

SPAZIO EXTRACELLULARE, MATRICE EXTRACELLULARE E GIUNZIONI CELLULARI

Le cellule non finiscono con la membrana plasmatica ma sono circondate da **strutture extracellulari** prodotte dalle cellule stesse e che contribuiscono a determinarne le caratteristiche. Ogni cellula, sia mono che pluricellulare, necessita di interagire col proprio ambiente per poter svolgere le funzioni vitali e sopravvivere. In ogni organismo, ogni cellula si trova così esposta a centinaia di diverse molecole-segnale presenti al suo interno e al suo esterno, legato alla superficie e libere oppure attaccate all'ambiente extracellulare.

La composizione chimica e le funzioni di tali strutture sono diverse nei vari tipi di cellule

GLICOCALICE

E' una struttura di **rivestimento cellulare** attaccata alla cellula attorno alla membrana, e permette di interagire con l'ambiente circostante. Il glicocalice è costituito **da carboidrati legati covalentemente alle proteine o lipidi di membrana**, ricopre la superficie esterna dei tessuti e svolge diverse funzioni:

- 1) Media le interazioni **cellula-cellula** e **cellula-substrato**
- 2) Fornisce **protezione meccanica** alle cellule -> con la formazione della **guaina**
- 3) Funge da barriera alle particelle che raggiungono la membrana plasmatica
- 4) Lega fattori di regolazione che agiscono sulla superficie cellulare

TESSUTI

Negli organismi pluricellulari la maggior parte delle cellule sono organizzate in gruppi specifici che cooperano tra loro costituendo i **tessuti**, nei quali interagiscono tra loro e con l'ambiente cellulare. Più tessuti insieme vanno a formare gli organi.

Le attività che vengono regolate dai tessuti sono:

- *Movimento cellulare*
- *Crescita*
- *Differenziamento*
- *Organizzazione 3dimensionale*

I tessuti sono distinti in:

- **Connettivo** -> osso, cartilagine, derma, tendini
- **Epiteliale** -> vasi sanguigni e ghiandole
- **Nervoso** -> cervello e sistema nervoso
- **Muscolare** -> muscoli scheletrici e muscoli lisci

MATRICE EXTRACELLULARE

Ciascuna parte di un tessuto che non fa parte della cellula viene definito **matrice extracellulare** o **metaplasma** o **MEC**. E' una rete organizzata di **proteine e polisaccaridi** secreti dalle cellule nello spazio intercellulare, che seguono la via secretoria.

Fornisce segnali fisici e biochimici con ruolo regolatorio nel determinare la forma e l'attività della cellula ma funge anche da **deposito per diversi fattori di crescita cellulari**, che vengono rilasciati da altre cellule, arrivano nella MEC e vengono depositati affinché avvenga qualche altro stimolo li attivi. A questo punto, ad opera di **proteasi** che attivano le proteine, vengono rilasciati questi depositi e possono svolgere la loro funzione di fattori di crescita.

Come abbiamo già detto la MEC è costituita da:

- **PROTEINE FIBROSE** e **GLICOSAMMINOGLICANI (GAG)** che insieme formano i **PROTEOGLICANI**

Le **proteine fibrose** possono essere:

- **Strutturali** -> collageni ed elastina -> le prime strutturano la matrice mentre le seconde permettono l'elasticità
- **Adesive** -> fibronectina e laminina -> permettono l'adesione alla membrana cellulare e favoriscono l'interazione cellula-matrice.

N.B -> la **fibronectina** è la più importante proteina adesiva e si forma dai fibroblasti sotto forma di fibrille insolubili che si formano esclusivamente sulla superficie della cellula in corrispondenza delle molecole di adesione. Permette l'adesione **cellula-matrice**. E' formata da due catene polipeptidiche collegate tra loro all'estremità C-terminale da ponti di solfuro e contengono siti di legame specifici con collagene, integrine e eparina.

A seconda del tessuto, la MEC può essere più o meno abbondante:

- Nel tessuto epiteliale è poco abbondante e sottile -> **membrana basale o lamina basale**
- Nel tessuto connettivo è molto abbondante e diversificata

TESSUTO CONNETTIVO

E' uno di quei quattro tipi fondamentali di tessuto ed è costituito da vari tipi di tessuto che hanno in comune la funzione, quella di **collegamento, sostegno e nutrimento** dei tessuti ad esso collegati. Il **tessuto connettivo** può essere suddiviso in diversi sottotipi a seconda di dove si trova e dalle cellule che lo compongono, che **non sono adese l'un l'altra ma disperse in una sostanza più o meno abbondante** (intracellulare o extracellulare), costituita da **componente amorfa e fibrosa**. La MEC del tessuto connettivo può diventare calcificata o gelatinosa, è prodotta da cellule chiamate **fibroblasti**, ed è formata da **collagene e proteoglicani**.

COLLAGENE -> E' la proteina più abbondante dopo l'acqua all'interno del nostro organismo ed occupa circa il 6% del peso corporeo. E' la tipologia di fibre più rappresentativa nei tessuti connettivi e può diramarsi in più direzioni, ma anche avere una struttura più regolare strutturata in fasci in un'unica direzione, spessore variabile da 1 a 12 nm.

Ogni **fibra** di collagene è costituita da **fibrille** più sottili che determinano la striatura longitudinale e ogni fibrilla a sua volta è formata da **microfibrille**, che unite tra di loro a formare una **tripla elica destrorsa** chiamata **TROPOCOLLAGENE** generata dalle tre proteine diverse delle microfibrille (quindi ogni elica è formata da una proteina diversa)

Le singole catene del **tropocollagene** sono sintetizzate da precursori di maggiori dimensioni come il **pro-collagene** -> ricco in **glicina, l'aa più semplice**. Contiene residui di **idrossilina e idrossiprolina** che servono a creare **legami intra e inter-molecolari** tra le varie fibrille (legami che non si rompono mai, se succede significa che si è persa l'elasticità dei tessuti con l'avanzare dell'età e dunque l'invecchiamento dei tessuti)

Tutte le unità hanno la stessa lunghezza e ripetitività di aa in sequenze tipo **glicina-X-prolina o glicina-X-idrossiprolina** dove X è un qualsiasi altro amminoacido. I filamenti sono tenuti insieme da **legami a idrogeno**.

Nelle cisterne del RE e del Golgi, le molecole di pro-collagene vanno incontro a modificazioni co e post-traduzionali -> dopo la rimozione dei pro-peptidi, fuori dalla cellula le molecole di collagene si dispongono in file parallele a formare fibrille con un meccanismo tutt'ora non completamente noto.

TIPI DI COLLAGENE

Esistono circa **25 tipi di catene alfa** che si associano tra loro per formare la tripla elica e dunque esistono altrettanti diversi tipi di collagene, che suddividiamo essenzialmente in 3 famiglie:

- **COLLAGENI FIBRILLARI** -> sono le fibre di collagene più comune e appartengono a questa famiglia il tipo **I, II, III e V**
- **COLLAGENI ASSOCIATI A FIBRILLE** -> sono fibre di collagene che formano **sempre** dei legami tra fibrille e matrice circostante, facendo da ponte e sono di **tipo IX e XII**
- **COLLAGENI LAMINARI O RETICOLARI** -> sono fibre di collagene che non si organizzano in fasci ma in forma reticolata e sono di tipo **VIII e X**.

PROTEOGLICANI e GAG

I **proteoglicani** sono glicoproteine di grosse dimensioni costituite da un asse (core) formato da una catena polipeptidica a cui sono legati covalentemente polisaccaridi diverse, indicati come GAG.

Quindi **PROTEOGLICANI = glicosaminoglicani laterali + proteine centrali**.

I **proteoglicani conferiscono resistenza alla compressione**, mentre il **collagene conferisce resistenza alla trazione**.

Altre funzioni dei proteoglicani:

- Assicurano idratazione alla cellula
- Fungono da filtri per il passaggio delle molecole
- Legano i fattori di crescita o le proteine che agiscono da segnali extracellulari
- Regolano la migrazione delle cellule attraverso la matrice

I proteoglicani sono costituiti da numerosi GAG associati trasversalmente da una proteina che funge da catena centrale. Sono sintetizzati nell'Apparato di Golgi.

Alcuni tipi sono l'aggrecano, sindecano, versicano, neurocano, decorina e beta-glicano a seconda della localizzazione e dunque posseggono funzioni diverse.

I **GAG** sono **catene polisaccaridiche cariche** – e sono costituite da **unità DISACCARIDICHE ripetute decine di volte**, spesso da acido uronico, **legato ad un ammino-zucchero**. Possono *essere solforati e non solforati* e il glicosaminoglicano *più importante* è l'**acido ialuronico** (o ialuronano) che rappresenta anche la catena centrale dei proteoglicani. Esiste in forma libera come polimero ma è anche localizzato in numerosi tessuti fungendo come "lubrificante", facilitando la migrazione cellulare e la riparazione dei tessuti. Si forma per condensazione di migliaia di catene disaccaridiche formate da un residuo di acido glucuronico e un N-ace glucosammina.

LAMINA BASALE

La **lamina basale** è di un tipo matrice extracellulare più sottile e tipica degli epitelii:

1. Circonda le fibre nervose e cellule muscolari e adipose. Si trova
2. E' presente al di sotto della superficie basale dei tessuti epiteliali
3. Si trova al di sotto del rivestimento interno dei vasi sanguigni

Ha diverse funzioni svolte in comuni anche alla MEC

- **Strutturale**
- **Filtrazione**
- **Determina la polarità cellulare -> tipica**
- **Influenza il metabolismo cellulare**
- **Organizza le proteine in membrane cellulari adiacenti**
- **Promuove la sopravvivenza, la proliferazione e il differenziamento cellulare**

La lamina basale che si trova sotto gli epitelii forma una barriera proteica che previene il passaggio delle cellule ad esempio in condizioni patologiche durante un tumore.

Varia in composizione molecolare e struttura a seconda dei tessuti, ma i componenti principali qui sono **collagene IV e laminina**

- **Collagene 4** -> non forma fasci ma è di tipo reticolare
- **Laminina** -> ha una forma particolare a croce, è una glicoproteina extracellulare a 3 catene tenute assieme da ponti disolfuro. Presenta varie estremità lungo le braccia con vari siti di legami. È la maggior componente ed è localizzata nella regione che si trova a contatto con le cellule sovrastanti

ADESIONE CELLULARE

Il riconoscimento tra cellule è un meccanismo molto generale mediato da un sistema di interazioni resi possibili da alcune proteine di membrana. Nel caso degli organismi pluricellulari, queste adesioni sono essenziali per la formazione dei tessuti e dunque degli organi.

L'**adesione cellulare** nei tessuti può essere di due tipi:

- **ADESIONE CELLULA-CELLULA** -> le cellule aderiscono direttamente l'una con l'altra attraverso ed è mediata da queste molecole di adesione cellulare **CAM** (*proteine transmembrana*). Questo tipo di adesione può essere stabile o transitoria.
- **ADESIONE CELLULA-MATRICE** -> le cellule aderiscono indirettamente alla matrice e avviene attraverso alcuni recettori, le **integrine**, presenti nella membrana plasmatica

Questi tipi di interazione, permettono alle cellule di **aggregarsi in tessuti diversi** ma forniscono anche il **trasferimento bidirezionale tra l'esterno e l'interno**.

CAM (adesione cellula-cellula)

Le **CAM** sono **proteine transmembrana** che possono mediare interazioni:

- tra lo stesso tipo di cellula -> **adesione omotipica**
- tra cellule di tipo diverso -> **adesione eterotipica**

Inoltre, possono o meno essere raggruppate a formare le cosiddette **giunzioni cellulari**.

I loro **domini** sono rivolti verso il **citofloso** e reclutano proteine adattatrici che connettono direttamente o indirettamente le CAM con gli elementi del citoscheletro, a seconda del tipo di giunzione che viene a crearsi.

La maggior parte delle molecole di adesione appartengono a 4 famiglie proteiche, divisibili in:

- **Calcio indipendenti** -> **IgSF CAM** (immunoglobuline) e **integrine**
- **Calcio dipendenti** -> **caderine, selectine**

IgSF CAM

Sono molecole trans-membrana monopasso che fanno parte della superfamiglia delle immunoglobuline. Conferiscono numeri variabili di domini formati da residui amminoacidici che interagiscono con differenti ligandi proteici. Alcune molecole più rappresentative di questa categoria sono:

- **VCAM** -> permettono l'adesione cellulare-vascolare
- **ICAM** -> permettono l'adesione intercellulare
- **NCAM** -> permettono l'adesione cellulare neurale

INTEGRINE

Le **integrine** sono proteine transmembrana costituite da *due subunità, alfa e beta*, associate **non covalentemente** e caratterizzate da **corti domini intercellulari** e **lungi domini extracellulari**. Un'analisi delle integrine ha dimostrato che esse presentano una **conformazione attiva** e una **inattiva** e il passaggio dall'una all'altra avviene in seguito *all'interazione della subunità beta* con la *talina*. Esse infatti possono:

- **mediare le interazioni cellula-matrice vera e propria** -> all'esterno *l'integrina* interagisce con la **fibronectina** mentre all'interno con **i filamenti di actina attraverso la talina** (una proteina di ancoraggio). Il legame con la talina provoca un cambiamento conformazionale delle integrine attivando il loro legame ligando-extracellulare. Si formano le cosiddette **adesioni focali**, regioni della membrana cellulare in cui si concentrano le integrine e che creano punti di ancoraggio tra cellula-matrice, che cambiano sempre
- **mediare l'interazione cellula-lamina basale** -> all'esterno *l'integrina* interagisce con la **laminina** e all'interno con **i filamenti intermedi di cheratina**. Si formano i cosiddetti **emidesmosomi**, uno strato di cellule a contatto con la lamina basale e che rimangono sempre

Alcune integrine possono legare più di una proteina ed essa stessa può essere legata da eterodimeri diversi. Infine, i segnali esterno-interno trasmessi dalle integrine possono influenzare il differenziamento, la crescita, la mobilità e anche la sopravvivenza delle cellule.

CADERINE

Le **caderine** mediano molti legami di tipo **omofilico (cellule uguali)** quindi caderina-caderina, calcio dipendente. Sono proteine strutturali che sporgono nello spazio interstiziale delle cellule e si uniscono tra loro, mentre dal lato delle membrane sono legate con i filamenti di actina.

Il legame tra **caderine-citoscheletro** è mediato da diversi tipi di proteine molto diversificate e vanno a formare le cosiddette **giunzioni strette o tight junctions**

Esistono diversi tipi di caderine, ognuna con un dominio molto variabile che si ripete circa dalle 4 a 30 volte

SELECTINE

Le **selettine** sono un tipo di proteine che mediano le **interazioni transitorie cellula-cellula**. Legano determinate catene oligocaccaridiche (localizzate spesso all'estremità di glicolipidi e glicoproteine) nel torrente circolatorio con un **legame eterofilico**. Si dividono in **L- P- E- selettine**, con dominio diverso a seconda del tessuto in cui si trovano.

GIUNZIONI CELLULARI

Una giunzione cellulare è una specializzazione di una faccia della membrana che rende possibile e controlla i processi di adesione tra le cellule. Distinguiamo diversi tipi di giunzioni cellulari:

- 1) **Occludenti** -> chiudono gli interstizi tra le cellule negli epitelii, trasformando lo strato di cellule in una barriera impermeabile
- 2) **Comunicanti** -> formano dei canali che creano la connessione tra citoplasma e cellule adiacenti

- 3) **Aderenti o di ancoraggio** -> comprendono le adesioni cellula-cellula e cellula-matrice (*desmosomi, emidesmosomi e giunzioni focali*), trasmettono gli stessi e sono legati al citoscheletro cellulare
- 4) **Segnale** -> permettono di trasmettere segnali tra cellule dalla membrana plasmatica ai siti di contatto tra cellule

GIUNZIONI OCCLUDENTI o strette - tight junction

Sigillano gli spazi tra le cellule negli epitelii, creando una **barriera semipermeabile** alla diffusione di molecole attraverso il foglietto epiteliale. Si forma dunque questo sbarramento, impedendo alle molecole di membrana di oltrepassare gli spazi oramai sigillati e ciò mantiene la polarità della cellula.

Impediscono inoltre il passaggio dei fluidi tra le cellule, andando a formare attorno al perimetro una **cintura** continua detta **zonula** che sigilla le cellule, delimitando la zona apicale della membrana plasmatica. Sono le giunzioni più vicine agli epitelii di rivestimento e in quelli intestinali.

Le giunzioni occludenti fanno sì che le molecole che devono diffondere nei tessuti sottostanti possano farlo sfruttando soltanto meccanismi di trasporto attraverso le cellule stesse.

Le proteine integrali di membrana coinvolte nella formazione di questa cinta di blocco sono le **claudine** e le **occludine**, legate tra loro da legami non covalenti.

GIUNZIONI DI ANCORAGGIO

Tendono ad ancorare le cellule tra loro o al substrato e sono distinte in due classi:

1° classe -> giunzioni legate ai **filamenti di actina** (cellula-cellula e cellula-matrice vera e propria)

2° classe -> giunzioni legate ai **filamenti intermedi** (desmosomi e emidesmosomi)

Queste giunzioni sono particolarmente abbondanti nelle cellule epiteliali dove formano una struttura chiamata giunzione a catena.

Per formare questo tipo di giunzioni vengono utilizzate le **caderine** e le **integrine**

DESMOSOMI -> sono giunzioni che conferiscono **resistenza meccanica agli epitelii, rafforzando l'adesione cellula-cellula e garantendo all'integrità strutturale del tessuto** e in questo modo le cellule possono funzionare come un unico insieme. Sono numerosi nei tessuti che subiscono stress da stiramento. Le proteine adesive caratteristiche del desmosoma sono le **desmocoline** e le **desmogleine**, sempre glicoproteine appartenenti alla famiglia delle **caderine**.

Lo spazio extracellulare tra le due membrane è definito **core del desmosoma**, composto da un fitto intreccio di filamenti sottili e materiale granulare. Al di sotto della membrana plasmatica invece abbiamo una zona definita **placca di adesione** in cui convergono i filamenti intermedi del citoscheletro, che si legano lateralmente per poi curvare.

N.B -> **strutture che una volta che si sono formate non si staccano più**, permettendo alle cellule dei tessuti di non dissociarsi le une dalle altre a seguito di stress meccanici.

EMIDESMOSOMI -> sono molecularmente e funzionalmente diverse dai desmosomi.

Le **desmoplachine** infatti si legano principalmente ai **filamenti intermedi** e le proteine di membrana non sono caderine ma **integrine**, che mediante altre molecole-adattatore si legano con le fibre della lamina basale ancorando e incollando tessuto epiteliale-lamina basale.

N.B -> quelle apicali sono più temporanee perché si assemblano e si disassemblano in base alla necessità.

GIUNZIONI COMUNICANTI – GAP junction

Formano dei canali proteici dette **connessoni** (che sono dei veri e propri collegamenti) che appunto legano il citoplasma di due cellule adiacenti. L'apertura di questi siti avviene a seguito di determinati segnali chimici come modificazioni del PH o concentrazione di ioni calcio, permettendo il passaggio di molecole a basso peso molecolare tra le due cellule.

I connessoni sono presenti su entrambe le facce delle membrane cellulari e formano **un'unica struttura con poro centrale**; si tratta di un **anello a sei monomeri di proteine transmembrana** per faccia cellulare chiamate **CONNESSINE**, che si aprono e chiudono con un meccanismo simile a quello di un diaframma della macchina fotografica, in senso **levogiro (antiorario)**. Il loro numero è variabile da poche decine a qualche centinaio, con disposizione regolare.

Le giunzioni GAP sono fondamentali per l'accoppiamento di cellule eccitabili elettricamente, consentendo una trasmissione del potenziale d'azione più rapido rispetto alle sinapsi chimica, **dunque si ha una trasmissione più rapida del segnale elettrico**. Un esempio di GAP junction sono quelle per la contrazione muscolare.

GIUNZIONI CHE TRASMETTONO SEGNALI

Interagiscono in modo specifico tra loro in modo che i neuroni presinaptici contenenti **neurexina e neuroligina** possano creare una **sinapsi unica** tramite un accoppiamento ligando-dipendente.

