

CITOSCHELETRO E MOTILITA' CELLULARE

Il citoplasma delle cellule eucariotiche si presenta compartimentato per la presenza del sistema membranoso interno che organizza il citoplasma cellulare in spazi circoscritti con precise caratteristiche biochimiche. Non tutto il citoplasma risulta essere compreso negli spazi definiti; infatti più del 50% del volume cellulare totale occupa lo spazio compreso tra superficie citoplasmatica delle membrane ascrivibili al sistema membranoso interno e il plasmalemma. Detta porzione citoplasmatica, citosol, era interpretata come una semplice soluzione acquosa di Sali minerali e molecole organiche di varia complessità. Flammig postulò che il protoplasma fosse suddivisibile in due componenti: una rete fibrillare e una sostanza interfibrillare. Però questa teoria, con il tempo, venne accantonata. Ciò che rimane della cellula dopo estrazione con glicerolo o detergenti non ionici non coincidono perfettamente. La definizione del citoscheletro come una rete tridimensionale di filamenti che dal punto di vista strutturale e costitutivo possono essere raggruppati in 3 sistemi distinti: microfilamenti, microtubuli e filamenti intermedi risulta abbastanza riduttiva. Le strutture citoscheletriche sono implicate in funzioni di sostegno dell'architettura cellulare, ma risultano anche indispensabili per il manifestarsi di quei fenomeni che vanno sotto il nome di motilità cellulare. Microfilamenti e microtubuli sono sede del continuo ricambio delle loro subunità costituenti proponendosi come strutture altamente dinamiche. L'impalcatura cellulare, costituita dall'insieme delle strutture citoscheletriche, sembra seguire le leggi di un concetto architettonico: la tensegrity o continuità tensionale. Queste strutture devono la stabilità della propria forma all'equilibrio fra le tensioni interne e non alla compressione continua, come accade negli edifici costruiti dall'uomo.

Componente actinica del citoscheletro

I microfilamenti rappresentano la forma polimerica dell'actina globulare.

Actina monomerica

è una proteina globulare che è presente in tutte le cellule eucariotiche dove si rivela come la componente proteica maggiormente rappresentata. L'actina presente nelle cellule muscolari striate scheletriche è differente della proteina che è rinvenibile in altre linee cellulari. Le differenze strutturali fra le diverse isoforme di actina sono minime e riconducibili alla sostituzione di qualche residuo aminoacidico nella struttura primaria. Si indicano con alfa le isoforme muscolari e con beta e gamma le cosiddette citoplasmatiche. Le diverse isoforme possono prendere origine dall'attività di un egual numero di geni mutati o da modificazioni sia post-trascrizionali sia post-traduzionali di un singolo prodotto genico.

Siti di interazione: la G-actina presenta diversi siti di interazione per composti differenti. È presente un sito per l'ATP, per cui ogni monomero è legato a una molecola di ATP. Durante la polimerizzazione, l'ATP viene idrolizzato ad adenosin-difosfato che rimane legato alle subunità proteiche costituenti il polimero. L'energia derivante dall'idrolisi dell'ATP sembra non essere utilizzata durante il processo di autoassemblaggio.

Quando una subunità proteica viene rilasciata nel mezzo, l'ADP legato al polipeptide viene velocemente scambiato con l'ATP presente nel mezzo ambiente. Ciascun monomero di actina presenta un sito ad alta affinità per gli ioni metallici bivalenti; questo può essere occupato da differenti ioni metallici, ma lo ione fisiologico è il magnesio. Con l'occupazione di questo sito da parte dello ione metallico, la molecola subisce un cambiamento di configurazione spaziale, divenendo adatta alla polimerizzazione. Ogni molecola di actina presenta un numero di siti per gli ioni metallici monovalenti. Sono siti a bassa affinità, occupati da ioni potassio. Ogni molecola di actina possiede 4 siti a bassa affinità per il calcio.

Actina polimerica: i microfilamenti

La proteina si mantiene in forma monomerica (a bassa forza ionica, a un pH basico e in presenza di basse concentrazioni di calcio e ATP), mentre con l'aumento della concentrazione di ioni metallici, la G-actina tende a polimerizzare in lunghi filamenti che sono costituiti da 2 file di monomeri globulari avvolti in doppia elica.

Polarità del microfilamento: il termine polarità viene usato per indicare una differenza morfologica e/o funzionale presente ai poli opposti di una macromolecola o struttura macromolecolare. Dopo la polimerizzazione, il filamento presenta una polarità marcata e caratteristica. In un filamento di actina le due estremità mostrano una configurazione spaziale e un comportamento chimico differente. L'HMM è uno dei prodotti derivanti dalla digestione triptica della molecola di miosina e il frammento di molecola che mantiene la capacità di interagire con l'actina polimerica. Il filamento di actina presente mostra una serie di protuberanze tutte orientate con il medesimo angolo rispetto all'asse maggiore del filamento. L'attacco di subunità di actina al filamento e il relativo distacco avvengono ad ambedue i terminali. L'assemblaggio delle subunità è più rapido alla barbed end, mentre alla pointed end risulta favorito il disassemblaggio.

Assemblaggio del microfilamento: le reazioni chimiche procedono verso la formazione dei prodotti fino al raggiungimento di un equilibrio termodinamico fino a quando la velocità di formazione dei prodotti eguaglia la velocità della reazione inversa. Le reazioni vitali tendono all'equilibrio termodinamico senza raggiungerlo. La formazione della F-actina è un fenomeno descritto da una curva sigmoide. Il processo della polimerizzazione può essere seguito attraverso numerosi parametri come: l'aumento della viscosità della soluzione proteica, l'incremento della densità di fluorescenza, la variazione di densità ottica...

Fasi dell'assemblaggio: la polimerizzazione dell'actina è un fenomeno tetrafasico, che può essere suddiviso in: attivazione del monomero, nucleazione, allungamento e annealing.

Attivazione del monomero: consiste nel cambiamento subito dalla molecola proteica in seguito all'occupazione del sito ad alta affinità per gli ioni metallici bivalenti. Quando la proteina che deve polimerizzare è la calcio-actina e il magnesio deve sostituire il calcio a livello del sito specifico.

Nucleazione: alcuni monomeri di actina si autoaggregano a formare i nuclei di polimerizzazione che in seguito si allungano per apposizione di nuove subunità. La scoperta del complesso proteico ARP2/3 e delle formine ha portato ad un sostanziale cambiamento nell'interpretazione della nucleazione dei microfilamenti. Il primo, ancorandosi sul lato di un filamento nuclea la G-actina, formando un ramo collaterale con la pointed end inserita nel punto di genesi e la barbed end libera. Le formine sono in grado di nucleare filamenti con la barbed end. Il complesso ARP2/3 genera reti tridimensionali di filamenti di actina, mentre le formine tendono a generare fasci di lunghi filamenti paralleli. La proteina spire è capace di nucleare nuovi microfilamenti con un'efficienza paragonabile a quella delle formine, ma più bassa rispetto a quella del complesso ARP2/3.

Allungamento: prevede l'aggiunta di nuovi monomeri a entrambe le estremità dei nuclei di polimerizzazione. È la fase più veloce di tutto il processo. La quantità di polimero cresce esponenzialmente durante l'allungamento.

Decorso della polimerizzazione: osservando il decorso della polimerizzazione si osserva un primo tratto di curva dove la formazione di un polimero è quasi nulla. Questo periodo è chiamato fase di ritardo e comprende sia l'attivazione sia la nucleazione. Al termine di questi eventi, la curva quantità di polimero/tempo si impenna; in questo momento si formano i filamenti. Quando la fase di allungamento va scemando, comincia l'annealing. Al termine della polimerizzazione, il sistema raggiunge uno stato stazionario che è una fase di marcato dinamismo.

Proprietà dinamiche dei microfilamenti: steady-state e treadmilling: i protagonisti molecolari dello steady-state del sistema actina sono il polimero, frazionato in filamenti, e una certa quantità di monomero che non è andata incontro a polimerizzazione. La quantità di monomero viene definita concentrazione critica. Essa rappresenta la minima concentrazione di proteina necessaria per la polimerizzazione. Allo steady-state le concentrazioni sia del polimero sia del monomero non cambiano. Una certa quantità di monomeri allo stato stazionario rimane incorporata nei filamenti a livello delle barbed end, mentre le pointed end dei medesimi filamenti rilasciano nel mezzo ambiente un'eguale quantità di subunità. Si assiste quindi ad un flusso di subunità proteiche lungo i diversi filamenti. Esso è unidirezionale e procede dalla barbed end verso la pointed end. Questo fenomeno è chiamato treadmilling o mulinello. Il treadmilling dell'actina è considerato come uno dei possibili meccanismi implicati nel trasporto intracitoplasmatico di organuli e macromolecole. Ogni tipo di movimento che si svolge su tracce citoscheletriche è reso possibile dall'intervento di una delle cosiddette

proteine motore che, idrolizzando ATP, fornisce l'energia necessaria all'evento motorio. Analisi accurate hanno rivelato che, in sede cellulare, l'actina è solo parzialmente polimerizzata mentre buona parte del monomero risulta complessata con le beta-timosine. La cellula si assicura una buona riserva di monomeri per incrementare il suo patrimonio di F-actina.

Mobilizzazione dei monomeri di actina: avviene in più fasi. Le beta-timosine catturano le subunità actiniche subito dopo il loro rilascio da parte del polimero; queste subunità portano legato ADP e non ATP. Le beta-timosine passano le subunità actiniche a un'altra proteina la profilina, che possiede il compito di preparare il monomero d'actina al successivo assemblaggio facilitando lo scambio dell'ADP con l'ATP. La liberazione dell'ATP-actina della profilina può avvenire grazie all'intervento di un prodotto intermedio del ciclo dei fosfatidilinositidi localizzato a livello del plasmalemma. Un segnale esterno attiva il ciclo. Il complesso profilina/actina mostra una certa affinità per un lipide di membrana. Si formano altrettanti complessi profilina/actina/PIP2. I complessi si scindono in quando la profilina, pur mantenendo attaccata al PIP2, perde l'affinità nei confronti dell'actina, rilasciandola nel citoplasma. Essa, una volta liberata dalla profilina, inizia il processo di polimerizzazione che precede la liberazione del calcio da parte dell'IP3. Il calcio non svolge una funzione aggregante nei confronti della G-actina, mentre risulta utile nel favorire fenomeni come il cross-linking e la traslocazione dei filamenti di actina che si svolgono utilizzando la F-actina.

Proteine ancillari dell'actina

La locomozione cellulare, i cambiamenti di forma, l'organizzazione citoplasmatica e tutti gli eventi cellulare actino-dipendenti sono sostenuti dall'F-actina che è coadiuvata da un certo numero di proteine ancillari che influenzano il raggiungimento di quella tridimensionalità che è alla base dei singoli eventi cellulari actino-medianti. Queste proteine prendono il nome di actin-binding protein che possono essere suddivise in molecole che interagiscono con la G-actina e molecole che interagiscono con la F-actina.

Proteine ancillari dell'actina monomeric: a questo gruppo appartengono le profiline, le beta-timosine, la DNasi I, la vitamin D-binding protein, la depactina e l'actoforina.

Profiline: proteine a basso peso molecolare presenti in cellule non muscolari di svariata derivazione. Mostrano complessi con la G-actina, impedendone la polimerizzazione. Svolgono il ruolo di mediatrici fra le beta-timosine e i terminali in crescita del filamento di actina. Agirebbero come preparatori alla polimerizzazione nei confronti dei monomeri actinici da inviare all'assemblaggio.

Beta-timosine: legano la G-actina con un'affinità molto elevata impedendo la formazione di filamenti.

DNasi I: enzima ad attività litica nei confronti del DNA. È particolarmente abbondante nelle cellule pancreatiche e presenta un'alta affinità per la G-actina. L'affinità per il monomero è tale che, messa in presenza di filamenti, è in grado di strappare subunità al polimero, accelerandone la depolimerizzazione. Le G-actina è l'inibitore naturale della DNasi I.

Vitamin D-binding protein: presente nel plasma dei mammiferi, forma un complesso 1:1 con la G-actina e un complesso ternario con la G-actina e la DNasi I.

Depactina e actoforina: sono state isolate dagli oociti di stella di mare e dall'acanthamoeba. Interagiscono, oltre che con la G-actina, con la F-actina frammentandola.

Proteine ancillari del microfilamento: Le actin-binding che interagiscono con l'F-actina sono suddivise in base all'azione svolta sulla F-actina stessa. Proteine in grado di bloccare i terminali del filamento detto anche end-blocking protein o capping protein, proteine che formano reti e fasci di filamento e side-binding protein.

End-blocking protein: gruppo di proteine che, legandosi alle estremità dei filamenti, ne bloccano l'attività. Si distinguono in base al tipo di terminazione del filamento verso cui mostrano affinità.

Barbed end capping protein: molecole proteiche che hanno il compito di bloccare l'aggiunta di nuovi monomeri all'estremità del filamento che maggiormente ha tendenza ad allungarsi. L'attività bloccante di

queste proteine è accompagnata da un'attività di severing (taglio), calcio-dipendente, nei confronti del filamento interessato.

Pointed end capping protein: tutte le tropomoduline presentano un dominio posto all'aminotermine e un dominio al carbossiterminale della catena polipeptidica.

Cross-linking protein: Le molecole proteiche hanno il compito di promuovere e stabilizzare legami trasversali tra i filamenti di actina, dando luogo a reti tridimensionali o a fasci di filamenti. Una proteina può agire sia da cross-linking protein sia da bundling protein, in funzione della sua concentrazione rispetto all'actina; una bassa concentrazione favorisce la formazione di reti, al contrario alte concentrazioni favoriscono la formazione di fasci. Le proteine che appartengono a questo gruppo sono numerose.

Miosina: esamero formato da 3 catene pesanti e da 2 coppie di catene leggere. Proteina ubiquitaria, come l'actina. È la proteina motore del sistema actomiosinico. Il suo legame con la F-actina è temporaneo e dipende dall'idrolisi dell'ATP.

Actin-binding protein: è isolata dai macrofagi e ha un peso molecolare elevato. Forma gel con la F-actina ed è calcio-indipendente.

Flaminia: isolata da cellule muscolari lisce, è molto simile all'ABP.

Spectrina e TW240/260: La Spectrina è un dimero isolato da preparazioni di membrane di eritrociti; la TW240/260 è un dimero con subunità alfa e beta di 240 e 260 kDa.

Distrofina: presenta due subunità, ciascuna delle quali è caratterizzata da un sito di legame per la F-actina e un altro per una glicoproteina di membrana. Nella cellule muscolari concorre a connettere l'apparato contrattile alla membrana plasmatica.

Caldesmon: dimero formato da due subunità con identico peso molecolare che favorisce i legami trasversali tra filamenti di actina e la sua attività è inibita dalla calmodulina.

Fascina: tende a unire longitudinalmente tra loro i filamenti di actina.

Alfa-actinina: dimero presente delle strie Z miofibrillari, nei corpi densi delle cellule muscolari lisce e in molte cellule non muscolari. In presenza di calcio tende a riunire in reti o in fasci i filamenti di actina. La forma muscolare è calcio-indipendente.

Side binding protein: proteine che si legano alla superficie laterale del filamento, la cui funzione è quella di stabilizzare il filamento di actina, andando a legare parallelamente all'asse maggiore del filamento stesso. Esse appartengono alla famiglia delle tropomiosine; esse sono proteine filamentose la cui forma muscolare concorre alla costituzione del sistema di controllo della contrazione.

Motilità actino-mediata

Le manifestazioni motorie actino-mediate sono suddivise in due tipi: i movimenti propulsivi e i movimenti retrattivi. Al primo appartengono gli eventi motori che possono essere sostenuti dalla semplice polimerizzazione dell'actina. Al secondo, i movimenti non dipendono solamente dall'actina ma prevedono l'intervento di una proteina motore che è rappresentata da un membro della famiglia delle miosine.

Movimenti propulsivi: le fasi che riguardano l'emissione di uno pseudopodio sono state descritte da T.P. Stossel. Il formarsi e/o dissolversi dei differenti tipi di protrusioni dipendono da informazioni ambientali. Ligandi specifici per i recettori di membrana sono in grado di indurre il riarrangiamento del cortex cellulare che si espande portando alla formazione di estroflessioni di vario tipo. I primi microscopisti indicarono queste alterazioni del citoplasma corticale con il nome di trasformazioni sol-gel. Il principale costituente del citoplasma corticale è l'actina i cui filamenti, allineati perfettamente in fasci, caratterizzano sia i microvilli che i filopodi. Variazioni locali del microambiente citoplasmatico portano al decappaggio dei filamenti di actina e alla loro conseguente crescita. Il processo di polimerizzazione avviene in maniera esplosiva; le prime vengono

saltate grazie alla presenza di nuclei di polimerizzazione preformati. La crescita tridimensionale dei nuclei comporta il locale aumento di volume che è alla base dell'evento propulsivo che genera l'estroflessione citoplasmatica. La sequenza degli eventi successivi è legata al significato dell'estroflessione citoplasmatica che deve essere resa stabile. In un leucocito la semplice emissione dello pseudopodio non porta al movimento della cellula. All'evento propulsivo deve seguire una fase di retrazione attiva che potrebbe risultare inefficace se l'estroflessione citoplasmatica non si fosse ancorata al substrato tramite una formazione adesiva detta placca di adesione. Solo dopo la formazione di questa placca, la retrazione attiva dello pseudopodio si trasforma nel movimento dell'intera cellula verso il punto di contatto fra pseudopodio e substrato.

Movimenti retrattivi: il movimento ameboide si può scomporre in due fasi: 1. Di preparazione alla locomozione cellulare, portata avanti dal cambiamento di stato aggregazionale dell'actina subplasmalemmale; 2. Realmente motoria, è sostenuta da un evento retrattivo di tipo contrattile che comporta l'idrolisi dell'ATP.

Struttura della molecola e del filamento di miosina: la miosina è una proteina in una struttura quaternaria. È un esamero le cui componenti polipeptidiche possono essere raggruppate in: due catene pesanti che si avvolgono tra loro a formare un'elica lineare e divergono per assumere una configurazione globulare, e due coppie di catene leggere addossate alle teste. Tutto ciò è riferibile alla miosina muscolare che tende a formare filamenti nei quali le molecole di miosina interagiscono. Il filamento di miosina appare costituito da due metà speculari, in ognuna le molecole si associano longitudinalmente. Le code delle molecole si riuniscono a formare il corpo del filamento, mentre le teste sporgono dall'asse principale in diverse direzioni. Al centro del filamento queste molecole si affrontano coda a coda. Anche la miosina presenta diverse isoforme. Esistono miosine cosiddette citoplasmatiche che sono costituite da un'unica catena pesante e da una sola coppia di catene leggere. Esse non sono in grado di formare filamenti, nonostante mantengano la capacità di interagire con l'actina.

Eventi biochimici e morfologici del fenomeno contrattile: la contrattilità rappresenta una delle proprietà del protoplasma. Tutte le cellule sono in grado di dar luogo al fenomeno contrattile. Esso implica lo scivolamento attivo di alcune strutture filamentose rispetto ad altre che rimangono immobili. I filamenti di actina scorrono sui filamenti di miosina grazie all'attività delle teste della miosina stessa. La direzione del moto è unica ed è dettata dalla polarità del filamento di actina. Le teste di miosina muovono il filamento di actina in maniera che la sua pointed end risulti sempre rivolta verso il senso di moto. L'interazione tra actina e miosina alla base della motilità cellulare actino-mediata comporta un parallelismo fra gli eventi biochimici e i cambiamenti morfologici delle molecole interagenti. La formazione di legami trasversali tra un filamento di actina e uno di miosina è un fenomeno ciclico che si svolge attraverso una serie di reazioni (PP156). In condizioni di riposo, la testa della miosina, su cui staziona una molecola di ATP, è staccata dall'actina e forma un angolo di 45° rispetto al filamento actinico. Quando arriva il segnale di contrazione, la testa della miosina acquisisce la capacità di idrolizzare l'ATP. Avvenuta l'idrolisi, i prodotti di reazione rimangono attaccati alla testa, mentre l'energia liberata viene sfruttata, dalla testa stessa, per portarsi a 90° rispetto al filamento di actina. La testa della miosina usa l'energia che si è liberata dall'idrolisi dell'ATP per cambiare configurazione spaziale e assestarsi in una morfologia muscolare ad alto contenuto energetico (instabile). Sussistono quindi le condizioni necessarie per l'aggancio della testa della miosina al filamento di actina. Al momento dell'aggancio, i prodotti di idrolisi vengono rilasciati nel mezzo ambiente. Comporta il ritorno della testa alla primitiva configurazione. La testa essendo agganciata al filamento di actina da 90° a 45° trascina il filamento di actina nella direzione che va dalla barbed end alla pointed end. Completato il ciclo, la testa della miosina, in configurazione 45° , rimane agganciata al filamento di actina in un complesso molecolare stabile, a basso contenuto energetico, detto complesso di rigor. Per scindere il complesso e ricominciare un nuovo ciclo, è necessario l'intervento di una nuova molecola di ATP.

Regolazione del fenomeno contrattile: In un omogenato di tessuto muscolare a riposo, le concentrazioni di actina, miosina, ATP e calcio sono elevate da permettere un'interazione actomiosinica. Le cellule muscolari non sono contratte ma alternano momenti di attività motoria a periodi di riposo. Il segnale per la contrazione arriva dall'ambiente esterno alla cellula. Questo può essere di svariata natura ma la cellula risponde sempre con il rilascio di un secondo messaggero: il calcio. Lo ione calcio viene tenuto a concentrazioni bassissime nel citoplasma libero, stipato in compartimenti citoplasmatici del sistema membranoso interno per poi venire

rilasciato solo nei momenti di necessità. La disponibilità del calcio dipende dall'arrivo di un segnale. L'informazione portata dal secondo messaggero deve essere recepita da qualche componente cellulare. Nel senso che le cellule devono avere un interruttore on/off, sensibile al calcio, capace di innescare gli eventi biochimici della contrazione.

Meccanismi tipici della cellula muscolare: in una cellula muscolare striata scheletrica a riposo, il calcio viene trattenuto all'interno del reticolo endoplasmatico liscio. Il suo rilascio dipende dall'arrivo dell'impulso nervoso a livello della placca motrice. L'interruttore sensibile di ioni calcio nel citoplasma è rappresentato da un complesso proteico che è parte integrante dei filamenti di actina. È costituito da due proteine, la tropomiosina e la troponina, dalle quali solo la seconda è calcio-sensibile. La prima è una proteina filamentosa (allungata) che viene classificata come una side-binding protein del filamento di actina. Le sue molecole si autoassemblano per formare un filamento. Durante la costruzione del filamento sottile, due filamenti di tropomiosina si dispongono in prossimità dei due solchi creati dall'avvolgimento a elica delle 2 file di subunità proteiche del filamento di actina. Ogni molecola di tropomiosina è legata a una molecola di troponina. Quest'ultima è una molecola proteica, in struttura quaternaria, costituita da 3 subunità globulari. Nella cellula muscolare a riposo essa tiene il filamento di tropomiosina in una posizione tale da sovrapporlo ai siti di attacco per le teste della miosina situati sulle subunità actiniche. Con l'arrivo del segnale il calcio diffonde passivamente nel citoplasma libero. Gli ioni calcio raggiungono la concentrazione necessaria per il loro attacco alla subunità C della troponina e contemporaneamente attivano nelle teste della miosina la capacità ATPasica. Con l'arrivo del calcio, la troponina cambia configurazione spaziale, risistemandosi in seno al filamento sottile facendo perno sull'actina, spostando il filamento di tropomiosina, spingendolo in profondità nel solco tra le file delle subunità actiniche. Lascia così scoperti i siti di legame sull'actina per la testa della miosina che riusciva a schermare. Il filamento sottile diviene adatto a dare aggancio alle teste della miosina che una volta idrolizzato l'ATP e portatesi a posizione 90° sono pronte a iniziare la formazione dei ponti trasversali.

Meccanismi tipici della cellula non muscolare: in assenza di troponina, la tropomiosina deve svolgere un compito diverso. Nelle cellule non muscolari deve esistere un altro tipo di interruttore sensibile al calcio e il fenomeno contrattile è incentrato sulla miosina e non sull'actina.

Componente microtubulare del citoscheletro

Come i microfilamenti, anche i microtubuli sono costituenti delle cellule eucariotiche

Microtubuli

Sono gli elementi citoscheletrici di maggiori dimensioni, costituiti da tubulina che è una proteina globulare che tende a polimerizzare in strutture sovramolecolari. I protofilamenti si presentano come i costituenti della parete di quella struttura cilindrica detta microtubulo. L'unità costitutiva dei protofilamenti è un eterodimero. La tubulina è presente in 3 famiglie molecolari. Non entra a far parte della parete microtubulare ma favorisce la formazione dei microtubuli a livello dei centri di organizzazione microtubulare. La gamma-tubulina risulta essere un costituente dei centri di organizzazione microtubolari, non partecipando mai alla costituzione della parete del microtubulo. Le isoforme tubuliniche non corrispondono a geni strutturali ma sono frutto di modificazioni chimiche post-traduzionali quali l'acetilazione, la fosforilazione e la tirosinazione/detirosinazione. Una molecola di tipo alfa si lega a una molecola tubulinica di tipo beta, costituendo l'entità di base per la costruzione del protofilamento. Ogni singolo protofilamento è costituito da una sequenza di tubuline alfa e beta alternate tra loro. I protofilamenti e i microtubuli sono eteropolimeri e non omopolimeri.

Siti di interazione: anche le tubuline legano un nucleotide. Le alfa-tubuline legano una molecola di guanosinotri-fosfato (GTP) a livello di un sito ad altissima affinità, detto sito N. le beta-tubuline intrappolano una molecola di GTP a livello di un sito a bassa affinità, detto sito E. le tubuline posseggono un sito ad alta affinità per gli ioni metallici bivalenti (magnesio e calcio) e sembrano indifferenti all'azione degli ioni monovalenti (potassio).

Assemblaggio del microtubulo: ricalca a grandi linee quello proprio dell'actina.

Fasi dell'assemblaggio: la polimerizzazione della tubulina segue una curva sigmoide. L'assemblaggio tubulinico non è un processo termodinamico. Non è possibile riconoscere la fase definita come attivazione del monomero e che precede la nucleazione dando luogo a quel tratto della sigmoide definito fase di ritardo. La fase di annealing sembra assente o trascurabile. La formazione dei microtubuli è un fenomeno bifasico in cui sono presenti una nucleazione e una fase di allungamento del polimero. La prima è la sola responsabile della fase di ritardo perché oltre a rappresentare la fase limitante di tutto il processo di polimerizzazione, la tridimensionalità del germe da cui si sviluppa il microtubulo pone problemi costruttivi.

Allungamento: avviene con andamento esponenziale e con velocità differente ai due terminali di crescita che vengono indicati con i segni + e -. In un microtubulo si parla di plus end e di minus end. La plus end microtubulare rappresenta il terminale in cui concentra la quasi totalità dell'attività dinamica dell'intera struttura.

Nucleazione: il microtubulo non viene assemblato per assemblaggio di protofilamenti preesistenti. Il precursore del microtubulo è rappresentato da una struttura bidimensionale che si ripiega chiudendosi in un corto cilindrico cavo che continua ad accrescersi alle due estremità.

Requisiti della polimerizzazione: la polimerizzazione della tubulina è un processo dipendente da un apporto energetico esterno. Risente della temperatura. L'assemblaggio dei microtubuli dipende dalla presenza di proteine ancillari che non intervengono direttamente nel processo di polimerizzazione. L'unità costruttiva di base è di un dimeri per il microtubulo e un monomero per il microfilamento, inoltre il nucleo di polimerizzazione microtubulare è tridimensionale; e durante la polimerizzazione della tubulina viene idrolizzato GTP. L'assemblaggio della tubulina è promosso dallo ione magnesio ed è fortemente inibito dagli ioni calcio.

Veleni della tubulina: per la tubulina esistono in natura sostanze che sono in grado di influire sull'equilibrio dimeri/polimero. Vari esempi pagina 162

Proteine ancillari del microtubulo: una struttura microtubulare rappresenta il supporto cui deve legarsi un certo numero di proteine associate ai microtubuli che sono polipeptidi in grado di conferire capacità funzionali all'intera struttura. Vengono chiamate MAP quelle proteine che copurificano con la tubulina durante ripetuti cicli di polimerizzazione e depolimerizzazione. Esse possono essere divise in due famiglie: MAP ad alto peso molecolare e MAP a basso peso molecolare. Alla prima appartengono MAP 1 e MAP 2, ciascuno dei quali comprendente tre distinte isoforme. Le MAP a basso peso molecolare costituiscono una famiglia numerosa e vengono indicate con il nome di proteine tau. Tutte le MAP sono in grado di influenzare la polimerizzazione della tubulina. La loro azione si esplica minimizzando l'instabilità dinamica dei microtubuli, abbassando la velocità di rilascio degli eterodimeri dal polimero e lasciando invariata la velocità di associazione degli stessi ai terminali microtubulari.

Potenzialità dinamiche del microtubulo: steady-state e instabilità dinamica: al termine della polimerizzazione, si giunge a uno steady-state in cui una piccola quantità di dimeri rimane in equilibrio dinamico con il polimero neofornato. Le concentrazioni di dimeri e di polimero rimangono invariate. Un sistema di microtubuli una volta giunto in questo stato, va incontro a un fenomeno indicato come instabilità dinamica, che non altera le concentrazioni relative delle specie molecolari presenti. Il polimero varia di lunghezza e il numero di unità in cui esso stesso è frammentato.

Ruolo dei centri di organizzazione microtubulare: La funzionalità biologica di un microtubulo è assicurata dalla costellazione di MAP a esso connessa. Nella maggior parte delle cellule eucariotiche, alcuni microtubuli originano in speciali siti di inizio. A questi distretti citoplasmatici sono stati attribuiti nomi differenti come: siti di inizio microtubulare; siti di nucleazione microtubulare; centri microtubulari; centri di nucleazione microtubulare; centri di organizzazione microtubulare, largamente adottata per definire i siti di formazione di nuovi microtubuli. Risultano in connessione spaziale con alcuni componenti citoplasmatici. In ogni complesso microtubulare, il numero di microtubuli presenti dipende dal numero degli elementi di nucleazione presenti nel relativo MTOC. Se un singolo elemento di nucleazione può determinare il numero e la composizione dei protofilamenti afferenti a un singolo microtubulo e la quantità e il tipo di MAP caratterizzanti la funzione

microtubulare, un particolare MTOC può scegliere il tipo o i tipi di microtubuli che devono crescere dalla sua superficie. In rapporto ai MTOC è stata individuata e caratterizzata una nuova isoforma di tubulina: la gamma-tubulina. Questo polipeptide sembra implicato nella promozione dell'assemblaggio delle altre isoforme tubuliniche a livello dei MTOC. I microtubuli agiscono da organizzatori primari di tutto il citoscheletro, fornendo un traliccio temporaneo per l'organizzazione delle altre componenti filamentose citoplasmatiche, essi possono estendere la propria funzione guida tra gli elementi citoscheletrici, organizzando i tessuti oltre che le singole cellule. I MTOC assurgono il ruolo di punti generali di controllo per l'organizzazione dell'intera impalcatura fibrosa citoplasmatica.

Motilità microtubulo-mediata

Sia la motilità legata ai microfilamenti sia quella legata ai microtubuli presentano meccanismi molecolari d'azione simili. Entrambe sono attribuibili all'interazione fra una struttura polimerica polarizzata a una proteina detta proteina motore che è capace di muoversi sulla o di muovere la struttura polimerica. Esse mostrano una somiglianza strutturale, presentano le seguenti caratteristiche: sono molecole proteiche, ad alto peso molecolare, formate dall'unione di più polipeptidi differenti; presentano a una delle estremità una o più formazioni globulari dette teste che, in presenza di ioni metallici, acquisiscono la capacità di idrolizzare l'ATP, sono in grado di sfruttare l'energia liberata dall'idrolisi dell'ATP per compiere quel cambiamento conformazionale che è alla base dell'evento motorio. La proteina motore è rappresentata dalla sola miosina: non esistono altre proteine motore in rapporto con i filamenti di actina. L'interazione actomiosinica porta alla generazione di forze motrici operanti su un'unica direttrice e in un unico senso di moto.

Movimento cigliare e flagellare: il fenomeno contrattile si esprime nella cellula muscolare striata scheletrica. La motilità microtubulo-mediata raggiunge il massimo livello di resa nell'ambito della macchina microtubulare, detta assonema che genera le forze motrici che sono alla base del movimento cigliare e flagellare. Le ciglia e i flagelli sono presenti in tutti gli organismi del mondo animale; per alcuni animali marini queste rappresentano il mezzo di locomozione. (cigliati e flagellati) per mezzo di queste espansioni citoplasmatiche, questi organismi unicellulari riescono a muoversi nell'ambiente liquido. Le ciglia nei metazoi, che sono presenti sulla porzione apicale di alcune cellule epiteliali, sono in grado di rimuovere particelle e liquidi a contatto con la cellule. Le ciglia e i flagelli sono espansioni citoplasmatiche filiformi che posseggono una complessa organizzazione strutturale che rende ragione delle loro funzioni meccaniche.

Struttura delle ciglia vibratili: Le ciglia sono strutture allineate in modo regolare e parallele tra loro. Esse presentano una porzione libera, in grado di muoversi, e una porzione infissa nella cellula.

Porzione libera: detta anche tratto espanso, è rivestita da una membrana che si presenta come una continuazione della membrana plasmatica del polo apicale della cellula. Il ciglio risulta costituito da una complessa organizzazione di microtubuli rivestita dalla membrana. Nelle sezioni longitudinali, la membrana che avvolge il tratto espanso continua con la membrana plasmatica della cellula e che i tubuli continuano con un corpuscolo basale. Nella matrice delle sezioni trasversali sono immerse 9 coppie periferiche di microtubuli che circondano due microtubuli disposti al centro del ciglio. L'assonema è costituito da un insieme di tubuli rettilinei divisi in 2 gruppi: una coppia di microtubuli centrali e 9 coppie di microtubuli periferici. I due microtubuli centrali mostrano un profilo circolare in cui i due tubuli centrali sono separati da un piccolo spazio; sono circondati da una guaina e sono sistemati in modo che un piano pesante per il loro centro risulti perpendicolare alla direzione del battito delle ciglia. Le 9 coppie periferiche sono costituite da due microtubuli uniti tra loro che appaiono fusi e decorrono addossati l'uno all'altro. Una coppia è costituita da due microtubuli affiancati denominati tubulo A, o subfibra A e tubulo B o subfibra B. il primo è più vicino al centro del ciglio rispetto al tubulo B. il diametro è lievemente inferiore e porta due bracci uncinati costituiti da dineina. Il tubulo B è più largo e meno denso agli elettroni rispetto al tubulo A. i due microtubuli centrali e il tubulo A sono costituiti da regolari microtubuli centrali mediante un raggio costituito da fibre radiali e ispessite alle estremità che guarda la guaina. I tubuli A sono collegati tra loro da un filamento di nexina. I due bracci uncinati di dineina si protendono verso i tubuli B della coppia di microtubuli contigua. Il piano che passa tra i due microtubuli centrali incontra una delle coppie periferiche all'estremità opposta e attraversa lo spazio compreso fra altre due coppie microtubulari. Questo piano rappresenta il piano di vibrazione del ciglio.

Porzione infissa: del ciglio comprende la zona di transizione, il corpuscolo basale e il sistema delle radici. La piastra basale è posta tra l'assonema e il corpuscolo basale e può essere situata alla base della porzione di membrana che avvolge il ciglio. A libello della piastra basale la coppia di microtubuli centrali si interrompe, mentre le coppie di microtubuli periferici continuano con i tubuli A e B della tripletta del corpuscolo basale, che è strutturalmente identico al centriolo e risulta formato da 9 triplette di microtubuli disposte perifericamente.

Centriolo e corpuscoli basali: Il centro cellulare comprende due formazioni di importanza cardinale per l'intera economia cellulare, ovvero il centrosoma e il centriolo che mostrano morfologia e funzioni differenti. Il centro cellulare è stato visto come il principale centro di organizzazione microtubulare. I microtubuli del fuso non si generano mai dai centrioli bensì da quel materiale elettrodenso che circonda i centrioli stessi ed è assimilabile al centrosoma. Il centriolo può essere in grado di indurre l'aggregazione del materiale centrosomale e nucleare e la formazione di molteplici e diverse strutture microtubulari. Il corpuscolo basale è in grado di nucleare direttamente la formazione dei microtubuli dell'apparato assonemale. In una cellula munita di ciglia, la formazione delle strutture motorie è il frutto di molteplici fenomeni di nucleazioni, sia indiretta sia diretta. La duplice attività nucleante del centriolo potrebbe rappresentare il mezzo usato dalla cellula per controllare la posizione spaziale delle proprie formazioni microtubulari. Il corpuscolo basale presenta l'aspetto di un cilindro la cui parete è costituita da 9 triplette di microtubuli, due dei quali provengono direttamente dall'assonema. Le triplette delimitano una circonferenza. Le radici o radichette cigliari sono sottili fibre che emergono dal corpuscolo basale. Le radichette sono date dall'associazione di filamenti proteici paralleli lungo i quali si alternano zone dense a zone chiare. L'analisi di radichette striate di flagellati indica che sono organuli contrattili.

Caratteristiche cinetiche del movimento cigliare: sono distinguibili due tipi di movimento in rapporto alla natura del ciglio: un movimento pendolare e uno a flusso. Durante il movimento pendolare, il ciglio resta rigido per tutta la sua lunghezza tranne che alla base per assicurare all'intera struttura movimenti di andata e ritorno. Ogni ciclo di movimento a flusso è scomponibile in due fasi: una fase attiva o efficace e una fase di recupero o ritorno. Materiale liquido o piccole particelle bloccate dalle ciglia vengono sospinte in una direzione. Questo movimento si sviluppa in un piano che corrisponde al piano di vibrazione del ciglio. Alla fine della fase attiva il segmento più prossimale inizia il movimento di ritorno. La velocità di movimento è notevole. In molti epiteli il movimento delle ciglia è ritmato e coordinato. È possibile riconoscere un ritmo isocrono e un ritmo metacrono. I movimenti sono dipendenti dal corpuscolo basale.

Meccanismi molecolari del movimento cigliare: il meccanismo molecolare che porta alla generazione delle forze motrici è quasi del tutto sovrapponibile a quanto accade durante il fenomeno contrattile. Si tratta di strutture filamentose e dimensionalmente stabili che non vanno incontro ad accorciamento ma che scivolano le une sulle altre grazie all'azione ciclica di ponti transitori mobili la cui azione è dipendente dall'idrolisi di ATP. Nell'interazione actomiosinica, le strutture filamentose scorrono su strutture da cui sporgono formazioni globulari ad attività motoria, dotata di attività ATPasica ione-dipendente. La proteina motore che è identificabile nelle teste della miosina è riferibile alla dineina. I cambiamenti posizionali cui va incontro la testa della miosina sono condivisi dalla dineina. Essa sfrutta l'energia rilasciata dall'idrolisi del nucleotide per portarsi in una nuova configurazione spaziale. L'arrivo di una nuova molecola di ATP favorisce il distacco della dineina dal microtubulo e l'inizio di un nuovo ciclo. L'attività ATPasica della dineina non viene esaltata dal calcio, bensì dal magnesio.

Traduzione del movimento microtubulare nel moto cigliare: le coppie periferiche microtubulari slittano le une sulle altre. Il ciglio presenta un moto complesso in cui l'intera struttura si inclina, ripiegandosi. Le ciglia non si accorciano, ma cambiano inclinazione. L'architettura microtubulare viene stabilizzata grazie a una serie di ponti proteici fissi che ha il compito di spezzare la direttrice di moto, modificandola di continuo. Le coppie microtubulari prive di vincoli slitterebbero le une sulle altre con moto rettilineo e planare. Le stesse strutture, ancorate alla piastra basale, non potendo scivolare tendono a inclinarsi portando al ripiegamento del ciglio. Il parallelismo tra le diverse strutture microtubulari caratteristico dell'assonema disteso viene mantenuto anche durante la fase di ripiegamento, grazie alla presenza delle altre costrizioni che uniscono tra loro i tubuli A delle coppie periferiche e queste ultime alla guaina centrale.

Flagelli: sono simili alle ciglia, ma si distinguono per il fatto che sono unici e più lunghi. A differenza del ciglio, esso è capace di movimenti ondulatori, oscillatori o elicoidali. Essi si trovano in alcuni protozoi, in molti vertebrati e nei batteri. In questi ultimi presentano una struttura caratteristica, ciascun flagello è costituito da due a 5 filamenti singoli, il calibro del flagello dipende dal numero dei filamenti che si avvolgono a formare il fascio. Ogni filamento è costituito da 1 solo tipo di proteina, detta flagellina, i cui monomeri si dispongono l'uno dietro l'altro a formare un filamento.

Genesi di ciglia e flagelli: delle cellule eucariotiche originano dai centrioli che si trovano alla periferia della cellula. Durante la genesi di un ciglio o di un flagello, la copia di un centriolo si porta a ridosso della membrana plasmatica. Esso si addossa al plasmalemma con il terminale opposto a quello in cui è presente il materiale elettrodenso.

Traffico vescicolare: il citoplasma di una cellula viva è attraversato da corpuscoli che percorrono il corpo cellulare lungo direttrici diverse. La regolazione di questo traffico si svolge lungo rotaie che sono costituite da microtubuli, disposti in modo da definire la direttrice del moto. I corpuscoli viaggiano verso le loro sedi di utilizzo su tracce microtubulari grazie all'intervento di proteine motore. Alcuni movimenti vescicolari sono direzionati dai microfilamenti di actina e non dai microtubuli. I movimenti radiali si svolgono su tracce microtubulari, mentre quelli circolari vengono affidati a rotaie microfilamentose.

Trasporto assonico: il sistema nervoso è di tipo sinaptico. I singoli neuroni comunicano tra loro non per diretto contatto tra le membrane esterne ma tramite dispositivi anatomici specializzati, chiamati sinapsi, a livello dei quali i plasmalemmi di alcune cellule nervose si avvicinano mentre la propagazione dell'impulso è affidata al rilascio di neurotrasmettitori riconosciuti da recettori presenti sulla membrana postsinaptica. Essi sono sintetizzati a livello del corpo cellulare, mentre il loro utilizzo avviene alla periferia, all'estremità dell'assone che è lungo molti centimetri. Le vescicole viaggiano sui microtubuli che si trovano nel prolungamento citoplasmatico della cellula nervosa. In ogni cellula, i microtubuli sono orientati con la plus end rivolta verso la periferia. Le vescicole di neurotrasmettitore raggiungono la loro sede definitiva grazie all'attività di una proteina motore che è in grado di proporre un senso di moto diretto verso la plus end del microtubulo. Questa proteina è chiamata chinesina ed è in grado di spostarsi sulla parete microtubulare idrolizzando ATP. Esiste un traffico vescicolare nei due sensi di moto. Il termine assonemale si usa per definire strutture appartenenti all'assonema cigliare o flagellare; il termine assonico invece indica appartenenza all'assone (prolungamento citoplasmatico, singolo, caratteristico delle cellule nervose).

Movimento dei cromosomi durante la mitosi: i cromatidi fratelli vengono separati e raggruppati ai poli opposti della cellula grazie all'attività del fuso mitotico. La formazione del fuso è preceduta dalla duplicazione di un MTOC, da ciascuno di questi nuovi, prende origine un gruppo di microtubuli ciascuno dei quali si porta verso l'equatore cellulare. Alcuni elementi citoscheletrici si sormontano. Questa architettura microtubulare fa comprendere come il fuso mitotico sia formato da due emifusi convergenti all'equatore della cellula. L'interazione con i cromosomi permette la suddivisione dei microtubuli fusali in microtubuli cinetocorici e microtubuli interpolari. All'inizio della mitosi i KTM risultano più stabili degli IMT. Con l'inizio dell'anafase anche gli IMT raggiungono una stabilità. Con il termine di essa tutti i microtubuli fusali entrano in instabilità dinamica, tendendo al disassemblaggio. Il movimento dei cromatidi fratelli verso i poli cellulari è ascrivibile ai microtubuli del fuso. Il movimento migratorio cui vengono sottoposti i cromatidi durante l'anafase è scomponibile in 2 fasi:

1. Anafase A: si assiste alla riduzione della distanza esistente tra cinetocori e poli del fuso. Durante essa, i KTM si accorciano, questo è dovuto a perdita di subunità alla plus end dei microtubuli. Il movimento dei cromatidi lungo i KTM è mediato da sistemi motore dineino- o chinesino-simili situati a livello dei cinetocori.
2. Anafase B: si nota l'aumento della distanza interpolare. Prevede uno sliding degli IMT con allontanamento dei poli cellulari. 2 possibili meccanismi alla base di questo fenomeno motorio: 1. Presenza di proteine motore a livello dell'equatore della cellula in divisione. 2. Attribuisce l'allontanamento dei poli cellulari all'azione di proteine motore in direzione della membrana plasmatica.

Filamenti intermedi

Occupano un posto intermedio tra i microfilamenti e i microtubuli. Essi però non sono componenti universali del citoscheletro. L'insieme di questi filamenti di una cellula tipo si organizza in una rete lassa; alcune parti di essa presentano filamenti ad andamento parallelo la cui composizione chimica e funzione biologica rimangono da definire. La caratteristica principale di essi risiede nella loro stabilità chimica.

Polipeptidi dei filamenti

Le proteine che costituiscono i filamenti intermedi possono essere suddivise in numerose cinque classi. Le cheratine comprendono un gruppo numeroso di polipeptidi che in funzione delle caratteristiche chimico-fisiche e delle omologie di sequenza, possono essere raggruppati in due classi distinte. Le cheratine di tipo I, dette anche cheratine acide, comprendono molecole a punto isoelettrico e peso molecolare meno elevato. Le cheratine di tipo II, dette anche cheratine neutrobasiche, sono caratterizzate da un punto isoelettrico più alto, oltre a presentare una massa muscolare maggiore. I filamenti di cheratina sono sempre eteropolimeri per la costruzione della struttura sovramolecolare sono necessarie almeno due molecole di cheratina differenti. Il numero minimo di cheratine espresse simultaneamente nella medesima cellula è di due. In una data cellula vi sono sempre almeno una cheratina di tipo I e una di tipo II. Vimentina, desmina e proteina acida gliale formano omopolimeri. È possibile ottenere strutture polimeriche da preparazioni pure dei singoli polipeptidi. Queste molecole proteiche sono capaci di copolimerizzare, dando origine a filamenti ibridi. La componente a più basso peso molecolare dei neurofilamenti polimerizza istantaneamente, è capace di copolimerizzare con le altre componenti che non sono in grado di formare neurofilamenti. La periferina è stata rinvenuta anche in neuroni del sistema nervoso centrale e differisce dagli altri polipeptidi del citoscheletro in quanto mostra una spiccata omologia con la desmina e la vimentina. Le lamine e le tectine sono state assegnate ai filamenti intermedi; le prime sono proteine localizzate a livello della superficie interna dell'involucro nucleare dove formano un sistema polimerico insolubile detto lamina fibrosa. Esse sono strutturalmente simili alle cheratine. Le seconde, sono proteine fibrose e insolubili che sono associate ai microtubuli altamente stabili degli assonomi cigliari e flagellari. Dopo estrazione della tubulina si ottiene un residuo fibrillare, composto da filamenti che rappresentano componenti strutturali di filamenti intermedi.

Assemblaggio dei filamenti intermedi

I polipeptidi che partecipano alla costruzione di filamenti intermedi mostrano caratteristiche che lasciano intravedere una somiglianza di fondo. Ciascuna proteina che costituisce i filamenti intermedi è codificata da un gene. La struttura di questi geni è simile e anche le sequenze degli introni. Tutte le proteine dei filamenti intermedi sono di forma bastoncellare e presentano un esteso dominio centrale caratterizzato da 3 sottodomini in configurazione alfa-elica. Da ciascun capo di questo dominio prendono origine i tratti terminali che sono segmenti di catena polipeptidica diversi nelle molecole. Durante l'assemblaggio del polimero, due molecole proteiche interagiscono tramite i rispettivi domini centrali. In questo modo prende forma una configurazione spaziale detta ad alfa-eliche intrecciate. L'unità strutturale di ogni filamento intermedio è un dimero formato da due polipeptidi allineati parallelamente e in registro fra loro i cui rispettivi domini centrali interagiscono a formare una struttura ad alfa-eliche intrecciate. Durante l'assemblaggio di queste, le proteine dei filamenti intermedi possono facilmente essere ripolimerizzate dopo allontanamento dell'agente denaturante. Le fasi di assemblaggio dei filamenti intermedi successive alla formazione del dimero sono incerti, alcuni suggeriscono l'associazione antiparallela di due dimeri con formazione di un'unità tetramerica. Un filamento di cheratina si dipana in un certo numero di protofibrille, ciascuna delle quali è in grado di dar luogo a un certo numero di protofilamenti. Le unità tetrameriche tendono ad organizzarsi in protofilamenti e danno vita alle protofibrille che sono in grado di organizzarsi per formare il filamento intermedio maturo.

Steady-state e stabilità dei filamenti intermedi

Nel citoplasma le proteine dei filamenti intermedi si trovano aggregate nella loro forma polimerica, non esiste quindi un equilibrio tra monomero e polimero. Le reti endocellulari di filamenti intermedi sono molto stabili e costituiscono impalcature citoplasmatiche inerti. La cellula richiede il massimo dinamismo plastico e deve essere in grado di produrre profondi rimaneggiamenti delle sue strutture citoscheletriche. Il rimaneggiamento delle componenti microtubulare e microfilamentosa è comprensibile. Esistendo, sia per l'actina sia per le tubuline un equilibrio monomero / polimero tendono a privilegiare uno stato di aggregazione. La stabilità dei filamenti intermedi potrebbe creare qualche problema funzionale in alcuni casi come nelle cellule in mitosi, si può assistere a cambiamenti dell'assetto spaziale dei filamenti intermedi. Quando la cellula è in procinto di duplicarsi, i filamenti intermedi sembrano concentrarsi in formazioni sferoidali che si ripartiscono nelle cellule figlie e da cui viene ricreato il reticolo. Tutti i polipeptidi che partecipano alla costruzione dei filamenti intermedi vengono fosforilati da diverse chinasi. La fosforilazione enzimatica è uno dei meccanismi di regolazione dell'assemblaggio di queste formazioni filamentose. La distruzione dei filamenti che devono essere sostituiti sembra affidata a fenomeni di proteolisi.

Tessuto-specificità dei filamenti intermedi

La classificazione delle cellule in base al loro contenuto in filamenti intermedi corrisponde alla classificazione istologica: epiteli (cheratine), connettivi (vimentina), muscolatura (desmina), cellule nervose (neurofilamenti), glia (proteina acida gliare). L'espressione delle diverse proteine è correlata al grado di differenziamento della cellula. Nel caso di quelle in coltura, è caratteristica la presenza contemporanea di due tipi di filamenti intermedi. La tessuto-specificità dei filamenti è utilizzata nella diagnostica dei tumori. Allo scopo di determinare l'origine tissutale di un tumore è utile conoscere il tipo di filamenti intermedi presenti nel citoplasma delle sue cellule.

Proteine ancillari dei filamenti intermedi

Anche i filamenti intermedi vengono aiutati da proteine ancillari, denominate proteine associate ai filamenti intermedi che modificano l'architettura dei filamenti intermedi e accrescono il numero delle microtrabecole.