cu compuși fluorescenți diferiți (fluoresceină respectiv rodamină). Aceste celule au fost apoi fuzionate. Dacă la început, adică după 5 minute de la fuziune, cele două suprafețe celulare erau distincte la celulele hibride, având o fluorescență verde, respectiv roșie (fluoresceina - verde, rodamina - roșie), după 40 de minute, suprafața celulelor hibride avea o fluorescență uniformă ca urmare a difuziunii și amestecului în planul membranei a proteinelor antigenice marcate, proteine care proveneau de la membranele celulelor de origine.

În funcție de tipul de celulă, sau de tipul proteinei, se consideră că o proporție de 30-90% din totalitatea proteinelor membranare, difuzează

lateral în planul membranei. S-a constatat însă că, în membranele naturale, viteza de difuziune este de 10-30 de ori mai lentă decât în membranele artificiale (liposomi). Această scădere a mobilității care apare în plasmalema celulei vii, se datorează în primul rând interacțiunii dintre fața citoplasmatică a proteinelor transmembranare și elementele citoscheletului.

Nu toate proteinele membranare pot difuza liber în bistrat; unele sunt immobilizate prin contact cu alte proteine membranare sau cu formațiunile filamentoase ale citoscheletului celular. Microfilamentele lungi de actină, component major al citoscheletului, formează o rețea pe fața citoplasmatică a membranei, rețea care vine în contact cu proteinele membranare. La rețeaua citoscheletului participă și microtubulii și filamentele intermediare; s-a evidentiat că și filamentele intermediare se ancorează la proteinele membranare.

Modelul de mozaic fluid al membranei

Prima imagine reală despre arhitectura moleculară a membranei celulare a fost imaginată relativ târziu. Doar după anul 1970, o serie de date experimentale au sugerat că membrana este organizată după modelul de mozaic fluid (Figura 4-14). Acesta a fost descris detaliat de către SINGER și NICOLSON în 1972. Astăzi, acest model de organizare este general acceptat.

Modelul de mozaic fluid postulează că:

- lipidele și proteinele transmembranare sunt dispuse în mozaic;
- membrana are o structură semifluidă, atât lipidele cât și proteinele executând mișcări de translație în planul bistratului lipidic;
- fluiditatea implică existența între componentele moleculare, a interacțiunilor fizico-chimice slabe, necovalente;
- toate moleculele care intră în structura de bază a membranei sunt amfifile (amfipatice);
- fluiditatea mozaicului este posibilă doar în condiții de temperatură superioară temperaturii de tranziție din faza de gel în faza de cristal lichid, condiție realizată de nivelul temperaturii fiziologice;

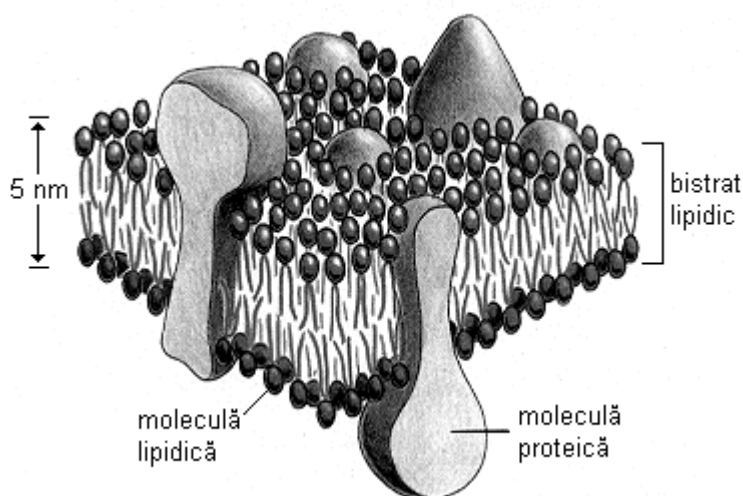


Figura 4-14 Modelul de mozaic fluid al membranei elaborat de SINGER și NICOLSON în 1972.

-bistratul lipidic are o structură bidimensională, fapt ce decurge din dispoziția asimetrică a moleculelor în membrană.

Astfel, membrana celulară poate fi imaginată că fiind formată dintr-o "mare lipidică" în care plutesc că niște "iceberguri" moleculele proteice.

Organizarea membranei celulare după modelul de mozaic fluid a fost probată astăzi fără echivoc printr-o serie de dovezi experimentale obținute prin folosirea unor tehnici de mare acuratețe.

Proteinele membranare pot fi vizualizate la microscopul electronic prin metoda criofracturării

Prin microscopia electronică de transmisie este posibilă studierea suprafeței unui preparat, putându-se vizualiza chiar și molecule individuale. Preparatul este metalizat sub un anumit unghi. Pulverizarea dintr-o direcție oblică a vaporilor de metal pe suprafața specimenului produce un efect de umbrire, ceea ce dă imaginii un aspect tridimensional. Unele preparate sunt atât de subțiri încât pot fi penetrate direct de către un fascicul de electroni; acesta este cazul moleculelor individuale, al virusurilor sau al membranelor celulare. În cazul preparatelor mai groase, materialul organic este degradat cu acizi, observându-se doar replica. Pentru a se putea dispune pe o grilă suport, replica trebuie acoperită la rândul ei, cu un film fin de carbon. Principiul de mai sus este curent utilizat astăzi în tehnica de **criofracturare ("freeze-fracture")**, care permite vizualizarea interiorului membranelor celulare. Celulele sunt înghețate la temperatura azotului lichid (-196°C) în prezența unui *crioprotectant*, pentru a se preveni distorsiunile determinate de cristalele de gheață, și apoi sunt "lovite" cu un cuțit, ceea ce provoacă o fractură a suprafeței preparatului înghețat. În unele zone planul fracturii trece prin interiorul hidrofob al bistratului lipidic membranar, expunând astfel interiorul membranei. Suprafețele de fractură sunt apoi metalizate (vezi mai sus) și se observă la microscopul electronic de transmisie. Aspectul lor evidențiază prezența unor mici formațiuni globulare, numite *particule intramembranare*, care reprezintă de fapt proteinele membranare integrale ce străbat bistratul lipidic. Există astăzi o serie de variante ale acestei tehnici ("*etching*"), toate prezentând avantajul că permit observarea structurilor subcelulare care nu au fost supuse fixării chimice, ceea ce înlătură riscul apariției artefactelor.

Membrana eritrocitului

Una din cele mai cunoscute membrane este cea care mărginește eritrocitul mamiferelor. Eritrocitele nu au nucleu și nici endomembrane; ele se prezintă ca un "sac" de hemoglobină și conțin relativ puține tipuri de proteine. Datorită simplității acestor celule, a fost posibilă studierea detaliată a membranei lor, ceea ce a contribuit esențial la înțelegerea modului în care proteinele membranare integrale interacționează cu alte componente celulare.

Particularitățile structurale ale membranei eritrocitului

În mod normal, eritrocitul adoptă forma unui disc biconcav de 7 μm diametru. Celula este foarte flexibilă, fapt dovedit de capacitatea ei de a traversa capilare mult mai subțiri. Eritrocitele deformate sau îmbătrânite, care nu mai posedă această flexibilitate, sunt imobilizate în capilarele splinei și sunt ingerate de macrofage. Membrana eritrocitului trebuie să fie rezistentă; în cursul vieții sale de 120 de zile, eritrocitul uman parcurge aproximativ o jumătate de milion de circuite prin arterele și venele unui organism, drum cu o lungime de aproximativ 500 km. Această rezistență este dată, în principal, de interacțiunea proteinelor membranare integrale, cu elementele citoscheletului eritrocitar, care are o dispoziție particulară la acest tip de celule.

Membrana eritrocitului nu este foarte reprezentativă pentru membranele celorlalte celule pentru că are o structură extrem de omogenă; proteinele sale sunt mult mai uniform distribuite, fără să formeze zone specializate. Caracterul particular al membranei eritrocitului derivă însă din aceea că, pe fața citoplasmatică, are atașată o rețea densă de formațiuni citoscheletale. Aceasta este structura care oferă membranei marea sa rezistență și flexibilitate (Figura 4-15).

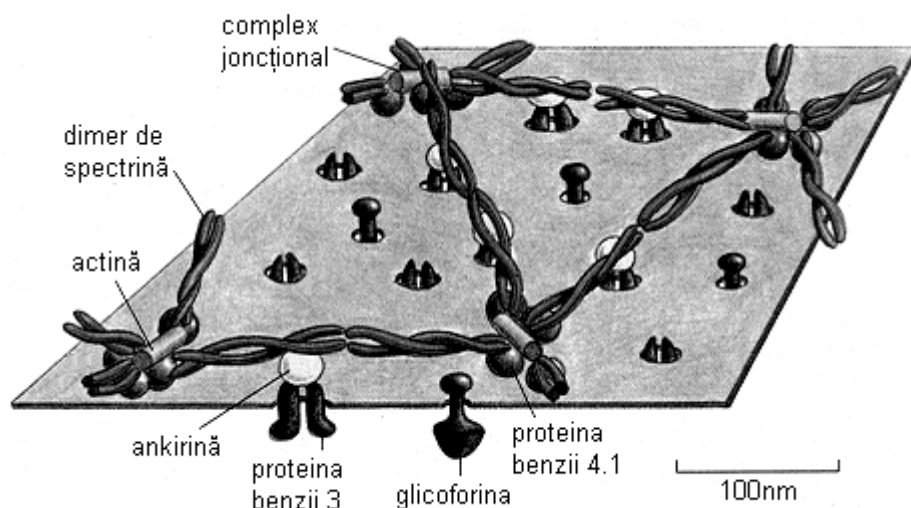


Figura 4-15 Eritrocitul conține un citoschelet fibrilar care "cătușește" membrana pe fața citoplasmatică, atașându-se la ea printr-o serie de "puncte".

Spre deosebire de eritrocit, celelalte celule au un citoschelet care străbate toată citoplasma și care este ancorat la membrană prin relativ puține puncte. Astfel, membrana eritrocitului constituie un important exemplu de organizare a membranelor și de interacțiune cu elementele citoscheletului.

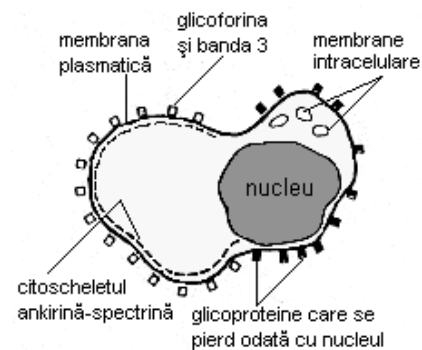


Figura 4-16 Distribuția proteinelor membranare într-un eritroblast pe parcursul defășurării enucleației.

Este interesant să examinăm structura membranei eritrocitului și modificarea sa pe parcursul procesului de diferențiere celulară care duce la formarea sa. Eritrocitele adulte iau naștere din celulele STEM nucleate, din măduva osoasă. Celulele STEM cresc, se divid și încep să sintetizeze hemoglobina, stadiu în care se numesc **eritroblaste** (hematologii împart acest stadiu în mai multe sub-stadii de dezvoltare). Eritroblaștii conțin hemoglobină, spectrină, precum și alte proteine membranare caracteristice (ankirina, proteina benzii 3, glicoforina). În continuare, partea celulei care conține nucleul și membranele intracelulare, este separată ("pensată") și eventual degradată. Celulele anucleate rămase, numite acum **reticulocite**, continuă să sintetizeze hemoglobina și celelalte proteine eritrocitare. Ulterior celula își pierde ribozomii, precum și o treime din membrana plasmatică, dobândind forma de disc biconcav a eritrocitului adult.

În stadiul în care eritroblastul își pierde nucleul, întreaga cantitate de spectrină, ankirină, banda 3 și glicoforină, se acumulează în eritrocitul în formare. Detaliile procesului prin care este pierdut nucleul nu sunt cunoscute, dar s-a evidențiat că citoscheletul bogat în spectrină, "selectează" unele proteine membranare integrale, aglomerându-le în reticulocit și discriminându-le de celelalte proteine, care sunt descărcate cu porțiunea ce conține nucleul (Figura 4-16).

Izolarea membranelor eritrocitare

Analiza proteinelor membranare eritrocitare este relativ simplă. Dacă celulele sunt introduse în apă distilată, se produce spargerea lor, datorită influxului masiv de apă prin osmoză. Cu alte cuvinte, membrana plasmatică se rupe și se eliberează hemoglobina și celelalte proteine interne. Din cauză că membranele celulelor lizate, care au eliberat hemoglobina, rămân la mărimea unor celule intacte, dar sunt albe, ele au primit denumirea de **fantome eritrocitare** ("ghost") (Figura 4-17). Suspendate în soluții cu o concentrație ionică corespunzătoare, fantomele formează vezicule închise. În soluții cu tărie ionică normală, în prezența ionilor de Mg^{2+} membranele se dispun într-o orientare normală: fața externă rămâne la exterior. Dacă se schimbă compoziția mediului, se pot obține vezicule cu membrana orientată invers, având fața citoplasmatică spre exterior. Aceste fantome inversate se folosesc pentru studiul feței citoplasmice a membranei eritrocitare.

Proteinele membranare ale eritrocitului

Pentru studiul proteinelor membranare eritrocitare, fantomele se dizolvă într-un detergent ionic negativ (SDS) și se analizează prin electroforeză. Convențional, proteinele majore care se separă, sunt

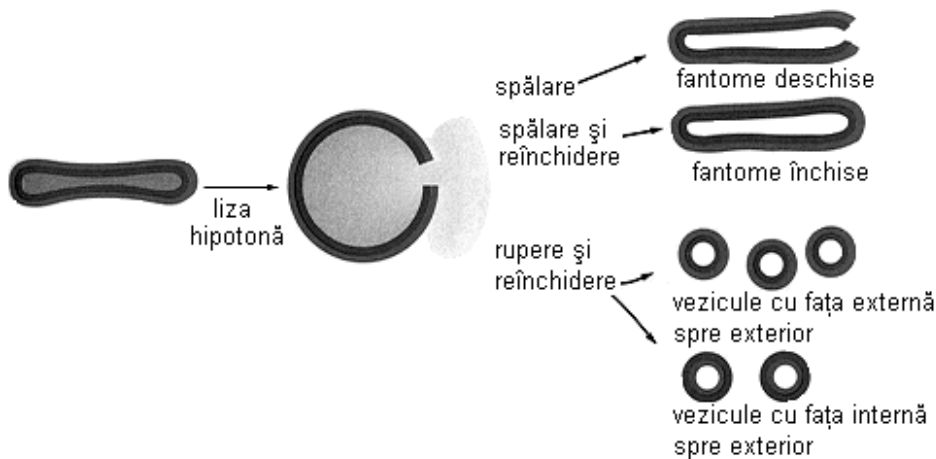


Figura 4-17 Liza osmotică a eritrocitelor și producerea de fantome eritrocitare.

numerotate în ordinea descrescătoare a greutateii lor moleculare (Figura 4-18). Din totalitatea proteinelor care se separă prin electroforeză din fantomele eritrocitare, doar două sunt proteine transmembranare: glicoforina și proteina benzii 3, toate celelalte aparțin citoscheletului eritrocitar atașat la membrană pe fața citoplasmatică.

Glicoforina este prima proteină membranară a cărei secvență completă de aminoacizi a fost determinată. Ea conține 131 de aminoacizi care formează un lanț polipeptidic ce străbate bistratul membranelor o singură dată. Cea mai mare parte a moleculei este expusă pe fața externă a membranei, aici atașându-se la lanțul polipeptidic o cantitate importantă de molecule oligozaharidice. Cu toate că există aproximativ 6×10^5 molecule de glicoforină per eritrocit, funcția acestei proteine a rămas necunoscută. S-a constatat că indivizii ale căror eritrocite nu conțin în membrana lor glicoforină, sunt perfect sănătoși.

Proteina benzii 3, spre deosebire de glicoforină, este cunoscută ca jucând un rol deosebit în funcțiile eritrocitului. Molecula sa, mult mai mare (930 aminoacizi), străbate de mai multe ori bistratul membranelor. Ea este principalul transportor de anioni din membrana eritrocitară. Cea mai importantă funcție a eritrocitelor este aceea de a transporta O_2 de la plămâni la țesuturi și CO_2 de la țesuturi la plămâni. CO_2 acumulat de către eritrocite în țesuturi, este eliberat în plămâni prin eliminarea de HCO_3^- la schimb cu Cl^- , care intră în celule. Acest schimb de ioni este asigurat de către un transportor de anioni reprezentat de proteina benzii 3.

Proteinele integrale ale membranelor eritrocitare se deosebesc de ale celorlalte celule pentru că ele nu pot difuza în planul membranei, fiind deci imobile. Imobilizarea lor este realizată de către elementele citoscheletului situat sub membrană. În mediu cu concentrație ionică scăzută, fantomele eritrocitare eliberează principalele proteine ale citoscheletului: proteina benzii 1, proteina benzii 2 (spectrinele) și respectiv, proteina benzii 5 (actina). Pierderea acestor proteine are două consecințe: fantomele își pierd aspectul lor rigid și proteinele membranare integrale își recapătă mobilitatea. Aceasta demonstrează că

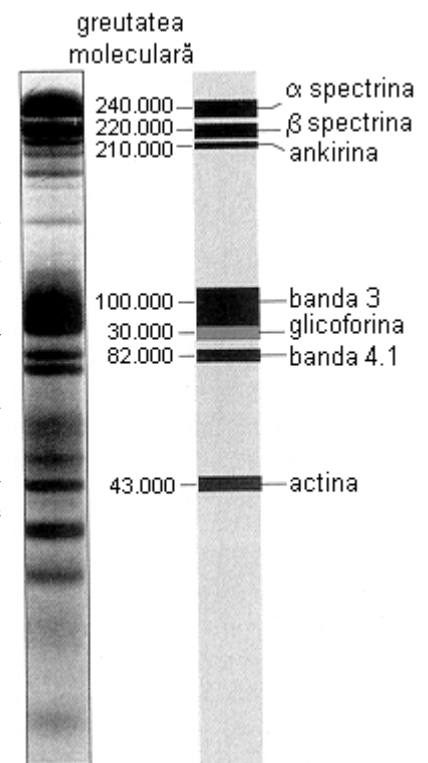


Figura 4-18 Electroforeza proteinelor din fantomele eritrocitare. Se observă ordinea de dispunere a benzilor de proteine migrate.

citoscheletul eritrocitar este principalul factor care determină forma caracteristică a eritrocitului. Trebuie subliniat că forma de disc biconcav a eritrocitului este determinată nu numai de proteinele amintite mai sus. La aceasta mai participă și *proteina benzii 4.1*, *ankirina*, *tropomiozina*, *aducina* și *miozina*.

Sferocitoza ereditară și **eliptocitoza** sunt boli umane care apar ca urmare a unor mutații genice. În ambele boli, eritrocitele au morfologia alterată. În unele cazuri, defectul se datorează sintezei de spectrină anormală ceea ce face imposibilă legarea sa de proteina benzii 4.1 sau de ankirină. În alte cazuri, ankirina este defectuoasă sau chiar absentă. Oricare ar fi cauza, consecința este aceeași: citoscheletul este nestabil, ceea ce duce la o formă anormală a celulei. Deoarece asemenea eritrocite anormale sunt degradate mai rapid de către splină decât celulele normale, persoanele bolnave suferă de anemie severă.

Structurile specializate ale membranei celulare

Spre deosebire de celulele sanguine, care în organism se află în suspensie, majoritatea celulelor animale sunt organizate în structuri multicelulare care formează țesuturile. Asemenea celule, dispuse în straturi sau agregate multicelulare, își pot îndeplini funcțiile specifice doar dacă membrana lor este organizată în domenii distincte, fiecare specializat pentru anumite funcții. Se spune că aceste celule sunt polarizate funcțional. De asemenea, pentru ca un țesut să aibă consistență, celulele sale trebuie să fie capabile să stabilească contacte foarte strânse între ele. Acest lucru este asigurat de structuri specializate numite **joncțiuni celulare**.

Distribuția asimetrică a proteinelor în domenii distincte ale membranei

Descrierea aspectului fluid, bidimensional al membranelor biologice, a contribuit în mod esențial la înțelegerea structurii și funcțiilor membranei. Astăzi este evident faptul că imaginea membranei ca o "mare lipidică" în care plutesc proteinele, este un mod simplist de a privi lucrurile. Majoritatea celulelor sunt capabile să-și imobilizeze proteinele membranare în zone specifice ale bistratului lipidic. De exemplu, în celulele epiteliale, cum sunt cele din mucoasa gastrică sau cele din tubii uriniferi ai rinichiului, o serie de enzime membranare sau proteine transportoare, sunt aglomerate la suprafața apicală a celulelor, pe când alte proteine membranare, sunt imobilizate pe fețele laterale și bazale (Figura 4-19).

Distribuția asimetrică a proteinelor membranare este esențială pentru funcțiile unui epiteliu. Compoziția lipidică a celor două domenii membranare (apical și bazo-lateral) este de asemenea diferită, ceea ce înseamnă că celulele pot limita difuziunea liberă nu numai a proteinelor, ci și a lipidelor. Menținerea distribuției separate a moleculelor lipidice și proteice în membranele celulelor epiteliale este asigurată, cel puțin în unele cazuri, de existența unor bariere reprezentate de o categorie specifică de joncțiuni intercelulare (numite joncțiuni strânse).

Celulele pot crea domenii membranare distincte și fără a utiliza joncțiuni intercelulare. Astfel, spermatozoidul mamiferelor este o celulă formată din două părți distincte, capul și coada, acoperite de o membrană plasmatică continuă. Dacă aceste celule sunt privite la microscopul cu fluorescență, prin utilizarea mai multor tipuri de anticorpi care reacționează cu antigene de suprafață, membrana apare ca fiind formată din trei domenii (Figura 4-20). Antigenele, care sunt reprezentate de proteine sau glicoproteine membranare, sunt capabile să difuzeze liber

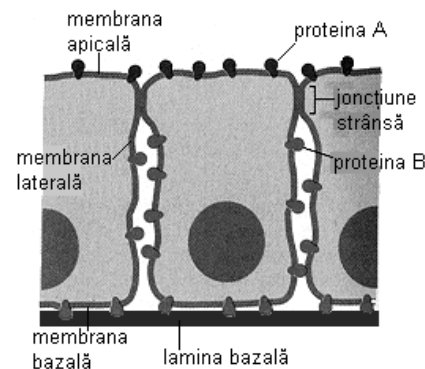


Figura 4-19 Distribuția neomogenă, asimetrică a proteinelor membranare. Difuziunea liberă a proteinei A, respectiv B, este limitată în zone distincte datorită existenței joncțiunilor strânse.

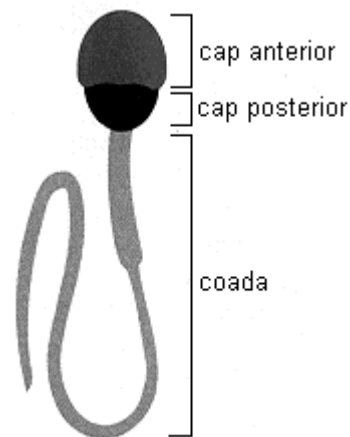


Figura 4-20 Cele trei domenii ale membranei unui spermatozoid, care pot fi evidențiate prin folosirea anticorpilor monoclonali.

doar în limitele domeniului lor; nu se cunoaște cum se realizează separarea celor trei domenii.

Modalitățile cele mai comune de blocare a mobilității laterale a proteinelor membranare se realizează prin legarea lor la ansamblul molecular de pe suprafața sau din interiorul celulelor. Am aratat mai sus modul în care proteinele membranare ale eritrocitului sunt ancorate la citoscheletul membranelor; la alte tipuri de celule, proteinele membranare pot fi ancorate la structurile matricei extracelulare. Cele patru mecanisme de imobilizare a proteinelor membranare sunt reprezentate schematic în Figura 4-21.

Polarizarea funcțională a membranei celulelor din acinul pancreatic

Un acin pancreatic este o formațiune mai mult sau mai puțin sferică, formată din aproximativ 20 de celule. Lumenul acinului (cavitatea centrală) este conectat la canaliculi care se unesc cu canaliculii altor acini, formând canalele de secreție. În cele din urmă, produsul de secreție se varsă în lumenul intestinal. Celulele acinare sintetizează enzime (amilaze, proteaze, ribonucleaze etc.) care degradează macromoleculele alimentare în intestin. În celule, aceste enzime sunt stocate sub forma de precursori inactivi în vezicule secretorii delimitate de membrane și aglomerate sub **membrana apicală** (membrana plasmatică adiacentă la canalicul). Veziculele secretorii fuzionează numai și numai cu această zonă a membranei, determinând eliberarea enzimelor digestive în canalicul. Restul suprafeței celulare, numită **membrana bazolaterală**, cuprinde membranele din partea bazală și laterală a celulei. Substanțele nutritive din sânge sunt transportate în celulele acinare la nivelul acestei regiuni a membranei. Membrana bazolaterală conține, de asemenea, receptori pentru hormonii eliberați de duoden și stomac la contactul cu alimentele, hormoni care declanșează secreția de enzime digestive de către celulele acinare.

Polarizarea funcțională a membranei enterocitului

Cele mai studiate celule epiteliale polarizate funcțional sunt celulele care căptușesc lumenul intestinal (enterocitele). Ele au două funcții majore: (1) absorb substanțele nutritive provenite din digestia alimentelor, din lumenul intestinal în citoplasmă; (2) transferă substanțele absorbite, în sânge.

Suprafața luminală (apicală) a acestor celule este puternic specializată pentru absorbție. Această regiune, numită și "margine în perie", datorită aspectului său, este formată dintr-un mare număr de prelungiri digitiforme (100 nm diametru) numite **microvili**. Aceste extensii ale suprafeței celulare măresc foarte mult aria membranei, ceea ce duce la creșterea vitezei de absorbție (Figura 4-22). Membrana

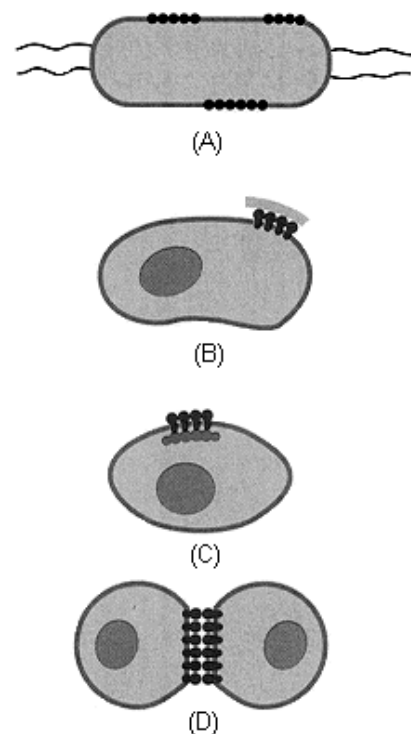


Figura 4-21 Modalitățile de imobilizare ale proteinelor membranare. Proteinele se pot asambla în agregate mari (A), pot fi grupate prin interacțiunea cu molecule din exterior (B) sau din interiorul celulei (C), sau pot interacționa cu proteinele de pe suprafața altei celule (D).

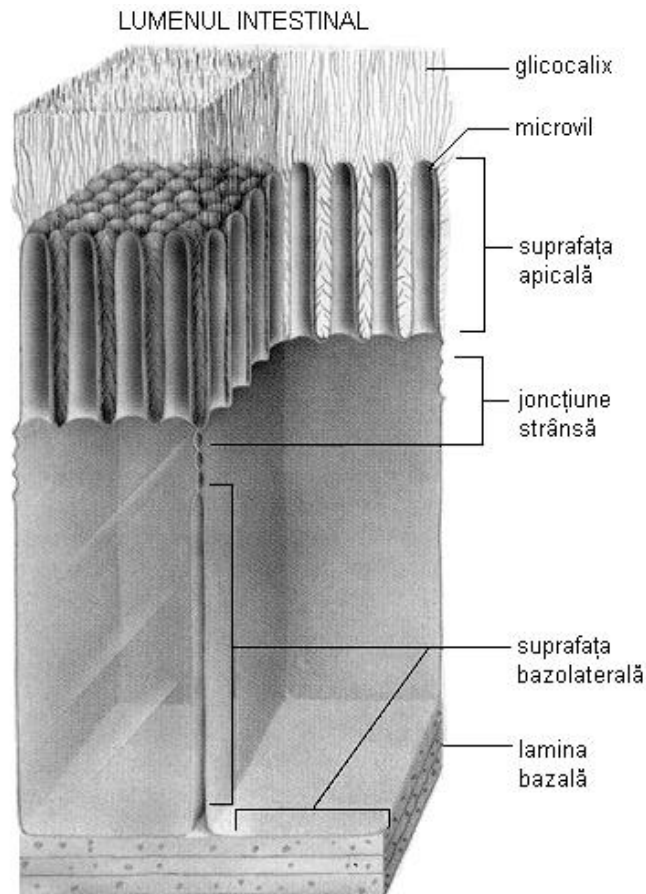


Figura 4-22 Polarizarea funcțională a enterocitului.

microvililor conține proteine transportoare care permit intrarea în celule a glucozei, aminoacizilor și a altor compuși prezenți în alimente. De asemenea, la suprafața microvililor se află legate o serie de enzime digestive. După ce proteinele și polizaharidele sunt degradate de către enzimele pancreatice din lumenul intestinal în peptide și oligozaharide, acestea din urmă trebuie degradate în continuare până la monozaharide (glucoză) și aminoacizi, pentru că altfel nu pot fi absorbite. Această degradare finală este realizată de către peptidazele și glicozidazele legate pe suprafața microvililor. La microscopul electronic, acest set de enzime hidrolitice apare ca un "puf" pe suprafața microvililor, formând o structură a suprafeței celulare numită **glicocalix**.

O glicozidază care intră în structura glicocalixului de pe suprafața microvililor este sucraza-izomaltaza. Glucidul major din alimentația omului este sucroza (zaharoza), un dizaharid. Pentru a fi absorbită din intestin, sucroza trebuie hidrolizată în cele două monozaharide ale sale, glucoza și fructoza, de către sucraza-izomaltază. Această enzimă este formată din două lanțuri polipeptidice alungite pe suprafața luminală a celulelor intestinale. Enzima este ancorată în membrana plasmatică printr-o regiune hidrofobă formată din 30 de aminoacizi, iar cea mai mare parte a proteinei se întinde la suprafața externă a membranei, având legate aici și lanțuri oligozaharidice. Dispusă astfel, sucraza-izomaltaza produce glucoză și fructoză, foarte aproape de membrana celulară, unde acestea se absorb.

Structura microvililor

La structurarea microvililor participă mai multe componente ale membranei plasmatică și ale citoscheletului. Proteinele din structura lor, le determină aspectul și diametrul uniform. În axul fiecărui microvil se află un mănunchi de filamente de actină. Filamentele se ancorează la o extremitate de proteinele de pe fața citoplasmatică a membranei microvilare, iar la bază se intersectează cu o rețea de filamente ce conțin proteine de legare a actinei. Această rețea traversează la nivelul bazei microvililor toată celula (Figura 4-23).

Dispuse astfel, microfilamentele asigură rigiditatea microvililor, dar, în același timp, pot determina mișcarea lor înainte și înapoi.

Rețeaua filamentoasă situată în celulă aproape de baza microvililor, se inseră pe fața citoplasmatică a membranei laterale la un tip special de joncțiuni celulare (benzi de aderență).

Microvili cu această structură există și în alte tipuri de celule. De exemplu, în tubulii renali ei au rolul de a mări suprafața de reabsorbție a moleculelor, dinspre urină spre sânge.

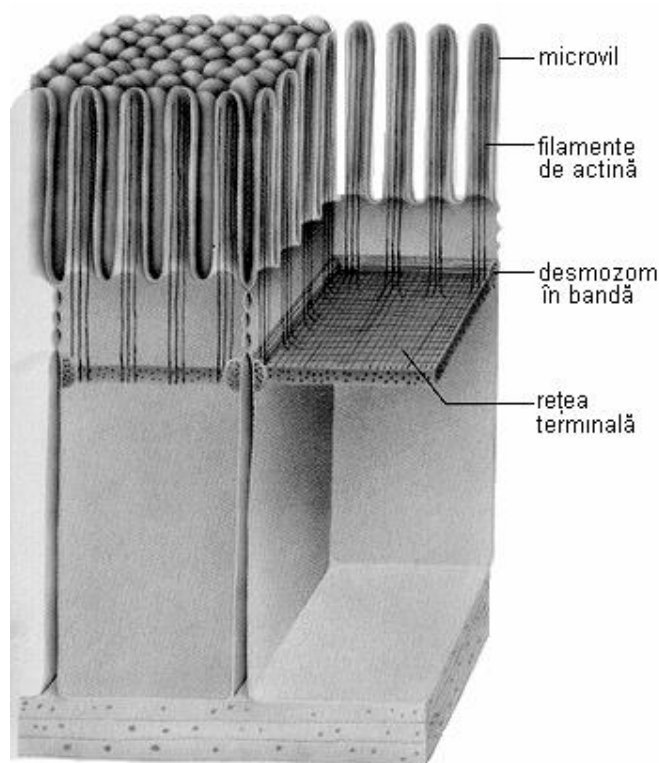


Figura 4-23 Structura microvililor.

Joncțiunile celulare

În organism, celulele individuale se află agregate în țesuturi. Pentru ca ele să funcționeze în mod integrat, la suprafața celulelor există formațiuni specializate care au primit denumirea de **joncțiuni celulare**. Joncțiunile celulare pot fi clasificate în trei categorii funcționale:

-joncțiunile de ocluzie, care leagă celulele epiteliale într-un strat continuu, în așa fel încât blochează trecerea moleculelor dintr-o parte a stratului înspre cealaltă parte; se mai numesc joncțiuni strânse;

-joncțiunile de ancorare, care atașează mecanic celulele și citoscheletul lor, cu celulele vecine sau cu matricea extracelulară; cuprind joncțiunile de aderență și desmozomii;

-joncțiunile comunicante, care mediază trecerea semnalelor chimice sau electrice de la o celulă la alta; cuprind joncțiunile "gap" și sinapsele chimice.

În afara zonelor de joncțiune, spațiul dintre membranele celulelor adiacente are o dimensiune de aproximativ 200 Å. Acest spațiu conține glicoproteine extracelulare de suprafață care, probabil, au și ele un rol important în adeziunea intercelulară.

Joncțiunile de ocluzie (strânse)

Joncțiunile strânse ("tight junctions") sunt formate din benzi subțiri care înconjoară celulele de jur împrejur. Principala funcție a tuturor epiteliiilor este de a realiza o barieră de permeabilitate selectivă, separând astfel lichidele de pe cele două fețe, care au o compoziție chimică diferită. Această funcție este cel mai bine ilustrată în cazul epitelului care mărginește cavitatea intestinală. Joncțiunile strânse prezente la acest epiteliu sunt impermeabile pentru substanțele prezente în lumenul intestinal, astfel că acestea nu pot difuza prin spațiile intercelulare pe fața opusă. Din această cauză, substanțele alimentare nu pot trece în capilarele sanguine decât printr-un proces de transport transepitelial.

Structura moleculară a joncțiunilor strânse este puțin cunoscută, însă prin microscopie electronică s-a observat că ele sunt formate dintr-o rețea de șiruri de molecule proteice anastomozate care, toate, înconjoară polul apical al fiecărei celule din epiteliu. Moleculele proteice care formează aceste șiruri pe membrana unei celule, vin în interacțiune cu șirurile din membrana celulei adiacente (Figura 4-24). Această structură închide perfect spațiul intercelular, ceea ce blochează difuzia liberă a moleculelor prin acest spațiu. Capacitatea joncțiunilor strânse de a bloca trecerea ionilor prin spațiul dintre celule crește logaritmic cu numărul de șiruri proteice care formează joncțiunea.

Unele cercetări au arătat că aceste joncțiuni își păstrează integritatea doar în prezența concentrației fiziologice a Ca^{2+} din spațiul

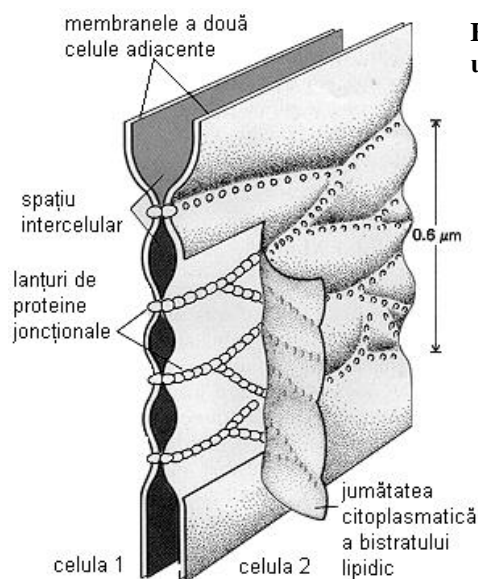


Figura 4-24 Modelul structurii unei jonționi strânse.

intercelular. Când concentrația de Ca^{2+} din mediu scade, jonționile se dezintegrează, iar dacă este readusă la normal, aceste jonționi se reagregă în maximum o oră. De asemenea, tratamentul epiteliilor cu tripsină (enzimă proteolitică), distruge jonționile strânse, ceea ce demonstrează că proteinele sunt componenta lor esențială.

Rolul jonționilor strânse

Pentru ca celulele epiteliale polarizate funcțional, cum sunt cele din epiteliul intestinal, să funcționeze, suprafețele apicale și respectiv, cele bazolaterale, trebuie să conțină seturi diferite de proteine membranare integrale:

- un set de proteine, localizat în membrana de pe suprafața apicală (suprafața dinspre lumen), pompează activ și selectiv moleculele din lumenul intestinal în citoplasma celulelor epiteliale;

- un alt set de proteine, localizat în membrana de pe suprafața bazolaterală, permite aceluiași molecule să părăsească celulele prin difuziune facilitată, înspre lichidele extracelulare de pe fața opusă a epiteliului (Figura 4-25). Pentru ca pomparea direcționată, într-un singur sens, dinspre polul apical spre polul bazal, să fie menținută, setul apical de proteine transportoare nu trebuie lăsat să difuzeze spre polul bazal al celulei, și invers, setul bazolateral să nu difuzeze spre polul apical. Jonționile strânse blochează această difuziune. Astfel, aceste jonționi funcționează ca o barieră în calea difuziunii libere a proteinelor membranare. Aceleași reguli i se supun și lipidele membranare.

În concluzie, se poate spune că jonționile strânse, numite și "de ocluzie", au două funcții importante:

- (1) separă două cavități prin legarea strânsă a celulelor epiteliale, blocând astfel difuziunea liberă a moleculelor prin spațiile intercelulare;

- (2) separă suprafața celulelor epiteliale în *pol apical* și *pol bazolateral*, prin blocarea difuziunii libere a moleculelor transportoare.

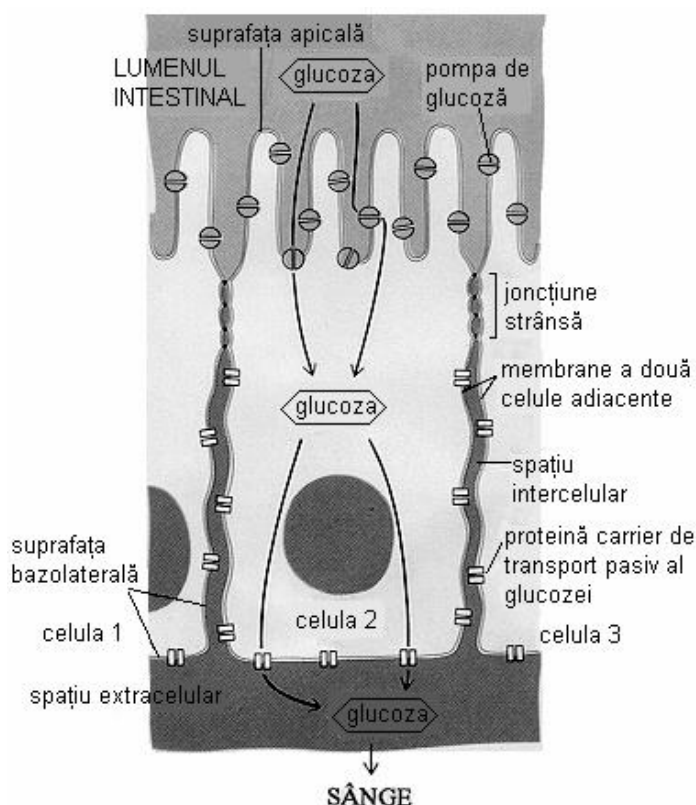


Figura 4-25 Dispoziția proteinelor transportoare din cele două regiuni distincte ale membranei celulelor intestinale. Joncțiunile strânse opresc difuziunea liberă a moleculelor transportoare în membrana celulară.

Joncțiunile de ancorare

Joncțiunile de ancorare sunt foarte abundente în țesuturile supuse unor solicitări mecanice severe, cum sunt: mușchiul cardiac, epidermul, colul uterin. Aceste joncțiuni constau din două forme structural și funcțional diferite: **joncțiunile de aderență**, care prezintă în citoplasmă situsuri de conectare la filamentele de actină, și **desmozomii** și **hemi-desmozomii**, care prezintă în citoplasmă situsuri de conectare la filamentele intermediare.

Toate joncțiunile de ancorare au la baza organizării lor, două tipuri de proteine:

-*proteine intracelulare de atașare*, care conectează complexul joncțional la elementele specifice ale citoscheletului (filamentele de actină sau filamentele intermediare);

-*glicoproteine transmembranare de legare*, al cărui domeniu intracelular se leagă la una sau mai multe proteine de atașare intracelulare, iar domeniul extracelular interacționează, fie cu matricea extracelulară, fie cu domeniul extracelular al glicoproteinelor transmembranare de legare ale altei celule (Figura 4-26).

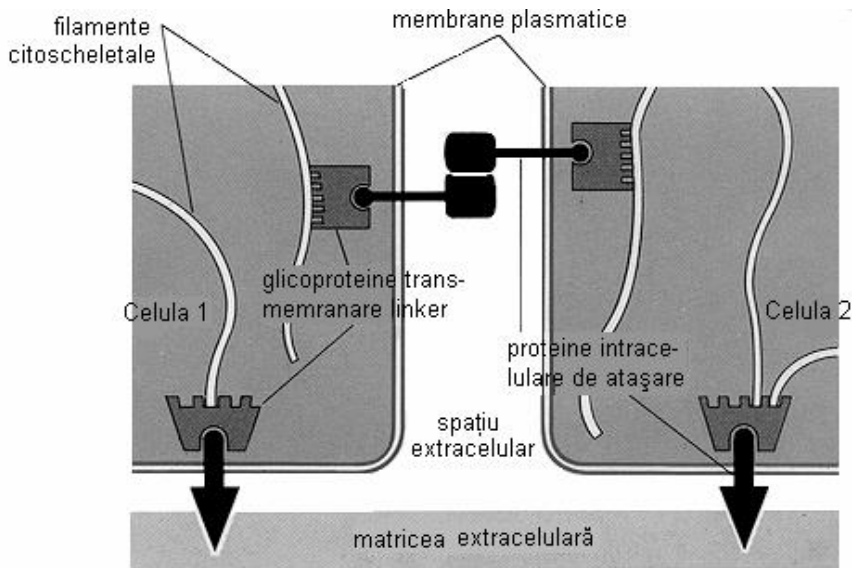


Figura 4-26 Principiile generale de structurare a joncțiunilor de ancorare.

Interacțiunea joncțiunilor de aderență cu filamentele de actină

Joncțiunile de aderență pot fi clasificate în două categorii: *joncțiuni celulă-celulă* și *joncțiuni celulă-matrice*. Caracteristic este faptul că toate joncțiunile de aderență au rolul dublu, de a asigura legarea celulelor într-un țesut, precum și de a implica în acest proces filamentele de actină, deci componente ale citoscheletului celular. Astfel, rezistența mecanică a unui țesut nu este asigurată prin simpla aderență a suprafeței membranelor celulelor adiacente la nivelul joncțiunii, ci și prin participarea citoscheletului celular, deci a unor componente citoplasmaticice.

În epiteliile, joncțiunile de aderență au forma unor benzi care înconjoară, ca un cordon, polul apical al celulelor, imediat sub joncțiunea de ocluzie. Ele au fost denumite **benzi de aderență**. Celulele învecinate au benzile de aderență situate la același nivel, astfel că aici membranele lor interacționează prin intermediul unor proteine cu afinitate pentru Ca^{2+} , numite **cadherine** (Tabel 4-2). Până de curând, benzile de aderență au fost denumite "desmozomi în bandă", dar acest lucru a fost greșit pentru că benzile de aderență au o structură cu totul diferită față de un desmozom real (vezi mai jos). Pe fața citoplasmatică a membranei, benzile de aderență prezintă un cordon continuu de filamente de actină, dispus paralel cu membrana plasmatică, la care se atașează prin intermediul unui complex de proteine de atașare care conțin *vinculină*. Astfel, filamentele de actină formează prin intermediul glicoproteinelor transmembranare din joncțiune, o rețea transcelulară care este implicată într-un proces fundamental al morfogenezei - pliarea stratului de celule epiteliale în tuburi (Figura 4-27).

Tabel 4-2

Principalele molecule de cadherine din celulele mamiferelor

Tipul de cadherină	Distribuția celulară
Cadherina E (uvomorulina)	Embrioni în stadiul de preimplantare Celule epiteliale (în particular, la benzile de aderență)
Cadherina P	Trofoblast Inimă Plămân Intestin
Cadherina N	Sistemul nervos Plămân Inimă Cristalin Mezodermul embrionar ectodermul neural embrionar
Cadherina R	Nervii retinieni Celulele gliale
Cadherina M	Mioblaști Celule musculare scheletice

După: Lodish, H., Baltimore, D., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Darnell, J. Molecular Cell Biology (Third Ed.), Scientific American Books, New York, 1995, pp.: 1151.

Joncțiunile de aderență celulă-matrice, conectează celulele și filamentele lor de actină la matricea extracelulară. Și acest tip de joncțiuni trebuie deosebit de structurile numite hemidesmozomi, datorită structurii moleculare complet diferite. Celulele din diferite țesuturi, au pe membrană regiuni înalt specializate, numite **contacte focale** sau **plăci de adeziune**. Prin aceste regiuni, în care se termină rețele de filamente de actină, celulele aderă la moleculele din matricea extracelulară. La nivelul plăcilor de adeziune, relația dintre filamentele de actină din citoplasmă și moleculele matricei extracelulare, este mediată de o glicoproteină transmembranară cu funcție de *receptor pentru fibronectină* (*fibronectina* este o glicoproteină majoră a matricei). Porțiunea extracelulară a receptorilor pentru fibronectină se atașează la moleculele de fibronectină din matricea extracelulară, iar porțiunea orientată spre interiorul celulei, se atașează la o moleculă numită *talina* care, la rândul ei se leagă la *vinculina*; *vinculina* se leagă în continuare la alte două proteine care, în sfârșit, fac contactul cu actina (Figura 4-28).

Receptorii pentru fibronectină fac parte dintr-o categorie de glicoproteine transmembranare, numite **integrine**, toate având rolul de a conecta filamentele de actină la matricea extracelulară

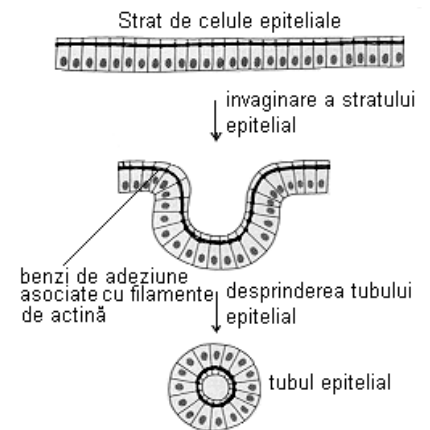


Figura 4-27 Plierea unui strat epitelial și formarea unui tub de natură epitelială (formarea tubului neural).

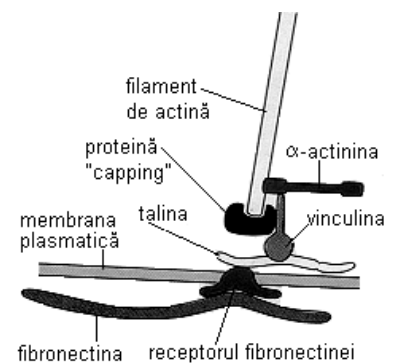


Figura 4-28 Structura moleculară a unei plăci de adeziune.

Structura desmozomilor

Desmozomii sunt puncte de contact intercelular sub formă de butoni, care leagă strâns celulele din diferite țesuturi, în special epitelii. Spre deosebire de joncțiunile de aderență, care se conectează cu filamentele de actină, desmozomii reprezintă situsuri de ancorare ale filamentelor intermediare care constituie o altă componentă a citoscheletului celular. Astfel, filamentele intermediare ale celulelor adiacente se interconectează indirect, prin intermediul acestor joncțiuni, formând o rețea continuă în întregul țesut.

În funcție de tipul celulei, filamentele intermediare care se atașează la desmozomi, pot fi: filamente de *keratină* în celulele epiteliale, filamente de *desmină* în celulele musculare, filamente de *vimentină* în celulele care intră în constituția meningelui.

În structura unui desmozom (Figura 4-29), intră două categorii de complexe moleculare:

-placa citoplasmatică, formată dintr-un complex de proteine intracelulare de atașare, care sunt responsabile pentru atașarea la citoschelet;

-glicoproteine transmembranare de legare, care se conectează la placa citoplasmatică și, prin porțiunea lor extracelulară, se asociază cu glicoproteinele transmembranare de la celula adiacentă, legând astfel membranele laolaltă.

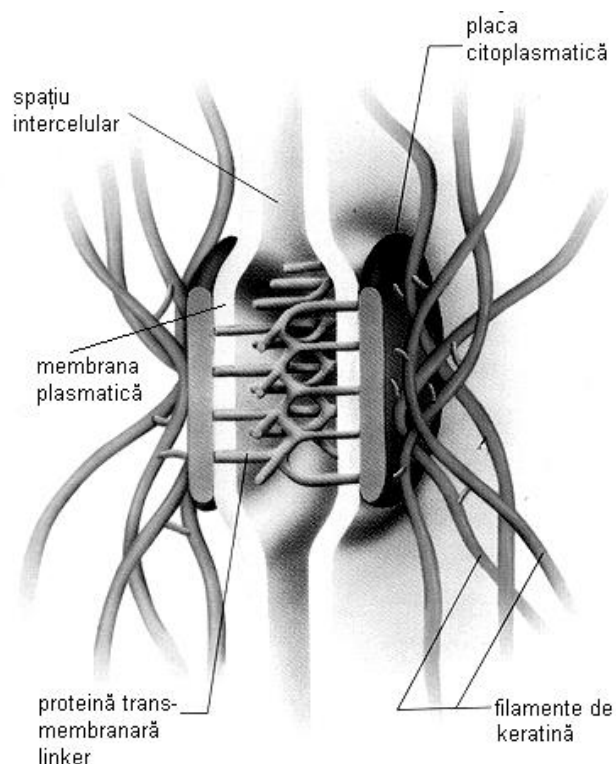


Figura 4-29 Reprezentare schematică a structurii unui desmozom.

Hemidesmozomii

Hemidesmozomii sunt "jumătăți de desmozomi", asemănători morfologic cu desmozomii, dar se disting de aceștia, atât funcțional cât și biochimic. În loc de a lega membranele celulelor adiacente, hemidesmozomii conectează suprafața bazală a celulelor epiteliale la *lamina bazală*, o structură specială a matricei extracelulare, dispusă la interfața dintre epitelii și țesutul conjunctiv. Filamentele de keratină, care intră în mod obișuit în contact cu desmozomii, se pot atașa și la placa citoplasmatică a hemidesmozomilor într-o manieră asemănătoare (Figura 4-30). Astfel, desmozomii și hemidesmozomii acționează ca niște butoni care distribuie forțele de tensiune ce se exercită asupra epiteliului și asupra țesutului conjunctiv situat sub acesta.

Importanța desmozomilor în legarea celulelor este demonstrată de unele forme, chiar letale, ale unei boli de piele, numită **pemphigus**. Indivizii bolnavi produc anticorpi împotriva unor glicoproteine transmembranare proprii. Autoanticorpii produși se leagă la domeniul extracelular al glicoproteinelor transmembranare, ceea ce determină ruperea desmozomilor aflați între celulele epiteliale. Aceasta duce la pierderea masivă de lichide prin aceste epitelii afectate. De notat că anticorpii dezintegrează doar desmozomii din piele, ceea ce sugerează că desmozomii din alte țesuturi pot avea o compoziție biochimică diferită.

Joncțiunile comunicante

Aproape toate celulele animale care se află în contact una cu cealaltă, au pe membrana lor regiuni joncționale specializate care se caracterizează prin apropierea membranelor, între ele rămânând totuși un spațiu de 15 nm. Aceste regiuni de pe suprafața celulară au fost numite

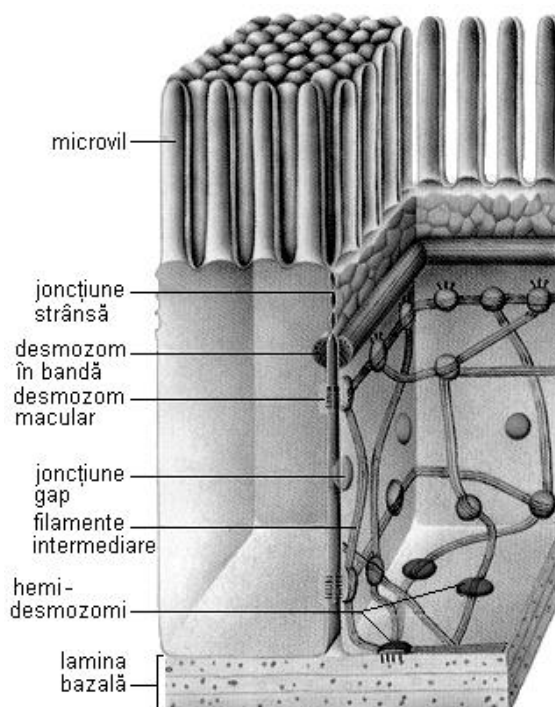


Figura 4-30 Distribuția desmozomilor și hemidesmozomilor în celulele epiteliale ale mucoasei intestinale.

joncțiuni gap ("gap" - gol, spațiu mic). La nivelul acestor zone se află aglomerate o serie de proteine caracteristice. Joncțiunile gap mediază comunicarea dintre celule deoarece lasă să treacă prin ele, direct din citoplasma unei celule la celula vecină, ionii anorganici și alte molecule hidrosolubile mici. Astfel se realizează cuplarea electrică și metabolică a celulelor vecine. Această modalitate de *cuplare*, are implicații funcționale deosebite, care au început să fie înțelese doar în ultimul timp.

Comunicarea intercelulară prin joncțiunile comunicante a fost pentru prima dată demonstrată prin metode fiziologice în 1958, dar au trebuit să treacă încă 10 ani pentru a se demonstra că această cuplare fiziologică este determinată de joncțiunile gap. Cu toate că morfologii le-au numit joncțiuni gap, nu gap-ul (spațiul dintre membrane) este principala lor caracteristică. O serie de particule cilindrice, numite ulterior **conexoni**, fac ca aceste joncțiuni să fie cu totul deosebite. Conexonii dintr-o membrană vin în contact cu conexonii din membrana celulei adiacente, ceea ce determină realizarea unor canale extrem de fine prin care se conectează citoplasma celulelor vecine. Joncțiunile gap nu sunt joncțiuni de ocluzie; ele nu pot forma bariere în fața pasajului fluidelor extracelulare prin spațiile intercelulare.

Diametrul canalelor intercelulare poate fi determinat prin injectarea într-o celulă a unui colorant fluorescent legat covalent la molecule de diferite mărimi. Prin folosirea microscopului fluorescent se poate urmări care molecule pot trece de la o celulă la alta. Joncțiunile gap de la celulele de mamifere permit pasajul moleculelor cu diametrul maxim de 2 nm. În general, moleculele cu o masă moleculară mai mică de 1200 D trec liber, pe când cele cu GM de peste 2000 D, nu pot trece (Figura 4-31). Astfel, ionii și unele molecule mici, ca aminoacizii și nucleozid fosfații, pot trece de la o celulă la alta.

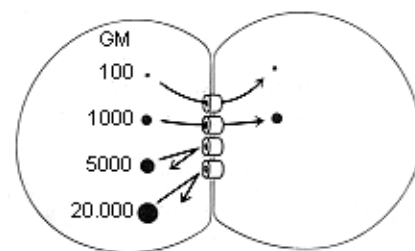


Figura 4-31 Greutatea moleculară (GM) a moleculelor care pot trece prin canalele joncțiunilor comunicante.

Conexonii joncțiunilor comunicante

Joncțiunile gap sunt formate din proteine transmembranare care formează structuri numite *conexoni*. Când conexonii din membrana plasmatică a două celule se suprapun, ei formează un canal care conectează direct citoplasmele celor două celule (Figura 4-32). Fiecare joncțiune gap conține la nivelul său câteva sute de conexoni.

Un conexon este format din 6 molecule proteice identice, numite *conexine*, care alcătuiesc un hexamer. Centrul structurii hexagonale formează un canal care se continuă cu canalul conexonului din membrana celulei vecine.

Un aspect important al fiziologiei joncțiunilor gap este acela că, în prezența unei concentrații mai mari de ioni de Ca^{2+} , canalele conexonilor se închid (Figura 4-33). Concentrația ionilor de Ca^{2+} din lichidele extracelulare este mult mai mare (10^{-3}M) decât concentrația din citoplasmă (10^{-6}M). Astfel, dacă membrana unei celule

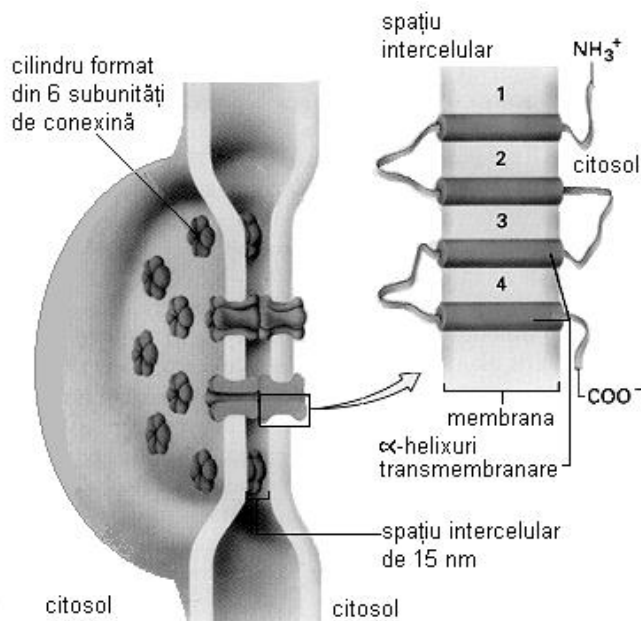


Figura 4-32 Modelul unei joncțiuni comunicante (gap).

dintr-un epiteliu se rupe, Ca^{2+} intră masiv în aceasta, determinând creșterea bruscă a concentrației din citoplasma celulei lezate. Aceasta

determină închiderea conexonilor care asigură comunicarea cu celulele vecine, împiedicând astfel propagarea leziunii în epiteliu. Scăderea permeabilității joncțiunilor gap este determinată și de scăderea pH-ului din citosol. Prin aceste mecanisme, celulele își pot modula gradul de cuplare cu celulele vecine; mecanismul intim prin care se realizează aceasta este încă în studiu.

Un compus important, transferat prin joncțiunile comunicante, de la o celulă la alta, este AMP ciclic (AMPc). Acesta acționează ca un mesager intracelular, intervenind în reglarea unui mare număr de activități metabolice celulare. Cantitatea de AMPc crește în citoplasmă dacă celulele sunt tratate cu o serie de hormoni. De exemplu, hormonul secretină, are receptori la nivelul membranei de la polul bazal al celulelor din acinul pancreatic. Legarea acestui hormon la receptorii săi, duce la creșterea intracelulară a concentrației de Ca^{2+} și a AMPc, substanțe care declanșează secreția enzimelor pancreatice și eliberarea lor la polul apical al celulelor acinare. Atât calciul, cât și AMPc pot difuza prin joncțiunile comunicante, astfel că stimularea unei singure celule poate declanșa secreția celulelor din întregul acin.

Semnificația fiziologică a joncțiunilor comunicante

În unele țesuturi, cuplarea celulelor prin joncțiunile gap, este esențială. Mușchiul cardiac este format din celule musculare interconectate prin acest tip de joncțiuni. Ca și în celelalte tipuri de celule musculare, contracția celulei musculare cardiace este declanșată de creșterea concentrației Ca^{2+} din citosol. Difuzia ionilor de calciu prin joncțiunile comunicante coordonează contracția tuturor celulelor miocardice; anomalii ale permeabilității acestor joncțiuni pot afecta sincronizarea contracției, cauzând *fibrilații*.

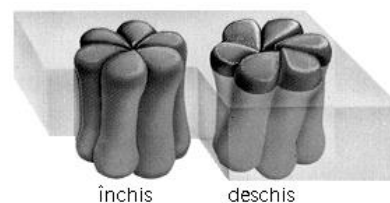


Figura 4-33 Mecanismul ipotetic al deschiderii și închiderii conexonilor sub influența ionilor de calciu.

Joncțiunile gap participă și la cuplarea electrică și contracția mușchilor netezi responsabili pentru mișcările peristaltice ale intestinului.

Este încă neclar mecanismul molecular prin care este reglată cuplarea metabolică sau electrică a celulelor prin intermediul conexonilor. Datele recente demonstrează importanța deosebită a joncțiunilor comunicante în embriogeneză. La embrionul de la vertebrate (încă din stadiul de opt celule la embrionul de șoarece), celulele sunt cuplate electric una cu alta. În momentul în care un grup specific de celule își începe diferențierea spre o anumită direcție, ele se decuplează de țesutul din jur. De exemplu, când tubul neural se închide, celulele sale se decuplează de celulele vecine din ectoderm. Cu alte cuvinte, toate celulele dintr-un grup rămân cuplate una cu cealaltă și tind să devină astfel un ansamblu celular cooperativ, toate urmând aceeași cale de dezvoltare, într-o manieră coordonată.

Importanța comunicării intercelulare în timpul dezvoltării embrionare, prin intermediul joncțiunilor gap, a fost demonstrată prin injectarea de anticorpi preparați împotriva conexinei, într-o singură celulă a unui embrion de amfibieni, format din 8 celule. Anticorpii injectați întrerup selectiv cuplarea electrică dintre celulele fiice care rezultă din diviziunea celulei injectate (determinată după două cicluri celulare, în stadiul de 32 de celule al embrionului). Mai mult, se produc dereglări grave ale dezvoltării și diferențierii organelor la embrion. Nu este încă clar mecanismul prin care, inhibarea cuplării celulare în stadiile timpurii, poate provoca defecte ale dezvoltării mai târzii a embrionului, experimentele de acest tip însă, deschid o cale nouă în studiul rolului joncțiunilor comunicante în dezvoltarea embrionară.