

4. SISTEMUL CELULAR DE MEMBRANE

Studiul membranelor celulare a devenit o parte importantă a biologiei celulare odată cu introducerea metodelor biochimice și histologice, când s-au precizat funcțiile specifice diferitelor membrane.

Sistemul celular de membrane celulară prezintă o seamă de caracteristici comune:

- toate au același tip structural, biochimic, biofizic, morfologic și funcțional;
- toate au permeabilitate selectivă, dinamică, ciclică;
- toate au polarizare electrică ce se poate modifica în strânsă legătură cu variațiile permeabilității;
- toate au sisteme enzimice proprii, care le conferă funcțiuni metabolice proprii;

Tabel 4.

Membrane	Funcții metabolice
Periplasmatică	Glicoliza
Reticul endoplasmic - membrane α , cu granule - membrane β , netede	Sinteza de proteine Sinteza de acizi grași, fosfolipide
Microvilozități	Hidrolize terminale: proteine, polizaharide
Mitocondriale	Ciclul Krebs Oxidarea acizilor grași Sinteza de acizi grași Fosforilare oxidativă
Sistemele Golgi	Condensare de substanțe sintetizate în alte sisteme de membrane Sinteza de mucopolizaharide

Tabel 4. Membranele celulare și funcțiile lor

1. Membrana citoplasmatică (plasmalema, membrana periplasmatică) de cca 60-100 Å grosime, separă conținutul celulei de mediul înconjurător..

Membrana plasmatică este o parte a sistemului structural celular în unitatea căreia se integrează nu numai din punct de vedere morfologic ci și funcțional. Ea este aceea parte a sistemului de membrane celulare care limitează și reglează schimburile cu mediul exterior, extracelular, asigurând astfel o compoziție a mediului intracelular și un gradient electrochimic caracteristic, tot așa cum membrana nucleară asigură și limitează schimburile citoplasmei fundamentale cu

sucul nuclear sau cum membrana mitocondrială asigură și limitează schimburile intramitocondriale cu citoplasma fundamentală

Permite trecerea selectivă a metaboliților de la exterior la interior, precum și invers, din celulă spre exterior. La plante și la unele bacterii plasmalema este dublată de o a doua barieră, peretele celular

2. Membranele organitelor celulare, sunt subțiri, de cca 60 Å, includ:

- a) membrana dublă a mitocondriilor și se compune din reticul neted și rugos;
- b) membrana lizozomilor a cărei integritate asigură menținerea enzimelor lizozomale în stare inactivă, latentă;
- c) reticul endoplasmatic, reprezentând o rețea de canale ce traversează întreaga celulă ca un aparat circulator intracelular ;
- d) aparatul Golgi, compus din vezicule și cisterne ce se află în relație de continuitate cu reticulul endoplasmatic;
- e) membrana nucleului dublă și prevăzută cu pori.
- f) membrana peroxizomilor

Prin fragmentarea celulei în cursul omogenizării și al centrifugării diferențiate membranele reticulului endoplasmatic formează vezicule de microzomi;

3. Membrane speciale

- a) teaca de mielină, care înconjoară axonii neuronilor, produs de celule Schwann;
- b) discurile segmentului extern al celulelor cu bastonașe din retină.

Funcțiile membranelor celulare, foarte variate, sunt indispensabile pentru viață.

Membranele citoplasmice, sunt bariere cu permeabilitate foarte selectivă, prin care se fac schimburile între celule și mediul înconjurător.

Asigură comunicarea între celule și fixarea celulelor în țesuturi. Compartimentarea materiei vii, realizată de membranele subcelulare, asigură formarea de spații în care se desfășoară anumite reacții chimice în condiții optime.

Pe lângă compartimentarea substanței vii, membranele intervin efectiv în desfășurarea proceselor metabolice. Interacțiunile lipide-proteine în membrane sunt esențiale pentru funcția enzimelor de membrană. Două din trei procesele majore de conversiune a energiei în natură se petrec în membrane: fotosinteza, ce are loc în membrana tilacoizilor din cloroplaste, convertește energia solară în energie chimică potențială, iar fosforilarea oxidativă, proces prin care energia chimică potențială este eliberată și convertită în ATP, are loc în membrana internă a mitocondriilor.

Membranele controlează fluxul de informații între celule și mediul înconjurător. Membranele conțin receptori specifici pentru stimulii externi: receptorii sunt glicoproteine (grupări glucidice grefate pe proteinele specifice ale membranelor celulare). Mișcarea bacteriilor pentru hrană, răspunsul celulelor la acțiunea hormonilor asupra membranelor celulelor țintă, percepția luminii sunt

câteva procese datorate detectării unui semnal de către receptori. Membranele au capacitatea și de a genera semnale chimice sau electrice cu rol în comunicarea biologică.

Membranele au proprietatea de a suferi modificări funcțional adaptative. Ca exemplu se pot cita inducția enzimelor din reticulul endoplasmatic sub acțiunea medicamentelor.

Membranele au rol în procesele imunitare, în reacțiile de apărare ale celulelor și ale organismului.

4.1. Compoziția chimică a membranelor biologice.

Membranele biologice sunt compuse din proteine, lipide, ioni și apă în proporții variabile. Deoarece resturile glucidice sunt întotdeauna atașate proteinelor sau lipidelor în membrane putem considera, membranele ca fiind alcătuite din proteine (glicoproteine) și din lipide (glicolipide). Se pot considera trei tipuri de membrane după compoziția lor:

Cea mai simplă membrana este mielina, al cărei component major este alcătuit de lipide și care conține foarte puține proteine. Această compoziție chimică se potrivește perfect cu funcția mielei de izolator, de barieră a permeabilității.

A doua categorie de membrane, membranele citoplasmice ale celulelor animale, conțin cca 50 % proteine, implicate în funcțiile enzimatice și de transport ale acestor membrane, cu funcție și în permeabilitate selectivă.

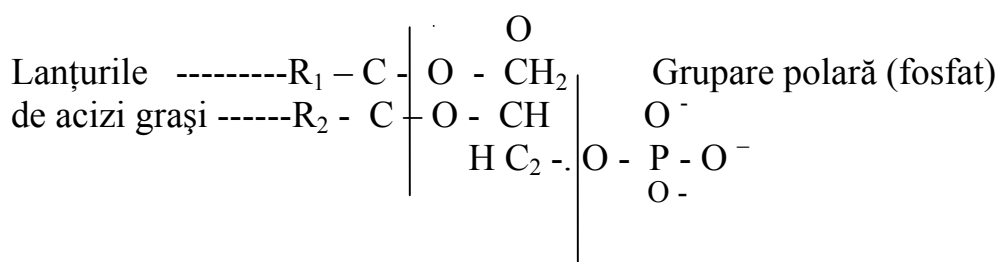
Al treilea grup de membrane include membranele citoplasmice ale bacteriilor și de membrana internă a mitocondriilor, care au funcții complexe, cum este fosforilarea oxidativă. Ele conțin o mare cantitate de proteine (75% din masa membranei).

Lipidele.

Lipidele din membranele celulare constau din fosfolipide (fosfogliceride și sfingolipide), glicolipide și colesterol.

Fosfogliceridele au la bază molecula de glicerol, în care două grupări sunt esterificate cu acizi grași. A treia poziție este ocupată de un grup polar (fosfat).

Glicerol

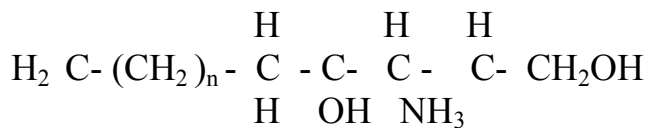


Acid fosfatidic (diacilglicerol-3 fosfat) cu sarcină permanent negativă 2⁻

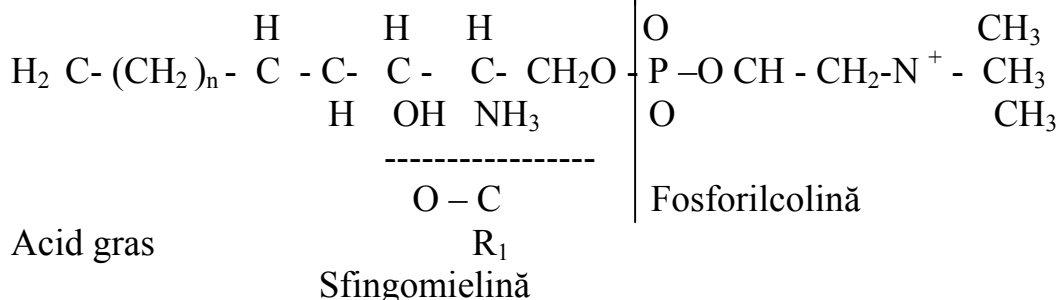
Fosfogliceridele pot conține o mare varietate de acizi grași. De obicei ele conțin un acid gras saturat și unul nesaturat, acesta fiind situat în poziția mijlocie a lanțului de glicerol, între acidul gras saturat și grupul polar la celălalt capăt. O excepție o constituie dipalmitoil lecitina din membrana alveolară pulmonară, probabil datorată faptului că acizii grași saturați sunt mai greu oxidați decât acizii grași nesaturați.

Grupările polare ale fosfogliceridelor sunt și ele foarte variate, toate conțin o grupare fosfat, dar și alte grupări destul de complexe.

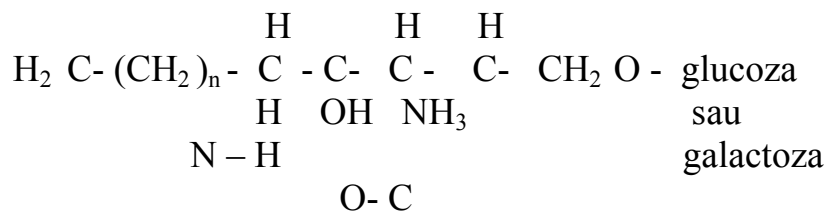
A doua clasă majoră de lipide de membrane o constituie **sfingolipidele**. Acestea au la bază molecula unui aminoalcool cu lanț lung de atomi de carbon.



Sfingozină



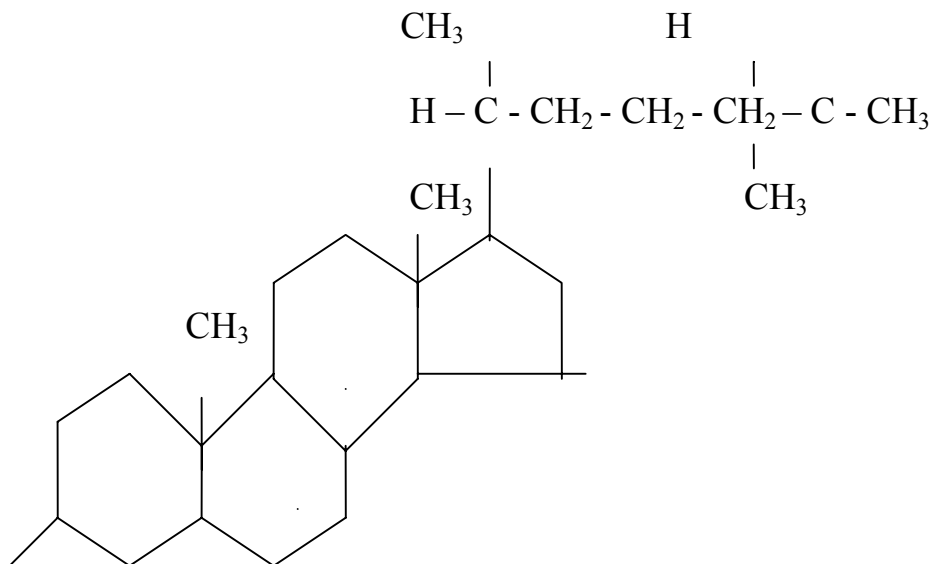
Glicolipidele (lipide ce conțin glucide atașate) diferă de sfingomielină prin natura unității legate de gruparea hidroxil primară scheletului sfingozinei. Cea mai simplă glicolipidă este cerebrozida, în care se găsește doar o unitate glucidică, glucoza sau galactoză. Glicolipide mai complexe, cum sunt ganglioizidele, conțin un lanț ramificat de până la 7 unități glucidice.



R₁

Cerebrozidă (glicolipidă)

O altă lipidă importantă este **colesterolul**, un steroid prezent numai la eucariote nu și la procariote.



Colesterolul .

Deși structurile lipidelor din membrane sunt atât de diferite, ele au o proprietate comună: lipidele de membrană sunt molecule amfifile sau amfipatice. Partea hidrofilă este gruparea polară în fosfolipide, resturile glucidice în glicolipide și gruparea hidroxil la C₃ în colesterol.

Partea hidrofobă este prezentată de lanțurile de acizi grași în fosfolipide, lanțul de acid gras și lanțul de hidrocarbură al sfingozinei în sfingomielină și glicolipide și întreaga moleculă cu excepția grupării OH în colesterol.

O consecință a structurii amfipatice este aranjamentul fosfolipidelor și glicolipidelor în mediu apos sub formă de micle. Aranjamentul favorit pentru majoritatea fosfolipidelor și glicolipidelor în mediu apos, este o foiță compusă dintr-un strat dublu lipidic, care stă la baza structurii membranelor biologice.

La încălzirea fosfolipidelor la o temperatură mult sub punctul de topire, lipidele suferă deci o tranziție de fază, de la starea cristalină la starea de cristal lichid.

Lipidele membranelor tuturor celulelor se află la temperaturile fiziologice în starea de cristal lichid, deci în stare fluidă. Fluiditatea este esențială în fiziologia membranelor.

Proteinele

În timp ce lipidele asigură în primul rând funcția de barieră a membranelor, proteinele conferă funcționalitatea membranei: intervin în transportul activ, îndeplinesc funcții enzimatică sau de receptori. Antigenele de grup sanguin sunt glicoproteine cu lanțuri glucidice caracteristice.

Proteinele membranare sunt insolubile în apă, prin urmare izolarea lor și determinarea proprietăților se poate face prin tratament cu detergenți. După solubilizarea lor proteinele se separă prin electroforeză, în funcție de masa lor moleculară. Cu cât funcțiile membranelor sunt mai complexe cu atât apar mai multe polipeptide la fracționarea membranei..

Proteinele pot fi numai atașate membranei sau poate face parte din membrane..

4.2. Modele de organizare moleculară a membranelor.

Membrana este un loc de trecere a fluxului molecular dar și o barieră ce se opune scurgerii lui. Lipidele și proteinele acestei bariere se unesc prin legături necovalente și sunt astfel aranjate ca zonele hidrofobe sunt orientate spre interior, iar cele hidrofile spre exterior. Multitudinea cercetărilor asupra membranelor vii constituie obiectul de studiu al “ Membranologiei”.

Modelele de structură a membranelor vom trata următoarele :

- modelul lamelar
 - modelul micelar
 - modelul în mozaic lipido-proteic

4.2.1. Modelul lamelar de structură

. Membrana vie este constituită dintr-un strat lipidic bimolecular cu proteine.

Fig. 2. Schema modelului lamelar de structură a membranelor celulare (Danielli-Davson)

J. Danielli și R. Davson (1936) au propus cunoscuta ipoteză a membranelor lipoproteice, după care membranele celulare sunt formate din două filme suprapuse de molecule lungi fosfolipidice așezate paralel unele cu altele; pe fețele lor libere se află proteine fibrilare; fiecare moleculă fosfolipidică are grupări hidrofobe (apolare). Grupările apolare ale unui strat se leagă cu grupările celuilalt prin legături van der Waals, care se stabilesc între resturile metilate ale lanțurilor lungi, dezordonate ale acizilor grași. Capetele hidrofile (polare) ale fosfolipidelor încărcate pozitiv sau negativ sunt neutralizate de funcțiile secundare ionizate negative sau pozitive ale resturilor de aminoacizi din proteinele fibrilare.

În felul acesta se explică permeabilitatea selectivă a membranei pentru substanțele liposolubile.

Pentru a explica difuziunea rapidă a apei și a glucidelor prin astfel de model Danielli admite existența porilor. Deci, tipul lamelar este alcătuit din trei foițe: una centrală cu două filme fosfolipidice acoperite pe ambele fețe de către o foiță cu proteine fibrilare. Membrana este asimetrică, deoarece fața externă este acoperită de macromolecule de polizaharide, iar cea internă de proteine globulare.

Boois, Bunjenberg și Jong cred că legătura dintre proteine și capetele polare ale lipidelor se realizează prin punți complexante. Astfel, sterolii dintre fosfolipide, sunt legați de proteinele fibrilare prin intermediul Mg^{+} . Membrana secționată perpendicular apare trilaminară: o bandă clară la mijloc de 40 Å, având de o parte și alta câte un strat opac electronilor, gros de 20-30 Å.

În 1960 modelul lui **Danielli-Davson** este completat de **Robertson** care susține că acesta este modelul "unitar" de structură a oricărei membrane biologice. După **Robertson** datele de microscopie electronică ar confirma ipoteza: zonele întunecate ar corespunde la 2 straturi proteice, iar zona clară dintre acestea stratului dublu lipidic.

În modelul **Danielli -Davson** interacțiunile dintre proteine și lipide sunt de natură electrostatică, grupările polare ale acestora neutralizându-se reciproc, fiind ascunse contactului cu apa.

Benson emite altă ipoteză: proteinele din membrane sunt în mare parte globulare și încorporate în interiorul membranei. Moleculele lipidice nu formează un strat dublu, ci lanțurile de acizi grași sunt intercalate între pliurile (buclele) lanțului polipeptidic, în așa fel încât capetele polare ale lipidelor să rămână la exterior, expuse contactului cu apa. Intercalarea lanțurilor de acizi grași în lanțurile polipeptidice împiedică formarea legăturilor de hidrogen între

peptide, ceea ce nu este favorabil din punct de vedere termodinamic. Se știe că în structura proteinelor stabilitatea lanțului este dată de legăturile de hidrogen.

4.2.2. Modelul micelar

Acest model a fost propus începând din 1952, în urma studiilor lui **A.Pappart** și **R. Ballentine** care au găsit că membranele eritrocitelor conțin trei feluri de lipide:

- a) lipide ușor legate de proteine
- b) lipide slab legate de proteine
- c) lipide puternic legate de proteine;

O primă concluzie care se desprinde este aceea că:

- 42 % din lipide se leagă puternic electrostatic de proteine;
- 44% sunt legate slab de capetele hidrofobe ale altor substraturi.

O a doua concluzie se bazează pe organizarea micelară a fosfolipidelor în care este dispersată o masă de proteine globulare. Unele fosfolipide ca lecitina și 50% din cefaline se leagă electrostatic de proteine, altele printre care și colesterolul sunt legate numai de lipide și se organizează în dispersie stabilă în apa de îmbibiție, creându-se ”pori apoși”, în timp ce barajul difuziei este reprezentat prin polii apolari ai lipidelor.

A. În secțiune cu suprafața
pe grosimea suprafeței

B. În secțiune perpendiculară p

Fig. 5. Schema modelului micelar al membranelor celulare

4.2.3. Modelul în mozaic lipido-proteic

După acest model, proteinele membranei sunt încorporate în stratul dublu lipidic la fel ca niște iceberguri ce plutesc pe mare. Această mare lipidică este fluidă, deci cu lipide în stare de cristal lichid, în care se pot mișca în voie

proteinele. Proteinele se pot deplasa, deci lateral (difuziune) sau se pot roti în jurul unei axe perpendiculare pe planul membranei.

Singer împarte proteinele membranei în integrale (propriu-zise) și periferice sau atașate.

Proteinele integrale pătrund adânc în stratul lipidic, putând chiar să străbată membrana de într-o parte în cealaltă. Pentru a fi posibilă această penetrare a proteinelor integrale în lipide se sugerează că și ele sunt amfipatice, ca fosfolipidele: partea hidrofilă ar proemina în exterior, fiind în contact cu mediul apos și cu grupările fosfolipidice; partea hidrofobă ar fi în interior membranei și ar interacționa cu lanțurile de acizi grași din molecula fosfolipidelor. În partea hidrofobă a proteinelor, majoritatea aminoacizilor ar fi cu resturile hidrofobe la exterior spre a putea interacționa cu acizii grași din fosfolipide. Părțile din moleculele proteinelor de membrană ce străbat stratul dublu lipidic sunt compuse exclusiv din aminoacizi hidrofobi.

Acest model îndeplinește condițiile de stabilitate a structurii din punct de vedere termodinamic. În plus există date experimentale ce susțin structura globulară a proteinelor de membrană și penetrarea lor în stratul dublu lipidic (criofracturarea).

La examenul microscopic se observă după fracturarea prin îngheț proeminențe pe un fond neted. Proeminențele ar fi proteinele sau complexe proteice din membrane, porțiunea netedă fiind stratul dublu lipidic.

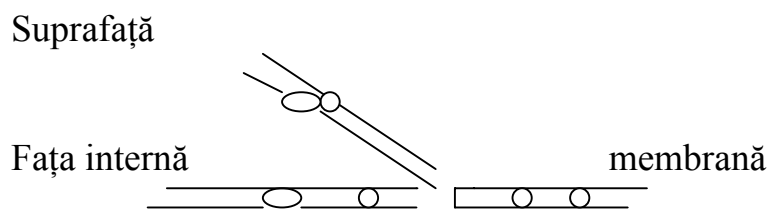


Fig. 3 Fraționarea membranelor prin îngheț (freeze-fracturing.)

Datele privitoare la membranele biologice mențin stratul dublu lipidic ca element de bază. Structura în mozaic fluid lipido-proteic redă doar imaginea unui anumit moment, deoarece componentele membranei sunt într-o continuă mișcare. Baza fluidității stratului dublu lipidic o constituie mobilitatea lipidelor. Se pot distinde două feluri de mișcări:

- stratul dublu lipidic este caracterizat printr-un interior fluid și o creștere progresivă a rigidității pe măsură ce ne apropiem de la centrul membranei spre periferie, adică spre restul de glicerol din moleculă.
- o altă categorie de mișcări în molecula fosfolipidelor este mișcarea grupelor polare ale fosfolipidelor. Astfel, de exemplu în lecitină mișcarea atomilor din celină este din ce în ce mai accentuată pe măsură ce ne îndepărtăm de restul de glicerol.

Pe lângă mișcările din cadrul moleculei există și mișcări ale întregii molecule în stratul dublu lipidic. Se pot distinge:

a) difuziunea laterală în planul membranei astfel încât molecula rămâne în același strat monilipidic, deci în aceeași jumătate a membranei. Această mișcare este foarte rapidă.

b) difuziunea transversală sau mișcarea „flip-flop”, adică trecerea unei molecule dintr-un monolipidic în celălalt. Mișcarea este lentă, durează ore sau zile, puțin probabilă.

Există și mișcări de rotație a proteinelor în membrane. În principiu sunt două feluri de mișcări: în jurul unei axe perpendiculare sau în jurul unei axe paralele cu planul membranei. Al doilea tip de rotație nu a fost evidențiat experimental.

Fig. 4. Modelul în mozaic fluid lipido-proteic
(Singer1971, după Dornell și al.1991.)

4. 3. Componentele suprafeței celulare

H. Bennett (1962) distinge două componente ale suprafeței celulare:

- a) una internă - plasmalema lipoproteică
- b) alta externă - glicocalixul polizaharid

În multe cazuri apar structuri secundare cum sunt pereții celulari din celuloză, hemiceluloze, substanțe pectice, etc.

Plasmalema rezistă la trecerea apei, ionilor, moleculelor hidrofile, difuzia O₂, N₂ și CO₂. Având constantă dielectrică mare înseamnă că rezistă la curentul electric direct. Fiind flexibilă, ușor deformabilă, prezintă mișcări, se separă, se

recombină instantaneu refăcându-se brusc. În schimb glicocalixul este ușor străbătut de apă, ioni și molecule mici, având o rezistență electrică mică.

Fig. 6. Structura membranei celulare după Lambert
(după, Ionescu-Varo,1981 .)

4. 3. 1. Glicocalixul

Glicocalixul este de natură glucidică, se caracterizează prin structura sa variabilă: de la mărimea, tăria și rezistența pereților celulari ai vegetalelor și până la un strat detectabil numai chimic de pe suprafața eritrocitelor există toate gamele de mărimi.

La celulele vegetale glicocalixul conține pe lângă polizaharide (celuloză, manani, xilani, galactani, arabani, fucoidină și heteropolizaharide, poliuronide (substanțe pectice, acid alginic și diferite mucilagii, gume ce conțin acid uronic, chitină, chitozan, lignină, ceruri, suberină, cutină, sporolenină, proteine, o serie de oxizi și carbonați minerali. Asemenea substanțe complexe sunt organizate în microfibrile (de celuloză, xilani, manani, glucani, chitina). Glicocalixul, în ansamblu, apare ca polimeri anionici care corijează proprietățile electrice ale membranei vii. Asociația strânsă între glicocalix și plasmalemă determină noi proprietăți suprafeței celulare, în sensul protecției, reglării schimburilor și activității ei.

Glicocalixul poate fi atașat sau neatașat.

Glicocalixul atașat întâlnește la globulele roșii de vertebrat, la amibe, microvilii celulelor vezicii biliare, fagocite etc, într-un cuvânt celule unde configurația

suprafeței lor se schimbă antrenând glicocalixul. Amiba are un glicocalix lung, antenular cu funcția de captare de proteine, particule în cursul fagocitării și pe care le transportă în caveole.

Glicocalix neatașat constituie învelișul bacteriilor, al fungiilor, al celulelor plantelor, al fibrelor musculare, al epiteliilor animale cu membrană bazală. Cum se poate vedea o primă funcție a acestei formațiuni este pur mecanică. În concepția actuală pereții celulelor vegetale sunt considerați ca fiind un glicocalix care dă rigiditatea necesară țesuturilor. La animale, substanța matricială a mezogleei celenteratelor, cartilaginea și oseina țesutului osos trebuie considerate de asemenea glicocalixuri

Rolurile glicocalixului:

- a) mecanic, de solidarizare a celulelor. în adeziunea intercelulară
- b) de ungere a suprafețelor celulare
- c) de legare chimică complementară a proteinelor și ionilor în cazul enterocitelor
- d) sub formă de membrană bazală are rol de filtru: el determină mărimea particulelor ce urmează să treacă prin interstițiile podocitelor din glomerulul lui Malpighi. Deci reține particulele mari să ajungă la membrana vie și împiedică enzimele să difuzeze rapid prin membrana vie în afară.
- e) asigură identitatea, individualitatea celulei, deoarece glicoproteinele sunt specifice nu numai speciei ci și tipului de celulă de ex. grupele sangvine umane A,B,O sunt determinate de grupările glucidice terminale aflate pe glicoproteine și glicolipide aflate pe membrana eritrocitelor.
- f) conține grupările glucidice ale receptorilor aflați în plasmalemă care interacționează cu hormonii sau cu toxinele bacteriene: de ex. receptorii pentru insulină, toxina holerică sunt glicoproteine a căror grupare glucidică este esențială în recunoaștere și interacțiune.

4. 4. Solidarizarea celulelor.

Membrana celulară realizează pe fețele laterale, adiacente dintre celule o serie de cute, îndoituri, falduri care solidarizează celulele. Astfel nefrocitele segmentului proximal al tubului nefrotic prezintă falduri care se îmbucă cu cele ale celulelor învecinate crescând suprafața și menținându-le strâns unite. În alte cazuri membrana celulară a fibrei musculare striate prezintă o serie de îndoituri în dreptul plăcii motorii, constituind aparatul juxtaneuronal bogat în acetilconesterază.

Joncțiunile intercelulare sunt de trei feluri:

4. 4. 1. Desmozomii sunt o altă înfățișare pe care o iau anumite porțiuni mici ale membranei celulare ce realizează contacte strânse cu celulele adiacente sau cu substraturile extracelulare. Între celule nu se stabilește niciodată un contact strâns între plasmaleme, existând un spațiu de cca 8-10 nm. Acest spațiu

se realizează prin interacțiunea forțelor electrostatice care resping membranele cu aceeași sarcină cu a forțelor de atracție London van der Waals.

În cazul desmozomilor, în spațiul intercelular se găsește un material diferit prin aspectul său electronoptic de al substanței intercelulare. Foița externă a plasmalemei nu se modifică ca și spațiu, în schimb foița internă dinspre citoplasmă se îngroașă foarte mult și de la ea pornesc microfibrile sau tonofilamente în citoplasmă.

Asigură adeziunea celulelor în epiteliu, furnizând rezistență mecanică

Clasificarea desmozomilor:

- e. maculari, mici, din loc în loc
- f. zonulari, mari în jurul celulei, care pot fi:
 - autodesmozomi, între suprafețele aceleiași celule
 - ideodesmozomi, între celule de același tip;
 - allodesmozomi, între celule de tip diferit;
- heterodesmozomi, între plasmalemă și o structură moleculară;
 - g. întregi : simetrici și asimetrici
 - h. dismembraniali -rămâne spațiu și sinmembraniali, se contopesc ;

4. 4. 2 . Joncțiuni strânse (tight junctions) se realizează prin sudarea a două membrane vecine. Acestea înconjoară complet celula, toate celulele într-un strat apar sudate împreună fără spații intercelulare. Aceste joncțiuni apar în porțiunile apicale ale celulelor ce delimitează lumenul unor cavități (intestin, vezica biliară, corpul ciliar al ochiului etc.). Rolul lor este de a împiedica scurgerea lichidelor printre celule, scurgerea se face numai prin celule.

Fig. 7. Semidesmozom

Fig. 8. Semiautodesmozom

Un exemplu concludent despre rolul acestor joncțiuni îl constituie bariera hematoencefalică concretizată de joncțiunile dintre celulele endoteliale ale vaselor de sânge ce irigă encefalul. Aceasta are rolul de a proteja encefalul de substanțe toxice, este permeabilă pentru glucoză spre interior și CO₂ spre exterior. Bariera este funcțională pentru proteine dar nu este funcțională pentru alcool și morfină.

4. 4. 3. Joncțiuni permeabile (gap junctions) servesc la stabilirea comunicării între celule. Ele au o structură specială. Membranele celulelor între care se află asemenea joncțiuni sunt situate la o distanță de 20-40 Å, deci cu mult mai mică decât în spațiul intercelular obișnuit. Cele două membrane sunt unite prin canale cilindrice, prin care interiorul celor două celule comunică. Canalele care sunt complet izolate de spațiul extracelular sunt realizate prin aranjarea regulată a unor proteine de membrană.

Joncțiunile permeabile reprezintă vestigiile unui sistem primitiv de comunicare între celule, prezent încă la Spongieri. Prin acestea pot să treacă ioni anorganici și molecule cu GM sub 1000 (glucide, aminoacizi, nucleotide, hormoni, vitamine); nu pot să treacă proteinele și acizii nucleici. Astfel de joncțiuni se află între celulele musculare netede din intestin, între cele musculare miocardice, în țesuturi epiteliale, glande salivare, ficat, rinichi, tiroidă etc.

Joncțiunile permeabile au caracter dinamic. Creșterea concentrației de Ca²⁺ în citoplasma unei celule determină închiderea comunicării între celule. Astfel, în cazul unor leziuni mecanice a unor țesuturi (piele, ficat) în celulele lezate pătrund ionii de calciu din spațiul extracelular. Închiderea imediată a comunicării prin joncțiuni permeabile împiedică scurgerea materialului din celulele vecine în cele distruse, deci previne extinderea leziunilor. Ulterior, în procesul de vindecare a rănilor se restabilesc joncțiunile permeabile între celule. Lowenstein consideră că aceste joncțiuni permeabile cauzează îmbolnăvirea întregului organ și nu porțiuni ale acestuia. În concluzie, joncțiunile permeabile, deși reprezintă un sistem primitiv de comunicare între celule, își păstrează importanța și la organisme superioare. La acestea se adaugă, însă și alte sisteme de reglare și integrare a funcțiilor diferitelor țesuturi.

4. 5. Microvilii

În unele cazuri, specializarea suprafeței plasmalemei a mers atât de departe încât s-au diferențiat structuri noi cum sunt **microvilii** și **cilii**.

Microvilii sunt digitații de 1-2 μ, care se întâlnesc la polul apical al enterocitelor, nefrocitelor, plexurilor coroidiene, celulelor foliculare. Ei au un ax fibrilar mai dens, iar suprafața lor este acoperită cu așa numitul “glicocalixul antenar” o perie moleculară de polizaharide filiforme lungă de până la 1000 Å. O celulă intestinală are 3000 microvili; 1 mm² de suprafață internă a intestinului are 200.000.000 microvili care măresc enorm suprafața intestinului subțire.

La baza microvililor se găsesc vezicule pinocitare prin care se înglobează lichide cu substanțe dizolvate în mediu. **G. Palade** (1953) a descris în endoteliul capilarelor de la vertebrate niște invaginații ale suprafeței celulare denumite de **E. Jamade- caveole** care au fost văzute și pe sinapsele nervilor; formarea veziculelor pinocitare și fagocitoza trebuie socotite ca începând tot cu invaginații caveolare.

Veziicule exocitare rămase după ce s-a eliminat produsul de secreție sunt tot caveole. În asemenea cazuri suprafețele celulare se măresc de cca 10 ori. Dar cel mai interesant exemplu de specializare strictă a unei părți de membrană îl constituie invaginările sarcotubulare ale fibrei musculare striate care înconjoară miofibrilele prin care este condus impulsul nervoexcitant la miofibrile și prin care se eliberează Ca^{++} din reticulul endoplasmic, determinând contracția.

Fig. 9. Antenule

Fig. 10. Microvili

Fig. 11. Caveole

4. 6. Rolurile și activitățile fiziologice ale membranei plasmatice

Mișcarea și recombinarea suprafețelor celulare: eccitoza, encitoza (pinocitoza, fagocitoza);

Schimbările de substanțe cu mediul înconjurător și toate particularitățile celulare ale permeabilității.

Suport al antigenelor de suprafață:

Izolator electric în cazul tecii de mielină a celulelor Schwann:

Conversia energiei luminoase în impuls electric în cazul membranelor celulelor cu bastinașe din retină.

4. 6. 1. Mișcări celulare având bază sistemul microtubulilor de dineină

Dacă microfilamente intră în structura microvililor, în schimb expansiunile permanente mai mari de la suprafața celule cum sunt cili și flagelii, au la baza structurii lor microtubuli.

Cili și flagelii sunt variante ale aceleiași organelor. Cili apar în număr mare pe suprafața celulei, au mișcări coordonate ca “un lan de grâu suflat de vânt”, prin care se realizează împingerea unor materiale din mediul extern dintr-o direcție bine determinată, de exemplu eliminarea materialelor străine căilor respiratorii. Aceasta se realizează prin ”bătaia” coordonată a cililor după care urmează o mișcare de revenire și apoi bătaia următoare. Ciclul se repetă de 40-60 ori pe secundă.

Fig. 12. Mișcarea ciliată

Cilul este format din trei părți: porțiunea liberă sau cilul propriu-zis, corpul bazal și rădăcinile. Ultimele două porțiuni se află în citoplasmă. Corpul bazal are o structură identică cu a centriolului și este coordonator al mișcărilor cilului. Rădăcinile au o structură variată ce realizează ancorarea cilului de celulă.

Partea liberă a cilului este formată dintr-un complex de structuri microtubulare numit **axonemă** îmbrăcat în hialoplasmă și membrană celulară. Axonema în toate celulele are un plan de organizare asemănător. Există 9 dublete de microtubuli așezate în jurul a doi microtubuli individuali (așa numita structură

9+2). Fiecare dublet este format dintr-un microtubul complet (numit și subfibra A, având 13 protofilamente), de care este atașat pe o parte un microtubul incomplet, în forma literei C (numit subfibra B, având 10-11 protofilamente). Tubulinele alfa și beta ce formează subfibra A sunt diferite de tubulinele omoloage din subfibra B. De partea opusă subfibrei B se leagă de subfibra A două brațe în formă de clește, compuse dintr-o proteină numită **dineină**.

Flagelul este la eucariote o structură asemănătoare cilulului, dar unică și mai mare. Prin mișcarea ondulatorie a flagelului se realizează locomoția celulei. La om există o singură celulă - spermatozoidul - care se deplasează prin flagel. Structura flagelului este asemănătoare cu a cilului, dar este mai complexă. Axonema este tot de tipul 9 + 2.

Mecanismul molecular al mișcării cililor și flagelilor este aceeași. Dineina joacă un rol esențial, având proprietate ATP-azică. Scindarea ATP furnizează energia necesară mișcării, funcția dineinei este similară cu a miozinei. ATP provine din glicoliză sau mitocondrii și difuzează prin citoplasmă în axonema cililor, pe când la flageli există mitocondrii ce înconjoară axonema însăși. În timpul mișcării cililor și flagelilor se produce alunecarea dubletelor unul în raport cu celălalt și în consecință încovoierea axonemei. Această alunecare a dubletelor se face prin deplasarea punților de laterale ce se stabilesc între dineină și dubletul adiacent. La fel cum actina este deplasată prin desfacerea punții de legătură cu miozina, tot așa în acest sistem se desfac și se refac legăturile dineinei cu dubletul adiacent; se realizează, în consecință, glisarea dubletelor unul față de celălalt și încovoierea cilului sau a flagelului.

Dineina joacă un rol decisiv. Absența ei la unii bolnavi (genetică) duce la infecții respiratorii (incapacitatea căilor respiratorii de a se curăța) sau sterilitate (din cauza imobilității spermatozoizilor). Deci dineina lipsește în acesta caz în toate sistemele cu cili și flageli.

Flagelii la procariote (bacterii) sunt complet diferiți ca structură de cei de la eucariote. Apar unul sau mai mulți pe o celulă și sunt formați de filamente de flagelină.

4. 6. 2. Recombinarea suprafețelor celulare

Celula este capabilă să se miște, să se contopească cu alte porțiuni de membrană, să se recombine și chiar să se schimbe cu o altă suprafață celulară.

Astfel în **eccitoză**, întâlnim o destindere a membranelor, o contopire și o recombinare care, prin eliminarea conținutului veziculei din celulă, crează o mărire de suprafață.

În cazul secreției granulelor de zimogen al pancreasului exocrin s-a văzut cum plasmalema se contopește cu membrana vezicului de secreție. Această contopire se realizează prin influența pancreoziminei după câțva timp, mai multe granule de zimogen își contopesc pereții, eliberându-se astfel, tripsinogenul, chimotripsinogenul, amilaza, lipaza, nucleaza, esterazele acumulate în ele. În cazul proteinelor (caseina) ele se găsesc înconjurată de o membrană

citoplasmatică, formând mici vezicule care, cu timpul se apropie de polul apical al celulei. Prin contopirea plasmalemei cu membrana veziculelor se formează caveole, iar proteinele ies din celulă. În cazul lipidelor veziculele sunt mult mai mari și de asemenea înglobate într-o membrană. Ajungând la suprafața celulei ele sunt închise într-un scurt pseudopod, care cu timpul, se strangulează la bază, astfel că în lumenul glandei cad picături de lipide învelite într-o dublă membrană și anume plasmalema la exterior și membrana proprie în interior.

Endocitoza este un mecanism fiziologic tradus morfologic prin deplasarea membranei celulare spre interior. Se formează astfel, vacuole cu pereți ce provin din plasmalemă și în care sunt încorporate particule din afară.

Aceste vezicule sau endozomi permit trecerea particulelor și a ionilor care nu pot străbate plasmalema, includ în celulă substanțe care au reacționat specific cu membrana și pe care aceasta le absoarbe selectiv, dar și protejează celula de pătrunderea unor cantități mari de substanțe.

Fig. 13. Forme de endocitoză

Foarte bine se poate observa la amoebe care includ particule colorate, dar de coloranți vitali. Prima etapă a endocitozei este adsorbția ionilor, particulelor, moleculelor de stratul mucoid al glicocalixului. Ceea ce este important este concentrarea selectivă a materialului în cursul ingestiei și deteriorarea stratului mucoid. Deci, accentul cade nu pe adsorbția materialului, ci pe cantitatea sa prinsă de glicocalix. A doua fază a endocitozei este formarea endozomilor din

plasmalemă și transformarea lor în lizozomi prin aportul celular de hidrolaze acide.

În concluzie transportul prin vezicule celulare membranare constă în trei procese:

- endocitoza, prin care se introduc în celulă substanțe și particule de diferite mărimi cu ajutorul invaginațiilor plasmalemei
- intracitoză sau pinocitoza, adică desprinderea de vezicule transportatoare din dictiozomi fragmentari de endozomi primari, asamblări de endozomi primari în formațiuni secundare lizozomale.
- exocitoza, adică eliminarea prin recombinații și contopiri ale membranei a unor produse celulare

4. 6. 3. Schimburile prin membrană

Celulele iau din mediu tot felul de substanțe indispensabile menținerii activității lor fiziologice și elimină produse elaborate și de excreție.

Astfel are loc un schimb permanent între celule și mediul lor extern datorită faptului că membrana este permeabilă, fiind traversată de multe substanțe dizolvate.

Dar, permeabilitatea este selectivă, în sensul că nu toate tipurile de substanțe pot străbate bariera membranei celulare. Această selectivitate este în funcție și de alți parametri ca : tipul de celulă, pH-ul, rH-ul mediului, timpul, concentrația substanței dizolvate etc.

Pe o parte și de alta a membranei periplasmatică există așa cum s-a arătat diferențe foarte marcante de concentrații ionice și de potențial electric. Membrana intervine în menținerea acestor diferențe. Membrana trebuie să funcționeze astfel ca substanțele nutritive să intre în celulă, produșii de catabolism să iasă cu multă ușurință, în timp ce substanțele idiogene cu adevărat necesare metabolismului celular să nu iasă din celulă, să nu o traverseze decât foarte greu, într-un sens sau altul.

Cercetările realizate cu ajutorul izotopilor marcați sau cu substanțe toxice au arătat că permeabilitatea membranei periplasmatică, ca și a endomembranelor, este **strâns legată de activitatea metabolică** a întregii celule; că permeabilitatea este **selectivă**, adică este diferită pentru diversele substanțe; că este **dinamică**, adică variază de la un moment sau altul, pentru aceeași substanță, în funcție de schimbările care survin în mediul extracelular sau în metabolismul celular.

Permeabilitatea se exprimă în ușurința cu care unele substanțe străbat zona periplasmatică superficială și sistemul de endomembrane.

Permeabilitatea celulelor este o însușire fundamentală a acestora, determinată de compoziția și structura materiei vii, de specificul reacțiilor biochimice care se petrec în interiorul ei și de compoziția și concentrația mediului extracelular. Permeabilitatea este determinantă pentru felul și intensitatea reacțiilor metabolice și pentru compoziția mediului.

Dinamica fiziologică a permeabilității este extrem de complicată.

Majoritatea concepțiilor curente asupra problemelor permeabilității se bazează pe acceptarea teoriei de membrană care presupune că principala rezistență la pătrunderea în celulă a substanțelor din mediul extracelular sau la ieșirea din mediul intracelular este localizată la suprafața membranei periplasmice, de condensare lipoproteică. Descoperirea sistemelor de membrane intracitoplasmice a reticul endoplasmic, continuitatea de la suprafața celulară și până la nivelul nucleului a acestui sistem de membrane face ca problemele permeabilității să se complice.

Cunoașterea fenomenului de permeabilitate celulară ne permite nu numai înțelegerea justă a morfologiei și fiziologiei celulelor, ci și înțelegerea unor probleme de bază ale biologiei cum ar fi: influența modificatoare a mediului exterior asupra animalelor; adaptarea organismelor acvatice la mediul lor de viață; explicarea unor fenomene funcționale (bioelectrice, excitația, conductibilitatea, mecanismul celular al proceselor de secreție și excreție etc.)

4. 6. 3. 1. Mecanismele permeabilității celulare

Forțele care asigură trecerea substanțelor prin membrana periplasmică se pot grupa în două categorii:

- a) **forțe pasive**, care nu necesită cheltuială energetică celulară;
- b) **forțe active**, consumatoare de energie celulară.

Forțele pasive:

- diferențele de concentrație de o parte și de alta a membranei periplasmice sau gradientul de concentrație (gradientul osmotic sau potențialul chimic);
 - diferențele de potențial electric de o parte și de alta a membranei periplasmice sau gradientul de voltaj (potențial electric, potențial constant transmembranar, potențial de membrană)
 - structura membranei periplasmice care frânează mișcarea a substanțelor.

Forțele active:

- difuziunea facilitată
- transportul activ.

F o r ț e l e p a s i v e

1. Difuziunea

În soluții moleculele sunt într-o continuă mișcare care este proporțională cu temperatura absolută (T). Felul în care se face această mișcare și viteza sunt în funcție de concentrația moli/ l sau mM/cm³. Procesul de întrepătrundere a moleculelor sau micelilor solvatului cu solventului a fost denumit difuziune. Această noțiune este legată de **gradient** și **flux** (M). Din cauza diferențelor de

concentrație, va lua naștere un flux a particulelor de la concentrația mare spre concentrația mică. Viteza fluxului va fi proporțională cu panta curbei diferenței de concentrație dintre cele două regiuni, care constituie un vector și gradient de concentrație sau grad (S), ca re indică concentrația substanței S, exprimată în majoritatea cazurilor în $\mu\text{M}/\text{cm}^3$. Ușurința cu care se realizează această mișcare exprimată cantitativ = **constanta de difuziune (D)**

$$M_s = - D_s \cdot x \text{ gradient (S)}$$

Fluxul net al unei substanțe S ($\text{M}/\text{cm}^2/\text{s}$) este dat de produsul dintre constanta de difuziune D_s (cm^2/s) a substanței și gradientul de concentrație al substanței S ($\text{M}/\text{cm}^3 \times \text{cm}$ sau M/cm^4). Aceasta a fost situația într-un sistem în care difuziunea moleculelor nu a fost limitată de nici o discontinuitate de fază.

Într-un sistem, însă în care intervine o membrană, cum este cazul sistemului intracelular separat de cel extracelular de către membrana periplasmatică, procesul de difuziune este diferit. La nivelul membranei, difuziunea este mult încetinită comparativ cu apa și, de obicei, poate fi neglijată. În aceste condiții, în mediul intracelular sau în mediul extracelular nu mai există diferențe în ceea ce privește concentrația unei substanțe, cu toate că prin sistem poate exista un flux net de substanță. Mai precis exprimat, viteza de difuziune a unei substanțe, la nivelul membranei dintr-o parte în alta este așa de mică, încât apariția unui gradient de concentrație, oricât de neînsemnat, în cele două medii este suficientă să asigure difuziunea substanței până la suprafața membranei cu viteza egală cu aceea cu care substanța respectivă difuzează prin membrana însăși. Deci, viteza de trecere a unei substanțe va depinde în primul rând de proprietățile structurale și funcționale ale membranei și de gradientul de concentrație a substanței respective prin membrană.

Mișcarea unei substanțe este rezultatul echilibrării celor doi factori care intervin: gradientul de concentrație și rezistența la frecare.

Prezența membranei celulare, cu permeabilitate specifică, la limita de separație a celor două medii apoase are o importanță uriașă, pentru că ea limitează fluxul ionilor și împiedică astfel o nivelare ionică a celor două medii.

2. Gradientul osmotic

În conformitate cu al doilea principiu al termodinamicii, dacă există o diferență de potențial chimic între două faze 1 și 2 separate de o membrană (cum este cazul celulelor vii) substanța va difuza spontan din regiunea cu potențial chimic ridicat către cea cu potențial chimic scăzut.

Travaliul necesar pentru a face să treacă un mol, dintr-o substanță considerată dintr-o parte în alta a membranei, dacă concentrația internă și externă nu variază, este proporțional cu diferența între logaritmi naturali ai concentrației interne și externe, multiplicată cu T (temperatura absolută) și R (constanța universală a gazelor).

$$W_0 = RT (\ln C_{\text{int}} - \ln C_{\text{ext}}) \text{ sau } W_n = RT \ln \frac{C_{\text{int}}}{C_{\text{ext}}}$$

3. Gradientul electric

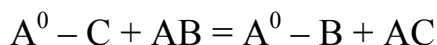
Dacă este vorba de o particulă încărcată electric, trebuie să ținem seama de încărcătura ionului și eventual de diferența de potențial electric (potențial constant transmembranal), care există în membrana ce separă două medii. Așa cum am arătat se știe că, dacă ionul este încărcat pozitiv, el va fi atras către fața membranei încărcată negativ. Forța ce deplasează ionul va fi proporțională cu gradientul de potențial.

4. Mișcarea netă de apă

Dacă grație unei diferențe de presiune osmotică sau hidrostatică există o mișcare netă de apă prin membrană, este evident că particulele în soluție se vor deplasa o dată cu solventul. Este important de reținut acest al treilea mecanism, deoarece, dacă grație intervenției unui anumit mecanism se acumulează un ion într-una din faze, se va stabili o mișcare a solventului în direcția mișcării ionului, ducând astfel la restabilirea echilibrului osmotic; există de altfel numeroase argumente de ordin experimental în favoarea acestui mecanism, care explică mișcarea apei prin membrane, în general și reabsorbția apei la nivelul rinichiului, în special.

5. Difuziunea (reacția) de schimb

Se spune că reacția de schimb este reacția în care o moleculă schimbă un atom (sau o moleculă) contra unui atom (sau o moleculă) identic al unei alte faze. Dacă într-una din faze se utilizează izotopul unuia dintre atomi, se va putea pune în evidență reacția de schimb, ceea ce poate exprima formula:



În biologie, un astfel de mecanism a fost folosit pentru a explica valorile ridicate ale fluxului de Na^+ , observate la nivelul fibrei musculare. Se poate imagina deci existența, în membrana fibrei musculare a unei substanțe ce formează un complex cu Na . Agitația termică ar putea aduce această substanță în contact când cu mediul extracelular, când cu cel intracelular. La contactul cu aceste medii, substanța ar putea să schimbe Na^+ pe care îl transportă, cu un alt ion din mediu. În totalitate nu există modificări ale concentrației ionilor de Na , fiindă fiecare ion de Na este schimbat contra unui alt ion de Na ; totuși o mișcare a ionilor de Na se observă.

Fig. 14. Schema mecanismului difuziunii de schimb

7. Difuziunea în șir

Hodgkin și Keynes arată că membrana are pori, în interiorul cărora sunt aliniată două sau trei grupe de ioni, fiind ocupate totdeauna de un ion de K^+ . Se presupune că ionii nu se depășesc în interiorul porului. În consecință, un ion de K nu poate părăsi un grup la o extremitate a porului decât dacă un alt ion de K a fost “încărcat” la cealaltă extremitate a porului. Deplasarea în interiorul membranei se face întotdeauna prin grupe de n ioni de K. Această posibilitate a fost verificată cu ajutorul unui model mecanic.

F o r ț e l e a c t i v e

1. Difuziunea facilitată

În concepția lui **Danielli** (1943), acest fenomen explică trecerea unei substanțe cu o viteză mult mai mare decât poate prevedea (pe baza teoriei membranei lipoproteice) pentru o altă substanță de aceeași dimensiune, formă și coeficient de partaj. Un exemplu plastic în acest sens este pătrunderea glucozei în eritrocitele umane. **Wilbrandt și colab.** (1956) studiind cinetica fenomenului au ajuns la concluzia că trebuie să fie vorba de legătura glucozei cu un “purtător” (transportor) de membrană, care acționează ca un “feriboat” pentru glucoză în interiorul fazei mebranoase: ar lua glucoza de la suprafața membranei celulare, ar trece-o prin membrană, ar elibera-o și apoi s-ar întoarce neîncărcat spre suprafața membranei pentru a se încărca din nou.

Studii mai recente (**Crone**, 1961) au adus dovezi de necontestat că transportul glucozei prin membrana dintre sânge și encefal este un mecanism de același tip ca mai sus.

Fenomenul difuzării facilitate se apropie în multe privințe de “transferul activ”, care se referă mai ales la un grup de fenomene de transfer ce nu pot fi explicate prin noțiunea de solubilitate sau penetrație prin pori. Din punct de vedere cinetic, fenomenul de transfer activ poate fi mai bine explicat ca un rezultat al legăturii dintre molecula transportată cu un transportor de membrană, dar, spre deosebire de difuziunea facilitată, transferul activ necesită energie

metabolică. Transferul activ înseamnă întotdeauna un travaliu în cursul căreia o substanță este transportată împotriva unui potențial electrochimic.

2. Transferul activ

Încă din 1895, **Overton** întrevide necesitatea existenței unui mecanism care să restabilească și să asigure menținerea gradientilor de concentrații ionice între mediile intra- și extracelulare; el arată că miocardul omului face cam $2,4 \times 10^9$ contracții în 70 de ani și totuși conține în interiorul fibrelor musculare o cantitate de K^+ tot atât de mare și o cantitate de Na^+ tot atât de mică și în tinerețe și la bătrânețe

Mecanismul transportului activ, a cărui existență este confirmată astăzi de nenumărate date experimentale, permit înțelegerea unor fenomene care nu pot fi explicate numai prin interacțiunea forțelor pasive. În această categorie intră, de exemplu mișcarea unei substanțe în sensul gradientului electrochimic, dar cu o viteză mult mai mare decât cea prevăzută de legea a doua a termodinamicii. În ambele cazuri, variația energiei libere este pozitivă și pentru a se putea efectua acest travaliu este necesar să fie pusă în joc o cantitate de energie rezultată din procesele metabolice celulare.

Transportul activ de cationi. Cationii monovalenți Na^+ și K^+ . Folosindu-se ionii radioactivi ^{24}Na și ^{42}K s-a putut stabili cu multă precizie fluxul de intrare (influxul) și fluxul de ieșire (efluxul) celor doi ioni, precum și viteza trecerii acestora prin membrane.

S-a constatat astfel că există un permanent schimb de Na^+ și de K^+ în ambele sensuri, fluxul net arătând ceea ce a pierdut sau a câștigat celula. Deși gradientii electrochimici împing ionii de Na^+ către interiorul celulei și ionii de K^+ către exteriorul celulei, totuși concentrația internă de K^+ și de Na^+ rămâne constantă. Înseamnă că există un mecanism activ vcare scoate din celule ionii de Na^+ în exces și recuperează ionii de K^+ care părăsesc celula, adică un eflux activ de Na^+ și un influx activ de K^+ .

Efluxul de Na^+ s-a dovedit prin următoarea experiență. Inițial s-a “încărcat” un axon uriaș de caracatiță cu ^{24}Na , folosind una din cele două modalități obișnuite : fie se injecta ionul radioactiv direct în axoplasmă, fie se pune acest ion în soluția fiziologică ce scâldea axonul și se excita de repetate ori; în cursul excitării ionii de Na^+ pătrund în cantitate mare în axon, iar cei de K^+ ies din axon. S-au constatat următoarele:

- eliminarea de $^{24}Na^+$ este foarte rapidă la început și apoi scade treptat din intensitate, de unde concluzia că ea este proporțională cu concentrația interioară.
- când temperatura mediului este modificată de la $18^{\circ}C$ la $5^{\circ}C$ efluxul de $^{24}Na^+$ este rapid încetinit; revenirea la temperatura inițială intensifică din nou fenomenul:
- dacă se intoxică preparatul cu cianură se observă o încetinire progresivă a efluxului de $^{24}Na^+$; dacă se blochează sinteza de ATP cu ajutorul 2,4 –

dinitrofenolului se observă diminuarea treptată a efluxului de $^{24}\text{Na}^+$ (pe măsura consumării ATP-ului existent); dacă acum se injectează ATP în axon, se observă o reluare a efluxului. Deci, travaliul acestei “pompe” care asigură scoaterea sodiului din celulă se efectuează pe seama energiei eliberate de ATP.

- se mai observă că, în urma îndepărtării K^+ din soluția fiziologică exterioară, efluxul de ^{24}Na este încetinit, fără însă a fi complet oprit; adăugarea de K^+ în baie este suficientă ca fenomenul să se reia la valoarea normală.

Transportul activ de Na^+ există și a fost studiat și în alte celule: în fibrele nervoase gigante ale miriapodelor, în eritrocitele umane, în pielea de broască (din exterior spre interior), în peretele vezicii urinare de broască, etc; acest mecanism intervine în formarea salivei și a altor sucuri digestive, în reabsorbția tubulară a Na^+ , în mușchii scheletici, netezi, cardiaci etc.

Influxul activ de K^+ s-a pus în evidență prin experiențe analoage. Mediul extracelular a unui axon perfuzat s-a încărcat cu $^{42}\text{K}^+$ și s-a putut observa o absorbție activă a axonului cu acest element: din timp în timp, axonul scos din mediul extracelular radioactiv și spălat cu grijă, a fost pus în contor Geiger și s-a măsurat radioactivitate, deci încărcarea cu $^{42}\text{K}^+$. S-a constatat că există o saturare progresivă în $^{42}\text{K}^+$ ce provine din mediul extracelular, unde concentrația de potasiu este mult mai coborâtă decât în mediul intracelular. De asemenea, inhibitorii metabolismului și temperaturile joase încetinesc absorbția ionului așa cum s-a întâmplat și cu efluxul de sodiului radioactiv.

Influxul de K^+ și efluxul de Na^+ sunt activități care se realizează numai pe baza energiei libere celulare. Ar exista, deci, pe lângă o “pompa” de Na^+ și o “pompa” de K^+ care asigură menținerea unei concentrații intracelulare mai ridicată decât în mediul extracelular.

Cuplarea efluxului de Na^+ cu influxul de K^+ (pompa de sodiu-potasiu). Se pare că expulzarea activă de Na^+ de către “pompa” de sodiu este cuplată cu introducerea activă de potasiu în mediul intracelular. Ar fi un schimb forțat de Na^+ pentru K^+ , realizat de același mecanism energetic. La nivelul tubului urinifer ar fi un schimb forțat de Na^+ pentru H^+ .

Eccles a rezumat într-o schemă schimburile de sodiu și potasiu între mediul intracelular și mediul extracelular, așa cum se produc în fibra axonică în repaus (și aceasta este valabilă chiar și pentru celule mai puțin excitabile). Schimburile prin difuziune (pasiv) cuprind un flux important de K^+ ce iese (un eflux pasiv de K^+) și un flux mai redus de potasiu ce intră în celulă (un influx pasiv de K^+). Schimburile cuprind de asemenea un influx pasiv de Na^+ . Din cauza diferenței foarte mari de permeabilitate a membranei pentru cei doi ioni, influxul de Na^+ și efluxul de K^+ sunt de aceeași ordine de mărime, cu toate că gradientii electrochimici sunt foarte diferiți. Deși forțele electrice și chimice care împing ionii de Na^+ să intre în celulă sunt mult mai mari decât ușorul

dezechilibru dintre forțele electrice și chimice care împing ionii de K^+ să iasă, totuși prin permeabilitatea ei, membrana frânează mai mult trecerea ionilor de Na^+ .

Pompa ionică sodiu - potasiu, întreținută de către reacțiile metabolice, completează schimburile care se fac prin difuziune pasivă cu mecanismul transferului activ: eflux activ de Na^+ cuplat cu influx activ de K^+ . Se realizează, astfel pentru fiecare ion un echilibru dinamic : influxul total de Na^+ este egal cu efluxul total de Na^+ ; la fel și pentru ionul de potasiu: influxul total de K^+ este egal cu efluxul total de K^+ . Astfel este asigurată constanța concentrațiilor intracelulare a celor doi ioni.

Fig. 15. Pompa de sodiu - potasiu

Transportul activ de anioni. Dintre anioni, Cl^- este transportat activ la nivelul mucasei gastrice, a pielii de broască, al branhiilor de anguilă și al ileonului de șobolan. Iodul este acumulat la nivelul tiroidei.

Transportul anionilor pare să fie mai puțin specific decât transportul cationilor. Astfel, mucoasa gastrică poate substitui clorul, iodul sau bromul. Clorul și bromul pot să înlocuiască iodul la nivelul tiroidei. Fosfatul, ca și alți anioni, poate suferi procesul transferului activ.

Transferul unor substanțe organice. Printre substanțele organice, anumiți aminoacizi și unele zaharuri sunt supuse transferului activ. Astfel, s-a studiat transportul acidului gama-aminobutiric în celulele nervoase ale cortexului cerebral de cobai, împotriva gradientului de concentrație; transport activ al glicinei marcate cu ^{14}C la nivelul intestinului subțire și al colonului la broască țestoasă (*Testudo hermanni*).

Un studiu mai complex asupra transportului activ de aminoacizi s-a făcut la șobolanul anesteziat, urmărindu-se absorbția a 15 aminoacizi la nivelul jejunului “in vivo”, și reflectarea întregului proces de transfer în activitatea bioelectrică a țesutului. În general absorbția aminoacizilor modifică activitatea electrică de bază a intestinului, înlocuindu-se undele lente (beta) prin secvențe scurte (alfa). Următorii aminoacizi: glicocol, cistină, arginină, prolină, valină, leucină, treonină, lizină, acid aspartic și acid glutamic, sunt cei mai activi, determină unde alfa frecvente, uniform repartizate uniform repartizate timp de 15 minute; histidina, triptofanul și acidul alfa-aminobutiric prezintă o activitate mai slabă; fenilalanina, tirozina, acidul gama-aminobutiric sunt foarte puțini activi. Inegala activitate bioelectrică a aminoacizilor poate fi legată de transferul activ diferit pentru fiecare grupă de aminoacizi.

4. 6. 3. 2. Factorii care influențează permeabilitatea celulară

1. Coeficientul de partaj. Dacă o substanță se află în prezența a doi solvenți nemiscibili în care ea este solubilă, se stabilește un echilibru de repartiție care, pentru o temperatură dată, depinde de solubilitatea respectivă a substanței în fiecare din cei doi solvenți. Dacă soluțiile sunt suficient de diluate și dacă corpul dizolvat este același în cei doi solvenți, raportul concentrațiilor C_1 și C_2 este considerată o constantă la o temperatură dată:

$$\frac{C_1}{C_2} = K$$

în care K = coeficientul de partaj.

Experiențele arată că pătrunderea a numeroase substanțe în celulă depinde nu de volumul moleculei lor, ci de coeficientul lor de partaj. Acest studiu a fost valabil pentru numeroase substanțe anestezice, foarte solubile în grăsimi și care, cu toată dimensiunea mare a moleculei lor, intră foarte ușor în celulă ca urmare miscibilității în lipidele membranare și în apă. Astfel, solubilitatea în grăsimi a unei molecule este adesea mai importantă pentru a ușura pătrunderea sa în celulă, decât mărimea moleculei sale.

Dacă judecăm viteza de pătrundere a alcoolilor după acțiunea lor narcotică (după concentrația lor necesară să provoace fenomenul de narcoză), atunci alcoolii cu cea mai mare solubilitate în grăsimi pătrund mai ușor în celule decât alcoolii

inferiori, mai puțini solubili în grăsimi, deși dimensiunea moleculelor alcoolilor superiori este mult mai mare .

2. Dimensiunea moleculelor. Cu cât o moleculă este mai voluminoasă, cu atât ea are șansa mai mică de a pătrunde în celulă. Moleculele mari de hidrocarbonate sau proteine pătrund rar în celule prin mecanismele obișnuite ale permeabilității. Sodiul pătrunde mai greu decât potasiu deoarece în stare hidratată sodiul are un volum mai mare. Acest fapt este explicat prin teoria prezenței porilor în membranele periplasmic, care au diametru de 3,2 Å; diametrul moleculei de sodiu este de 3,6 Å și al potasiului 2,2 Å. Dar se pare că talia are o importanță mai mică decât coeficientul de partaj în permeabilitatea celulară.

3. Gradul de ionizare. Făcând să varieze pH-ul se poate preciza efectul sarcinii electrice a unui electrolit asupra posibilităților sale de penetrație celulară. Pentru CO_2 , când pH-ul se mărește, disociația crește iar pătrunderea lui scade; când pH-ul scade fenomenul este invers. Pentru bazele slabe, cum sunt aminele sau alcaloizii, când pH-ul crește, disociația diminuează, dar pătrunderea crește. Acest fenomen are importanță mare în farmacologie, deoarece trecerea substanțelor farmacologice poate fi reglată prin modificarea pH-ului din soluția care acționează asupra celulelor. În ansamblu, cu toată creșterea taliei moleculei, intrarea acizilor este, în general, cu atât mai rapidă cu cât gradul lor de disociație este mai mic.

Cu cât sarcina electrică a unui ion este mai mică – foarte mică - el are șansă mai mare de a pătrunde în celulă. Cationii monovalenți, cum sunt Na^+ , K^+ vor intra mai ușor decât bivalenții cum sunt Mg^{2+} și Ca^{2+} , iar aceștia mai ușor ca cei trivalenți cum este Fe^{3+} . La fel anionii monovalenți I^- , Cl^- intră mai ușor decât anionii bivalenți SO_4^{2-} . Pe de altă parte ionii cu aceeași valență nu intră toți cu aceeași ușurință. Ionul de NH_4^+ intră mai ușor decât potasiu și acesta mai ușor decât litiu. Aceasta depinde de hidratarea lor.

Relația care există între sarcina electrică a ionilor și viteza de pătrundere a lor în celule face să se presupună că trecerea ionilor prin membrană este frânată sau facilitată într-o măsură de sarcina ionului. Anionii vor fi atrași de porțiunile încărcate pozitiv +, iar cationii de porțiunile încărcate negativ -, ca și cum membrana ar fi încărcată în mozaic. Dar, sarcina generală a membranei este + la exterior, ceea ce face ca anionii să treacă mai ușor decât cationii.

Pătrunderea ionilor din mediul extracelular în celulă se pare că se face pe baza unui schimb cu ionii din mediul intracelular. Ionii de hidrogen ce apar în activitatea metabolică celulară și cei de bicarbonat fac de obicei obiectul unui schimb: primii pentru cationi, ultimii pentru anioni. Schimbul de ion fiind egal – **ion pentru ion**- diferența de potențial a membranei-potențialul constant transmembranar – este menținută.

4. Prezența ionilor nedifuzabili. Proteinele citoplasmatiche disociate nu pot difuza prin membrana celulară, constituind ioni nedifuzabili, care determină o repartiție inegală a ionilor difuzabili de o parte și de alta a membranei, fenomen ce caracterizează **echilibrul Donnan**.

Fig. 16. Echilibru Donnan

Dacă se pune o soluție de proteinat de K (PK), la un pH potrivit într-un sac de colodiu, care la rândul său se pune într-o soluție de KCl distribuția inițială este A.

La interior concentrația inițială K^+ este (C_1), concentrația de $Cl^- = 0$, iar concentrația proteinatului este C_1 .

La exterior concentrația ionilor de K^+ este de C_2 și concentrația de Cl^- este C_2 . Dar clorul trece prin membrană în sacul de colodiu, în virtutea gradientului de concentrație. Ei vor fi urmați obligatoriu de K^+ care mențin neutralizarea electrică (B).

Când echilibrul este atins un anumit număr x de K^+ și de Cl^- au intrat în sac și deci:

- în interior conc $K^+ = (C_1 + x)$, în timp ce a Cl^- va fi x ;

- la exterior conc $K^+ = (C_2 - x)$, ca și a $Cl^- = (C_2 - x)$;

Donnan a arătat că la echilibru produsul concentrațiilor ionilor difuzabili la interiorul săculețului este egal cu produsul concentrațiilor aceluiași ioni la exterior:

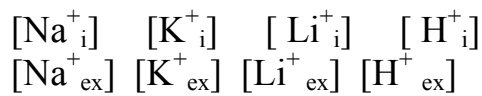
$[K^+]_i \times [Cl^-]_i = [K^+]_{ext} \times [Cl^-]_{ext}$ relația 1, folosind simbolurile

$(C_1 + x) \times x = (C_2 - x) \times (C_2 - x)$, de unde,

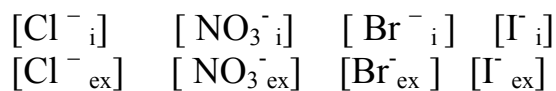
$$x^2 + C_1x = C_2^2 - 2C_2x + x^2 ; \quad x = \frac{C_2^2 - C_1C_2}{C_1 + 2C_2} ;$$

Dacă ne sunt cunoscute concentrațiile inițiale ale ionilor din interior și concentrațiile ionilor din exterior, atunci această ecuație poate da valoarea lui x, deci concentrația de echilibru a ionilor difuzabili care trec prin membrană. Starea în care se îndeplinesc condițiile acestea (relația 1) poartă numele de echilibru lui Donnan. Pentru un amestec de electroliți difuzabili monovalenți (NaCl, HNO₃, Li, Br, HJ)

Pentru cationi :



Pentru anioni :



Această relație nu este valabilă pentru membranele celulare vii decât în cazuri foarte rare, mai ales în ce privește sodiul și potasiul a căror pătrundere se supune altor mecanisme.

5. Metabolismul celular. Celule îmbătrânite de leucocite își măresc volumul datorită pătrunderii apei din mediul exterior cu toate că presiunea osmotică a mediului era presiunea osmotică fiziologică în care celulele trăiesc și în care își păstrează un grad de hidratare normal.

4.7. Întrebări

1. Membrana celulară are structură trilaminară :

- după teoria lui Danielli și Davson
- deoarece are un strat de proteine și două straturi fosfolipidice
- un strat proteic și două straturi glicolipidice
- două straturi proteice și un strat de fosfolipidic
- două straturi fosfolipidice și un strat glicolipidic

2. Care din următoarele componente celulare au membrană dublă:

- reticulul endolasmatic
- nucleul
- aparatur Golgoi
- lizozomul
- nucleolul

3. Localizarea microvililor:

- la polul luminal al celulelor intestinale

- b. la polul bazal al celulelor intestinale
- c. la suprafața celulelor traheii
- d. la suprafața epiteliiilor celulelor din bronhii
- e. la polul apical al celulelor fotoreceptoare

4. Teaca de mielină are rol:

- a. de nutriție
- b. de protecție
- c. recepție
- d. fagocitoză
- e. de a forma neurilema.

5. După teoria lui Singer membranele celulare sunt formate din:

- a. după modelul în mozaic de lipo-proteic
- b. lipidele sunt așezate într-un strat
- c. lipidele sunt reprezentate de fosfolipide
- d. două straturi de fosfolipide
- e. proteinele sunt inclavate mai mult sau mai puțin în fosfolipide

6. Proprietățile membranelor sunt:

- a. permeabilitate totală
- b. permeabilitate selectivă
- c. polarizare electrică
- d. insolubile în mediul apos
- e. insolubile în solvenți organici

7. Solidarizarea celulelor se realizează prin:

- a. plasmodesme
- b. desmozomi
- c. joncțiuni strânse
- d. gap junctions
- e. perete celular la celula vegetală

8. Recombinări ale membranei plasmatică sunt reprezentate de:

- a. pinocitoză
- b. eccitoză
- c. excitoză
- d. pseudopode
- e. fagocitoză

9. Care dintre următoarele afirmații este sunt adevărate.

- a. permeabilitatea membranelor are la bază gradientul osmotic
- b. trecerea apei prin plasmalenă se evidențiază prin plasmoliză
- c. trecerea substanțelor prin membrane se realizează contra gradientului de concentrație datorită mecanisme pasive
- d. trecerea substanțelor prin membrane se realizează contra gradientului de concentrație datorită mecanismelor active.
- e. transportul activ se face cu cheltuială energetică

10. Care din enunțurile de mai jos corespund caracteristicilor membranelor celulare:

- a. majoritatea membranelor prezintă sisteme enzimatic
- b. membranele celulare prezintă un glicocalix de natură proteică
- c. glicocalizul este gros și impermeabil pentru apă
- d. glicocalixul este alcătuit din oligozagaride legate de fosfolipide
- e. glicocalixul este alcătuit din oligozagaride legate de proteine

11. Factorii care influențează permeabilitatea membranelor sunt:

- a. gradul de ionizare
- b. prezența ionilor nedifuzabili
- c. gradientul de concentrație
- d. metabolismul celulei
- e. starea de repaus sau de excitabilitate

12. Celula în repaus prezintă:

- a. membrană plasmatică polarizată
- b. încărcătură pozitivă în interior
- c. încărcătură negativă la exterior
- d. repartiție inegală a ionilor de Na^+ și K^+ de o parte și de alta a membranei celulare
- e. la exterior sunt mai mulți ioni de sodiu, iar la interior sunt mai mulți ioni de potasiu

13. Care din următoarele afirmații este corectă:

- a. efluxul ionilor de sodiu este pasiv
- b. influxul ionilor de potasiu este pasiv
- c. pompa de sodiu-potasiu este un mecanism energofag
- d. pompa de sodiu-potasiu determină în influx activ de potasiu
- e. pompa de sodiu-potasiu determină un eflux activ de sodiu

b.