

5. HIALOPLASMA

Este mediul intern al celulei, compartimentat de sistemul de endomembrane și limitat la exterior de plasmalemă.

Considerată ca un sistem heterogen al unui hidrogel de tip coloid-emulsoid, hialoplasma poate flocula, devenind opalescentă, sau coagula ireversibil, transformându-se într-o masă spongioasă strălucitoare. Poate să se îmbibe foarte mult cu apă și această capacitate devine minimă la un pH_i al proteinelor constituente (pH_i = punct izoelectric, adică pH-ul la care proteinele sunt fără încărcătură electrică și la care prezintă o stabilitate minimă).

Are o vâscozitate foarte variabilă de la 3-10000, mai mare decât apa.

S-au pus în evidență, în hialoplasmă compuși minerali și organici. Dintre compușii organici amintim: proteine simple, glicoproteine, lipoproteine, grupările NH_2 , $COOH$, SH , aminoacizi (triptofan, arginină, indoli).

Prin metoda ultracentrifugării diferențiate se pot izola organitele celulare de o fază solubilă care conține hialoplasma. Aceasta nu este pură, are fragmente de ”impurități” ale organitelor subcelulare.

Analiza chimică a “formeii solubile”, care conține componentele hialoplasmei stabilește, în primul rând conținutul mare de apă 85 %, după care proteinele și aminaacizii liberi.

Cca 15 % din ARN celular se află în această fază lichidă ca ARN_m și ARN_t .

S-au mai dozat glucide, produși intermediari ai metabolismului, nucleozide, nucleotide, săruri minerale.

Componenta insolubilă este reprezentată de proteine de structură fibroasă, glicogen, picături de lipide. Existența proteinelor globulare și fibrilare îi conferă hialoplasmei starea coloidală. Macromoleculele proteice reprezintă faza dispersată a coloizilor hialoplasmatici, iar apa și micile molecule dizolvate faza de dispersie.

Ansamblul macromolecular poate sta strâns solidarizat prin forțe mai mari, ceea ce îi conferă citoplasmei o vâscozitate mai mare, în formă de plasmagel. Când forțele sunt slabe, coloidul citoplasmatic este fluid, în formă de plasmasol. Cum forțele care acționează asupra macromoleculelor se schimbă permanent, hialoplasma trece în întregime sau parțial din sol în gel. Fenomenul fizic se numește **tixotropie**

S-au făcut încercări de a clasifica componentele fazei solubile în:

1..Micromolecule care sunt ionii anorganici de K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} în apă la un pH de 7. $1 \mu^3$ de hialoplasmă conține 60 ioni de hidrogen, astfel că probabil există variații locale de pH.

2. Mezomolecule care sunt reprezentate prin nucleotide, intermediari ai metabolismului, zaharuri, aminoacizi, distribuite în mod egal în toate compartimentele celulare. Există, de asemenea un stoc de aminoacizi celulari care se reînnoiesc permanent.

3. Macromolecule care sunt proteine, lipide, lipoproteine, acizi nucleici.

Hialoplasma conține un bogat echipament enzimatic deosebit de bogat: enzime care activează aminoacizii: enzimele sintezei acizilor nucleici, ale lipidelor; enzimele glicolizei; enzime ale metabolismului gluicogenului; enzime ale ciclului pentozofosfatic.

În hialoplasma multor celule se află diferențieri celulare ca microtubuli, plasmafilamente, miofilamente.

1. 1. Microtubulii

Au fost găsite în citoplasmă amibelor cu diametru de 80 Å în loc de 240 Å cât au microtubulii.

Allison (1971) a descoperit că extractele cu glicerol ale citoplasmei corticale ale multor celule sunt foarte bogate în plasmafilamente. Ele se adună mai ales în jurul veziculelor endocitare și sunt implicate în mișcările de contracție și chiar de alunecare a celulelor pe substrat.

Prezența microtubulilor în citoplasma corticală sugerează un rol preponderent privind forma celulelor. La celulele care se divid, există un inel de microtubuli la periferia ecuadorului fusului. Direcția acestor microtubuli coincide, la celulele vegetale, cu a fibrelor de celuloză care se sintetizează în matricea pericelulară a peretelui celular de partea externă a plasmalemei.

Microtubulii reprezintă o arhitectonică pentru materialul amorf al matricei peretelui celular, care asigură forma celei. În unele cazuri, de exemplu, în celulele conjunctive de la Lymnea, microtubulii ia naștere în cisternele reticulului endoplasmic, dar în alte cazuri aceștia iau naștere direct în hialoplasmă.

Microtubulii sunt structuri complexe formate prin polimerizarea unor proteine numite **tubuline**. Se prezintă sub forma unor cilindri cu diametrul de cca 250 Å. Acești cilindri rezultă din aranjarea paralelă a unor **protofilamente**. Fiecare microtubul este format din 13 protofilamente aranjate la periferia cilindrului de 250 Å. Protofilamentele se formează prin polimerizarea tubulinei.

La polimerizare participă de fapt un dimer format din două subunități proteice numite **alfa** și **beta tubulină**, fiecare cu g. m. de cca. 55000. Polimerizarea este în fond un proces de autoasamblare, care se petrece spontan la temperatura de 37°C. În schimb, la 0°C are loc depolimerizarea microtubulilor. Ciclul se poate repeta.

Polimerizarea este mult accelerată de o proteină numită **proteină asociată microtubulilor**. Sunt necesari în mod obligatoriu pentru polimerizare nucleotidul GTP, care pare a fi hidrolizat la GDP; de asemenea sunt necesari Ca^{2+} și Mg^{2+} . Microtubulii joacă un rol esențial în determinarea formei celulare și în toate fenomenele de motilitate celulară. Astfel, microtubulii pot exista liberi în citoplasmă sau intra în structura prelungirilor celulelor: axoni, cili, flageli. De asemenea microtubulii formează baza unor structuri mai complicate: centriolii, corpii bazali ai cililor și flagelilor și fibrele fusului de diviziune.

Microfilamentele, filamentele groase de 100 Å și microtubulii formează o rețea intricată dispusă în mare parte sub membrana celulară (în ectoplasmă), dar pătrunzând și mai adânc în citoplasmă. Această rețea este denumită **citoschelet**. Este necesar să se sublinieze că pe lângă rolul structural pe care îl sugerează numele de citoschelet, această rețea are un caracter extrem de dinamic, schimbându-se dintr-o clipă în alta, în funcție de necesitățile fiziologice de moment ale celulei. Acest dinamism se realizează în esență prin procesele de polimerizare și depolimerizare ale microfilamentelor și microtubulilor. Prin aceasta se realizează mișcările intracelulare și modificările de formă. Modificările citoscheletului sunt controlate prin mecanisme precise în celulă. Astfel, ionii de Ca^{2+} joacă un rol esențial: în funcție de concentrație induce polimerizarea sau depolimerizarea microtubulilor, reglează interacțiunile dintre actină și miozină și prin aceasta contractilitatea. De aceea concentrația de Ca^{2+} în celulă este controlată de către membrana plasmatică ce împiedică intrarea Ca^{2+} în celulă, precum și prin sechestrarea Ca^{2+} în mitocondrii sau în vacuole specifice, iar în mușchi în reticulul sarcoplasmic.

Alți factori ce reglează modificările citoscheletului sunt unele proteine specifice. Astfel, interacțiunea dintre actină și miozină este reglată de **tropomiozină** și **actinine**, iar polimerizarea tubulinei de către **dineine**.

5. 2. Miofilamentele

Sunt printre cele mai importante structuri ale celulelor, fiind specializate în modificarea formei celulelor și producerii de lucru mecanic.

După cum este cunoscut din experiențele lui **Huxley**, miofibrilele celulelor musculare striate sunt compuse din miofilamente groase de 100 Å Ø, de **miozină** și miofilamente subțiri de 50 Å Ø, de **actină**. Miofilamentele de miozină se întind de-a lungul unei benzi A, iar cele de actină de-o parte și de alta striei Z. Stria Z corespunde unei zone unde filamentele subțiri ale sarcomerelor vecine anastomozează între ele. Banda I (actină) este formată numai din filamente subțiri, iar banda A din filamente groase între care se găsesc cele subțiri. Acestea nu merg până în mijlocul benzii A, astfel că în centrul acesteia se găsesc numai filamente groase. Zona din banda A compusă numai din filamente groase corespunde bandei H. De regulă, la insecte și la vertebrate în jurul unui filament gros sunt 6 filamente subțiri.

Miozina (55% din proteinele fibrilare) intră în constituția miofilamentelor groase care sunt de fapt agregate de molecule de miozină. Au o greutate moleculară de 500 000. Sub acțiunea enzimelor proteolitice poate fi scindată în două componente, numite **meromiozina** – meromiozina ușoară LMM cu greutatea de 150 000, dispusă sub forma unei cozi și meromiozina grea HMM, cu greutatea 350 000, care constituie “gâtul” și “capul” moleculei complexe.

Moleculele sunt dispuse ordonat în cadrul filamentului gros, cu “cozile” paralele orientate într-un sens de-a-lungul unei jumătăți a filamentului și în sensul opus în cea de-a doua jumătate. “Cozile” constituie “coloana vertebrală” a filamentului gros, iar capetele reprezintă locurile de interacțiune cu filamentele de actină.

În condiții de repaus, miozina leagă ATP și ioni de Mg^{++} . Miozina are activitate ATP-azică, dar aceasta nu se manifestă în repaus datorită unui nivel scăzut al ionilor de Ca^{++} în sarcoplasmă.

Actina se găsește în miofilamentele subțiri. Moleculele de formă globulară (Actina G) cu greutate moleculară de 60 000 se polimerizează dând naștere actinei fibrilare (Actina F), un dublu helix cu greutate moleculară de câteva milioane. De remarcat că, pe de o parte și de alta a membranei Z, sensurile spiralizării sunt opuse. Actina G leagă ADP, iar în cadrul actinei F, între monomerii globulari sunt intercalați ionii de Mg^{++} .

Ionii de Ca^{++} și contracția musculară

Ieșirea calciului din reticulul endoplasmic are două consecințe :
-ridică o “frână” care împiedică alunecarea filamentelor de actină declanșează reacțiile ATP-azice generatoare de energie, permițând cuplarea miozinei cu actina. “Frâna” ar fi constituită de existența unui complex Tropomiozina-B-troponina, lipsit de calciu. În momentul în care acest complex leagă ionii de calciu, își pierde acțiunea frânatoare asupra alunecării actinei.

Fig. 17. Reprezentare schematică a moleculelor de miozină și actină.

Activitatea ATP-azică a miozinei, inhibate în repaus de ionii de Mg, după cum s-a arătat, este stimulată în situația în care concentrația acestora din sarcoplasmă este depășită de cea a ionilor antagoniști de Ca^{++} , scindarea ATP-ului creează condițiile pentru formarea a miozinei (AM) și pentru desfășurarea activității mecanice.

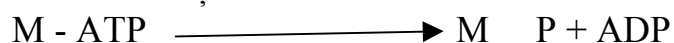
Această activare a mecanismului contractil prin fluxul de calciu este rapidă. Fenomenele mecanice apar însă cu întârziere, deoarece ele constau în învingerea unor rezistențe elastice.

Relaxarea musculară se produce în urma încetării mușchiului datorită faptului că pompa de calciu reține ionii respectivi în reticulul endoplasmatic, ceea ce înseamnă dispariția din sarcolemă a elementului activator al proceselor contractile.

5.2.1. Mecanismele contracției

O primă consecință a contactului dintre Ca^{++} și substanța contractilă este un proces de **transfosforilare** între ATP și miozină, o legătură macroergică fosfat terminală a ATP fiind cedată miozinei – “**punți încrucișate**”; exercită o tracțiune asupra miofilamentelor subțiri. Toate punțile pornite de la filamentul de miozină se mișcă sincron, pendular. Prinse fiind de miofilamentele de actină, într-un sens al mișcării pendulare trag de acestea făcându-le să se deplaseze printre cele de miozină, determinând apropierea capetelor în zonele H și apropierea membranelor Z.

În cursul contracției scad astfel rezervele de fosfocreatină - PC.



M P are un caracter electronegativ datorită grupării fosfat terminale. Aceasta permite cuplarea cu actina (A) și deci formarea a miozinei (AM). Concomitent se realizează și eliberarea energiei de legătură a grupării fosfat.



Legătura dintre miozină și actină se realizează unor centre active caracteristice ale HMM și A. **Perry** propune următoarea schemă a combinării

Energia eliberată prin ruperea legăturilor macroergice fosforice pe care moleculele de miozină le primiseră prin transfosforilare este utilizată pentru producerea fenomenului contractil propriu-zis. Conform celei mai răspândite teorii – a **mecanismului glisant**, a lui **A F Huxley**, și **Hanson**, contracția cu

modificări de lungime constă în alunecarea “activă” a filamentelor de actină printre cele de miozină, ceea ce înseamnă în cele din urmă scurtarea sarcomerului prin apropierea capetelor miofilamentelor mai subțiri, la nivelul zonei H.

Calcululele arată că se consumă energia unei molecule de ATP pentru fiecare ciclu al unei punți. Se evidențiază astfel faptul că trebuie să se refacă continuu rezervele de ATP pentru menținerea activității contractile.

Alunecarea în cursul contracției a filamentelor de actină printre cele de miozină se desfășoară întotdeauna într-un singur sens – cel al apropierii membranelor Z al sarcomerului datorită faptului că miofilamentele sunt dispuse simetric față de mijlocul sarcomerului.

În cazul contracțiilor fără scurtare (izometrică) energia eliberată nu duce la glisare, deoarece valoarea ei nu depășește ci numai egalează valoarea forței externe care acționează asupra mușchiului.

Fig.18. Interacțiunea A – M în procesul contracției

În asemenea împrejurări, la nivelul punților care se formează, se dezvoltă o tensiune care poate fi evidențiată în diferite moduri.

În cazul contracțiilor cu alungire, forța externă este mai mare decât forța musculară a punților, filamentele actină alunecă în sens invers, ajungându-se la alungirea sarcomerului.

Relaxarea musculară înseamnă revenirea mușchiului la tensiunea, lungimea, situația structurală și biochimică caracteristică repausului și nu este un fenomen pasiv.

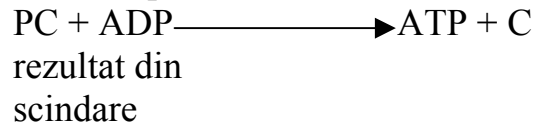
O primă condiție a relaxării este încetarea excitației și retragerea ionilor de Ca^{++} în Ret. End. R.E. retrage Ca^{++} cu ajutorul unei pompe de calciu. Energia

furnizată pompei este rezultată din desfacerea ATP sub acțiunea unei ATP-aze reticulare. O dată retras Ca^{++} din sarcoplasmă se creează condiții pentru ruperea legăturilor dintre miozină și actină.

Desfacerea complexului actomiozinic este puternic favorizată de prezența moleculelor de ATP.

Refacerea rezervelor de ATP se realizează pe mai multe căi:

O primă cale rapidă, imediată este aceea a scindării fosfocreatinei (PC)

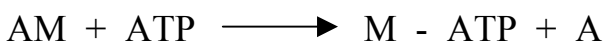


Aceasta este reacția Lohmann prin care, în cursul contracției se pune mereu la dispoziția mușchiului ATP necesar, pentru realizarea de noi legături între A și M, mișcării punții încrucișate, glisării miofilamentelor subțiri etc.

Firește, în cursul contracției, prin desfășurarea reacției în acest sens, se ajunge la diminuarea rezervelor de PC.

Alte căi, mai de durată, de reconstituire a ATP sunt glicoliza, oxidoreducerea fosforilantă. Acestea sunt modalitățile principale de refacere a ATP (și a PC din P și C) în cursul perioadei de relaxare.

Deci actomiozina se scindează :



Miozina reconstituită astfel, în noile condiții ionice (lipsa Ca^{++}) din sarcoplasmă nu are activitatea ATP-azică și leagă molecule de ATP ce au rol de plastifiant.

Această activare a mecanismului contractil prin fluxul de calciu este rapidă. Fenomenele mecanice apar însă cu întârziere, deoarece ele constau în învingerea unor rezistențe elastice.

Relaxarea musculară se produce în urma încetării mușchiului datorită faptului că pompa de calciu retrage ionii respectivi în reticulul endoplasmatic, ceea ce înseamnă dispariția din sarcolemă a elementului activator al proceselor contractile.

5. 3. Mișcările intracelulare

5. 3. 1. Mișcările cloroplastelor

Excitanții externi percepuți de celule vii cauzează răspunsuri induse (provocate), iar excitanții generați în interiorul citoplasmei vii produc reacții autonome sau spontane. Răspunsul cel mai evident în excitație la nivel celular este mișcarea, care este o manifestare universală a materiei vii.

Substratul ei material sunt proteinele mecanocontractile, care au apărut odată cu eucariotele.

Oricât par de imobile plantele, totuși în celulele lor mișcările cloroplastelor, ale nucleului și ale citoplasmei sunt mult mai ample decât mișcările organelor celulelor animale.

Această categorie de mișcări intracelulare este considerată de unii autori tactisme intracelulare. Sunt mișcări fotoactive, deplasarea fiind provocată de acțiunea fotonilor, deoarece cloroplastele sunt cele mai sensibile organite la acțiunea luminii.

Astfel de mișcări au loc la plante în celulele izodiametrice și filamentoase, niciodată în celulele palisadice.

La alge, la mușchi, la ferigi și fanerogame, cloroplastele prezintă deplasări cauzate de intensitatea diferită a luminii, rezultatul fiind orientarea lor caracteristică față de factorul care a acționat. Cloroplastul algei **Mugeottia**, localizat în centrul celulei, la lumina slabă stă orientat cu fața spre sursa acesteia, în timp ce la lumină puternică se orientează în profil.

Deseori mișcările cloroplastelor se realizează între pereții celulelor orientați perpendicular sau paralel cu direcția luminii.

În celulele epidermice ale frunzelor de **Selaginella martensii** cloroplastele sunt dispuse, la lumină puternică pe pereții interni ai celulelor, iar la lumină slabă pe pereții laterali sau externi ai celulelor.

Mecanismul care stă la baza mișcării cloroplastelor este legat de fenomenul “curgerii”, citoplasmei care este evidentă “în vivo” atât la alge cât și la plantele superioare.

Cloroplastele sunt dispuse tangențial cu suprafața și legate între ele cu 4-6 fibrele, astfel că se formează șiruri de cloroplaste care se mișcă la periferia celulei. Cloroplastele se mișcă de-a lungul acestor fibrele mecanocontractile subcorticale, datorită unei enzime miozinice legate de ele.

Posibilitatea provocării deplasării cloroplastelor cu diferite substanțe: CO₂, glucoză, fructoză, acid malic, asparagină etc., a dus la presupunerea că acțiunea luminii se manifestă prin anumite substanțe chimice care ar modifica tensiunea superficială.

Semnificația biologică a deplasării cloroplastelor este orientarea lor la lumină cu suprafața cea mai mare, pentru o absorbție maximă, când intensitatea luminii este limitată, în timp ce poziția lor în profil este legată de o reducere a energiei absorbite, când intensitatea luminii este mare și ar putea cauza fotodistrugerea oxidativă.

Urmărindu-se acțiunea spectrului luminii asupra mișcărilor cloroplastelor la **Lemna**, s-a constatat că perceperea excitantului are loc în primul rând în ectoplasmă, cele mai active fiind radiațiile cu lungimea de undă de 450 nm. Pe baza acestui spectru s-a presupus că fotoreceptorul este o flavină sau poate pigmentii carotenoizi. Cloroplastele au ca sursă energetică fosforilarea oxidativă din lanțul respirator. La **Mugeottia** această energie este suficientă doar pentru mișcarea cloroplastelor la lumina slabă, în timp ce pentru mișcarea lor în lumină puternică energia este furnizată de fosforilare.

La **Ulva lactuca**, mișcarea cloroplastelor este determinată de ritmul circadian. Oricum întotdeauna există un aport de ATP necesar transformării energiei chimice în energie mecanică.

5. 3. 2. Mișcarea nucleului

În celulele meristemice nucleul are o poziție centrală. La celulele lungi care cresc, cum sunt perișorii absorbanti, nucleul se deplasează de la baza perișorului spre vârful lui, mișcare datorată hormonilor de creștere.

Deplasarea nucleului spre regiunea cu cea mai intensă activitate celulară se evidențiază și în cazul aparatului stomatic, unde în celulele stomatice, ca și în celulele anexe, nucleii migrează spre ostiolă. La fel a fost observată, în cazul rănirii unei frunze, mișcarea nucleilor spre zona traumatizată, unde are loc cicatrizarea, existând deci o intensă activitate fiziologică.

Mecanismul mișcării nucleului nu este bine cunoscut, se presupune că aceasta s-ar datora apariției unor substanțe care produce un pH acid la capătul celulei, opus sensului de deplasare a nucleului.

5. 3. 3. Mișcarea citoplasmei

Mișcarea citoplasmei, dineza, cicloza a fost considerată ca un fenomen natural în viața celulei vegetale. **Emil Pop** și colab. au evidențiat dineza la diferite țesuturi ale organelor la 100 de specii de **Labiatae**, aparținând la 36 genuri.

Se disting două categorii de mișcări citoplasmice primare și secundare, primele fiind caracteristice celulelor normale, intacte, iar ultimele provocate de factori externi, îndeosebi de traumatisme. Experiențele lui **E. Pop** pe planta submersă **Ruppia transilvanica** au demonstrat că mișcările citoplasmei la exemplarele nevătămate sunt întotdeauna primare.

Condițiile producerii dinezei depind de vâscozitatea și elasticitatea citoplasmei. În general, se poate afirma că dineza apare în acele celule în care citoplasma reprezintă un strat îngust în jurul vacuolelor.

Tipurile de mișcări citoplasmice. Acestea sunt în număr de patru:

Mișcarea de circulație este caracteristică celulelor a căror vacuolă este compartimentată de cordoane citoplasmice, de-a lungul cărora direcția de mișcare a citoplasmei este diferită. Se poate observa la perii staminali de *Tradescantia*.

Mișcarea de rotație se întâlnește în celulele cu o singură vacuolă centrală, la care citoplasma este dispusă ca un tapet, parietal. Se poate urmări în celulele de *Elodea*, *Vallisneria*, *Nitella*, *Chara*, perii radicali de cereale.

Mișcarea de alunecare, caracterizează începutul și sfârșitul dinezei. În celulele de ceapă în apă și zaharoză (0,2-0,4 M) se constată o dineză la început neregulată, pe distanțe scurte, în direcții diferite de circulație, ulterior această mișcare devine ordonată.

Mișcarea în formă de undă a fost observată în hifele miceliilor unor ciuperci: **Mucor**, **Rhizopus**, **Phycomycetes**.

În urma unor numeroase experiențe, s-a ajuns la concluzia că înhibitorii respirației înhibă procesul de mișcare a citoplasmei. Adăusul exogen de glucide

intensifică mișcarea citoplasmei, prin faptul că acestea sunt utilizate ca substrat respirator. Rolul ATP în mișcarea citoplasmei este de necontestat: prezenta lui are rol stimulator, lipsa lui are efect contrar.

Rolul dinezei în viața celulei este încă insuficient cunoscut. Există păreri conform cărora îngroșările secundare ale peretelui celular se formează cu concursul curenților citoplasmatici, prin aportul golgian de celuloză la periferia membranei plasmatică. Descoperirea unor proteine contractice care ar putea fi cauza curenților citoplasmatici au modificat concepția despre rolul dinezei. Unele funcții celulare importante ca: exocitoza, mobilitatea și formele imobile ale celulelor, transportul de-a lungul citoplasmei al unor vezicule depind de existența în citoplasmă a unor proteine contractile

5. 4. Rolurile și activitățile metabolice ale hialoplasmei

Hialoplasma este sediul căilor metabolice unde se desfășoară marea majoritate a reacțiilor biochimice. În plus de aceasta ea este sediul activității constituenților celulari pe care îi aprovizionează cu substanțele necesare anabolismului și de la care primește produșii dezasimilației rezultate din catabolism.

Hialoplasma este deci mediul intracelular în care se desfășoară principalele căi metabolice și energia chimică se transformă în energie mecanică, utilă mișcărilor celulare.

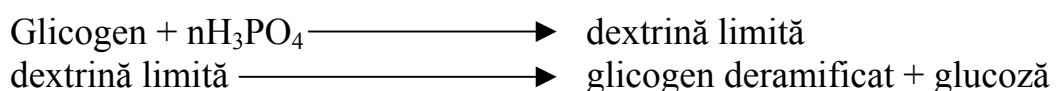
Punctul de plecare al multor căi metabolice din hialoplasmă este glucoza-6-fosfatul (G-6-P). Aceasta este degradată în molecule mai mici cu producere de energie sau sunt utilizate, plecând de la ea, alte molecule principale necesare metabolismului celular.

G-6-P poate proveni direct din fosforilarea glucozei cu ajutorul ATP, fie indirect din glicogen prin fosforoliza care separă de glucoză un fosfat și apoi se izomerizează G-1-P în G-6-P. Degradarea G-6-P are loc tot în hialoplasmă pe calea glicolizei și prin aceea a pentozelor.

Glicoliza conduce la formarea acidului piruvic, care mai departe duce, în cadrul fermentației anaerobe, la acidul lactic, și în cadrul respirației mitocondriale la CO₂ și energie.

Fermentația se desfășoară printr-o serie de reacții care implică numeroși intermediari de tipul esterilor fosforici (-R-O-PO₃H₂), iar calea la glucoză de la acidul piruvic este comună tuturor categoriilor de fermentații.

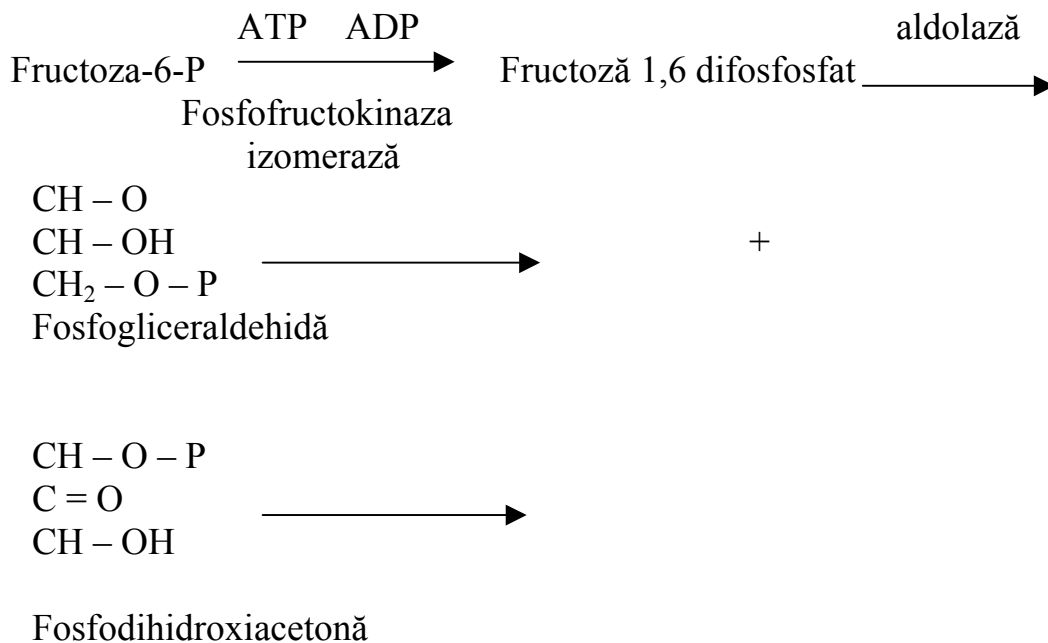
De la acidul piruvic la anumiți produși terminali procesele au loc după anumite reacții specifice.



În toate celulele se află o fosfohexoză – izomerază. Ea transformă G-6-P în fructoză-6-P, care în prezența ATP și fosfofructokinazei formează fructoză 1,6 difosfat.

Fructoza-difosfatul se scindează grație catalizei **aldolazei** în două trioze: **fosfohidroxiacetonă** și **fosfogliceraldehidă**, care sub acțiunea unei trioza-fosfat-izomerază sunt în echilibru în favoarea primului.

Apoi are loc dehidrogenarea, în patru etape, a 3-fosfogliceraldehidelor în acid 3 -fosfoglicerice prin intervenția **fosfogliceraldehidădehidrogenazei**, care are un centru activ cu funcție de tiol și drept coenzimă NAD. Enzima se notează prescurtat HSE.



Fructoza-difosfatul se scindează grație catalizei **aldolazei** în două trioze: **fosfohidroxiacetonă** și **fosfogliceraldehidă**, care sub acțiunea unei trioza-fosfat-izomerază sunt în echilibru în favoarea primului.

Apoi are loc dehidrogenarea, în patru etape, a 3-fosfogliceraldehidelor în acid 3 -fosfoglicerice prin intervenția **fosfogliceraldehidădehidrogenazei**, care are un centru activ cu funcție de tiol și drept coenzimă NAD. Enzima se notează prescurtat HSE.

Etapele sunt următoarele:

1. Combinarea substratului 3-fosfogliceraldehidă cu enzima la nivelul funcției tiol a acesteia. Ia naștere o legătură săracă în energie – C-S –, care este inhibată de acidul monoiodacetic, datorită combinării lui cu –SH.
2. Combinarea menționată este dehidrogenată, reducându-se NAD și luând naștere o legătură acilfosfat bogată în energie.

Ionii fosfatici, eliberând enzima, formează acidul difosfoglicerice, cu o legătură acilfosfat bogată în energie.

O fosfokinază a acidului fosfoglicerici transferă un $\sim P$ la ADP și ia naștere ATP. În cadrul acestei fosforilări oxidative sinteza ATP este cuplată cu oxidarea fosfogliceraldehidei, concomitent cu reducerea NAD.

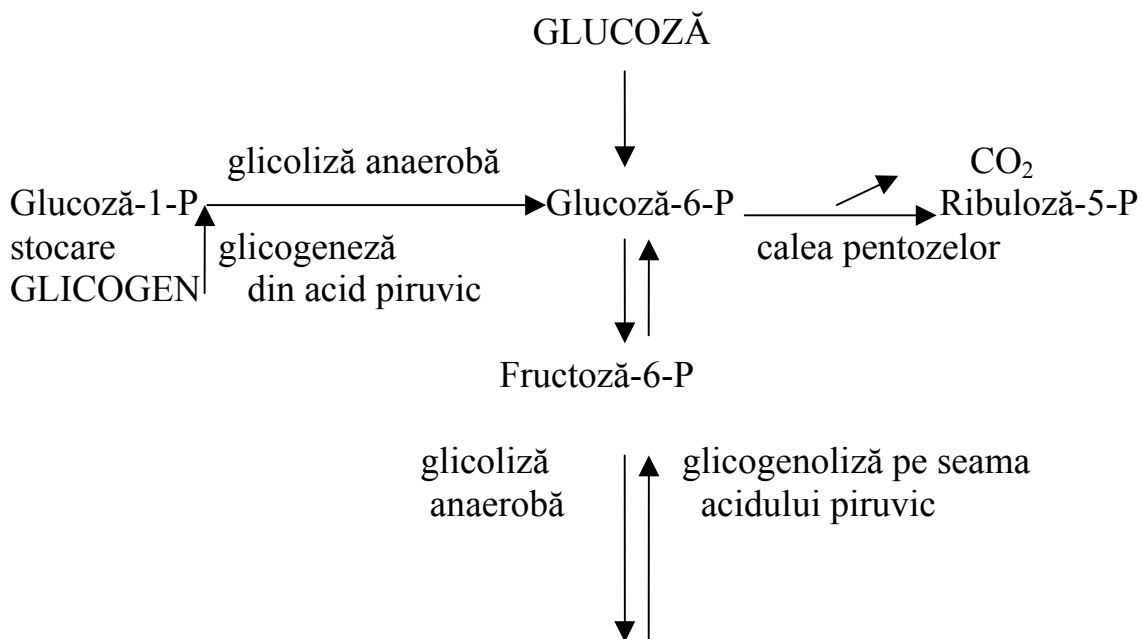
Ionii fosfatici, eliberând enzima, formează acidul difosfoglicerici, cu o legătură acilfosfat bogată în energie.

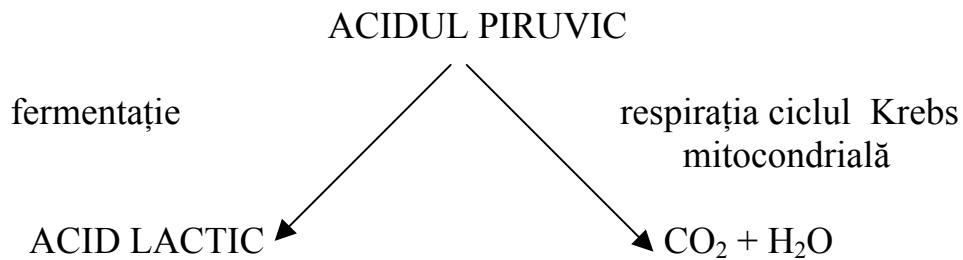
O fosfokinază a acidului fosfoglicerici transferă un $\sim P$ la ADP și ia naștere ATP. În cadrul acestei fosforilări oxidative sinteza ATP este cuplată cu oxidarea fosfogliceraldehidei, concomitent cu reducerea NAD.

Ionii fosfatici, eliberând enzima, formează acidul difosfoglicerici, cu o legătură acilfosfat bogată în energie.

O fosfokinază a acidului fosfoglicerici transferă un $\sim P$ la ADP și ia naștere ATP. În cadrul acestei fosforilări oxidative sinteza ATP este cuplată cu oxidarea fosfogliceraldehidei, concomitent cu reducerea NAD.

Apoi o mutază transportă fosfatul în moleculă, obținându-se acidul fosfo-2-glicerici, căruia enolaza îi ia o moleculă de apă, transformând legătura esterică cu fosforul într-o legătură bogată în energie. Energia este apoi transferată cu fosfatul la ADP, care se transformă în “monedă de schimb energetic” – ATP. Acidul fosfoenolpiruvic este defosforilat în acid enolpiruvic de către kinaza acidului piruvic, iar acidul enolpiruvic se izomerizează spontan în acid piruvic. Pentru a se ajunge la esterul fructozodifosforici sunt necesare două molecule de ATP, când se pornește de la glucoză și una singură, când glucoza provine din glicogen. Transformarea glucozei în G-6-P necesită un ATP, iar transformarea F-6-P în F-1-6-P încă un ATP.





Căile de metabolizare a glucidelor

Apoi o mutază transportă fosfatul în moleculă, obținându-se acidul fosfo-2-gliceric, căruia enolaza îi ia o moleculă de apă, transformând legătura esterică cu fosforul într-o legătură bogată în energie. Energia este apoi transferată cu fosfatul la ADP, care se transformă în “monedă de schimb energetic” – ATP. Acidul fosfoenolpiruvic este defosforilat în acid enolpiruvic de către kinaza acidului piruvic, iar acidul enolpiruvic se izomerizează spontan în acid piruvic. Pentru a se ajunge la esterul fructozodifosforic sunt necesare două molecule de ATP, când se pornește de la glucoză și una singură, când glucoza provine din glicogen. Transformarea glucozei în G-6-P necesită un ATP, iar transformarea F-6-P în F-1-6-P încă un ATP.

Transformarea glucozei în G-6-P necesită un ATP, iar transformarea F-6-P în F-1-6-P încă un ATP. În schimb, transformarea acestui ester în acid piruvic produce 2 ATP de trioză, deci 4 ATP, pentru că fiecare fructoză dă două trioze: în cazul reacției acidului-1-3-difosfoglicerat acid-3-P-glicerat, și în reacția acidului fosfoenolpiruvic acid piruvic.

Bilanțul energetic este următorul:

- cu glucoză: 4 ATP - 2 ATP == 2 ATP

- cu glicogenul: 4 ATP - 1 ATP == 3 ATP.

Fig.19. Metabolismul fosforilazei

F Fig.20. Glicogen + n PO₄H₃ dextrină limită;
dextrină limită —————> glicogen deramificat + glucoză.

Fig. 21. Catabolismul glucozo-6-fosfatului până la fosfogliceraldehidă

Fig.22. Glicoliza

Randamentul energetic este de cca 30-50%. Acidul piruvic va fi catalizat aerob printr-o decarboxilare oxidativă, iar anaerob prin fermentația lactică sau alcoolică.

În contractia musculară de exemplu acidul piruvic se transformă în acid lactic datorită **lacticodehidrogenazei** din hialoplasmă, având NADH drept coenzimă. La levuri acidul lactic este decarboxilat prin carboxilază, a cărei coenzimă este cocarboxilaza, în acetaldehidă, care în prezența NADH este redusă de către alcool-dehidrogenaza, de asemenea hialoplasmatică, în alcool etilic. În prezența oxigenului, celulele retransformă ~~acidul~~ acidul lactic în glucoză, ceea ce duce la o scădere a consumului de glucoză. De asemenea, gliceraldehid3-fosfat-dehidrogenaza din cadrul glicolizei necesită grupări SH necesare activității. Aceste grupări sunt oxidate în condiții de aerobioză, ceea ce contribuie încă o dată la inhibarea glicolizei. În aerobioză se formează ATP care inhibă fosfo-fructokinaza în cadrul glicolizei, în timp ce AMP și PO_4 care apar în anaerobioză activează fosfofructokinaza și, implicit glicoliza.

În cadrul catabolismului aerob, CO_2 se poate fixa în celulele animale, la acidul piruvic, formându-se acid malic, iar la celulele procariote și la cele vegetale ia naștere acidul oxaloacetic. În aerobioză acidul piruvic se va mai decarboxila oxidativ, dar ca și în cazul fixării CO_2 el va fi ars în ciclul citric.

Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic se face mai întâi prin tiaminpirofosfat (TPP), când se obține un complex de acetaldehidă - TPP, care

este oxidat de acidul lipoic. Rezultă acidul acetilipoic - TPP, apoi radicalul acetil părăsește acidul lipoic și se leagă de coenzima A (acetil-CoA) eliberându-se acidul lipoic sub forma sa redusă, care se reoxidează pe seama NAD.

Sinteza glicogenului, care are loc în hialoplasmă, se face în diferitele țesuturi pe seama glucozei sau a acidului piruvic. Glucoza pătrunde prin membrana celulară și, sub influența glucokinazei (hepatice) sau a hexokinazei de specificitate mai mică, dar răspândită în numeroase tipuri de celule, se obține glucozo-6-fosfatul, un produs care rămâne în celulă, nefiind difuzibil. De la acesta se trece la glucozo-1-fosfat și apoi la glicogen.

Pe seama acidului piruvic glicogeneza se desfășoară în sens invers glicolizei.

La început CO_2 se fixează pe acidul piruvic datorită unei enzime, luând naștere acid malic și reducându-se NADP.

Acidul malic se reduce apoi în acid oxaloacetic prin malicodehidrogenază, a cărei coenzimă este NAD. Kinaza acid-fosfoenolpiruvică și guanozintrifosfatul (GTP) transformă acidul oxaloacetic în fosfoenolpiruvic, guanozindifosfat (GDP) și CO_2

Fig 23. Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic.

Dar mai există și o altă cale directă prin care acidul piruvic se transformă în acid oxaloacetic datorită carboxikinazei piruvice, captării CO_2 și energiei ATP. Astfel, în mușchi, acțiunea acid piruvic-kinazei este reversibilă. Apoi reacțiile urmează cursul invers glicolizei până la fructozo-1-6 difosfat care, prin defosforilare cu fructozo-1-6 difosfatază, se transformă în fructozo-6-fosfat ș. a. m. d., până se ajunge la glucozo-1-fosfat care, în prezența uridintrifosfatului (UTP) și sub acțiunea unei UDPG-pirofosforilaze eliberează pirofosfatul (PP). UDPG-transfosforilaza sau glicogen-sintetaza din mușchi și grăsime, sensibilă la insulină, transferă glucoza pe un acceptor poliosidic 1-4, care se alungește.

Ramificarea lanțului are loc datorită amino- (1-4 \longrightarrow 1-6) transglucosidazei sau “enzima de ramificare”. Fixarea radicalului glucosil pe lanțul glucan se efectuează sub acțiunea glucan-glucosil-transferazei, care eliberează UDP. UDP va da UTP prin hidroliza ATP. Transferaza (denumită UDPG-transfosforilază sau glicogen-sintetază) fixează un rest fosforilat și se transformă în fosfat-transferază (Tr. P) sub influența transfer-kinazei (Tr. I), iar Tr. P (D) devine inactiv și scade glicogeneza. Insulina activează direct asupra Tr.-kinazei pe care o inhibă accelerând glicogenogeneza. Adrenalina activează adenil-ciclaza care provoacă formarea AMP ciclic și care, la rândul său, activează Tr.-kinaza încetinind glicogeneza.

Glicogenul se poate sintetiza în ficat și pe seama altor zaharuri (fructoză, galactoză). De asemenea, aminoacizii pot da în cadrul catabolismului acid oxaloacetic sau acid piruvic. În faza de întineric a fotosintezei, 6CO_2 sunt reduse într-o moleculă de fructozo-6-fosfat și mai departe stocat sub formă de amidon.

O altă cale este aceea a fosfaților pentozelor care joacă un rol important în folosirea și sinteza pentozelor, în degradarea glucozei ca și în sinteza NADPH.

Fig. 24. Glicogeneza

Fig.25. Ramificarea lanțului glucan

Fig.26. Activarea și inhibiția hormonală a glicogenogenezei.

Fig. 27. Calea pentozofosfaților.

O serie de reacții decurg pe o cale oxidativă în cadrul căreia glucozo-6-fosfatul dă CO_2 și ribulozo-5-fosfat. O altă serie de reacții urmează o cale neoxidativă. În cadrul lor fosfații pentozelor se epimerizează și se izomerizează astfel:

Apoi cele două pentoze își cedează reciproc o parte din molecula lor:

De-a lungul acestei căi neoxidative, trei molecule de fosfați ai pentozelor formează două molecule de fosfați de fructoză și un fosfat de trioză. O aldolază leagă fosfatul de trioză de un alt fosfat de trioză (provenit din alte trei molecule de fosfați ai pentozelor) și se formează un fructozo-1-6-difosfat, care sub acțiunea fructozo-difosfatazei, va da fructozo-6 fosfat și, în final, glucozo-6-fosfat. Oxidarea completă a 1 mol de glucoză produce 12 –NADPH care va fi folosit în biosinteza acizilor grași, sterolilor, și acidului fosfoenolpiruvic în cortexul suprarenalei și în țesutul adipos.

La animale, acidul ascorbic se formează pe o cale deosebită, în care intervin ca precursori acizii uronici.

5. 5. Î n t r e b ă r i

1. Hialoplasma este:

- a. citoplasma condrocitelor din cartilaje hialine
- b. componenta nestructurată a citoplasmei celulare
- c. substanța fundamentală a cartilajului hialin
- d. componenta structurată intracelulară
- e. partea celulelor compartimentată de sistemul de endomembrane

2. Citoplasma conține:

- a. ADN
- b. incluziuni ergastice
- c. hialoplasmă
- d. unul sau mai mulți nucleoli
- e. nucleoproteine

3. Miofibrilele sunt alcătuite din molecule de:

- a. tubulină
- b. dineină
- c. actină
- d. miozină
- e. calciu

4. Membrana Z a fibrilei musculare:

- a. se află în mijlocul discului întunecat
- b. se află în mijlocul discului clar
- c. solidarizează miofibrilele
- d. delimitează sarcomere
- e. este o membrană dublă a R.E.

5. În fibra musculară ionii de calciu:

- a. cuplează excitația cu contracția
- b. formează complexe de miozină-actină
- c. filamentele de miozină glisează printre cele de actină
- d. filamentele de actină glisează printre cele de miozină

6. Prin defosforilarea ATP-ului rezultă:

- a. ADP
- b. CP
- c. ADP + ioni de bicarbonat + energie
- d. ADP + P + energie
- e. ATP- aza

7. Proteine contractile sunt:

- a. mioglobina
- b. actina
- c. proteine reglatoare
- d. miozină
- e. tubulina

8. Reacțiile biochimice din hialoplasmă sunt:

- a. glicoliza
- b. glicogenogeneza
- c. fosforiloza sau glicogenoliza
- d. ciclul pentozofosfaților
- e. fermentația

9. Glicoliza este reacția de:

- a. descompunere a glicogenului
- b. sinteză a glicogenului
- c. descompunere a glucozei
- d. descompunere a glucozei în prezența oxigenului
- e. descompunere a glucozei fără oxigen

10. Care din afirmațiile următoare sunt adevărate:

- a. ciclul pentozofosforic degradează glucoza
- b. în ciclul pentozofosforic intră 6 molecule de glucoră fosfatată
- c. din ciclul pentozofosforic ies 5 molecule de glucoză
- d. în ciclul pentozofosforic au loc reacții de decarboxilări
- e. toate variantele sunt adevărate

11. Din glicoliză rezultă:

- a. acid piruvic
- b. ATP
- c. glucoză-6-P
- d. molecule macroergice
- e. oxigen

12. Citoplasma este un sistem:

- a. coloidal cu mediu de dispersie apă
- b. apos cu solvenți anorganici
- c. coloidal cu mediu de dispersie micle coloidale
- d. apos cu mediu de dispersie micle organice
- e. în stare de sol și gel