

KOMÓRKA. BŁONY KOMÓRKOWE

1

Komórka stanowi najmniejszą, zorganizowaną **jednostkę żywej materii**:

- jest zdolna do niezależnego istnienia w nieożywionej materii stanowiącej jej środowisko i może wymieniać z nim substancje,
- w razie potrzeby syntetyzuje nowe składniki ze związków pochodzących z otoczenia.

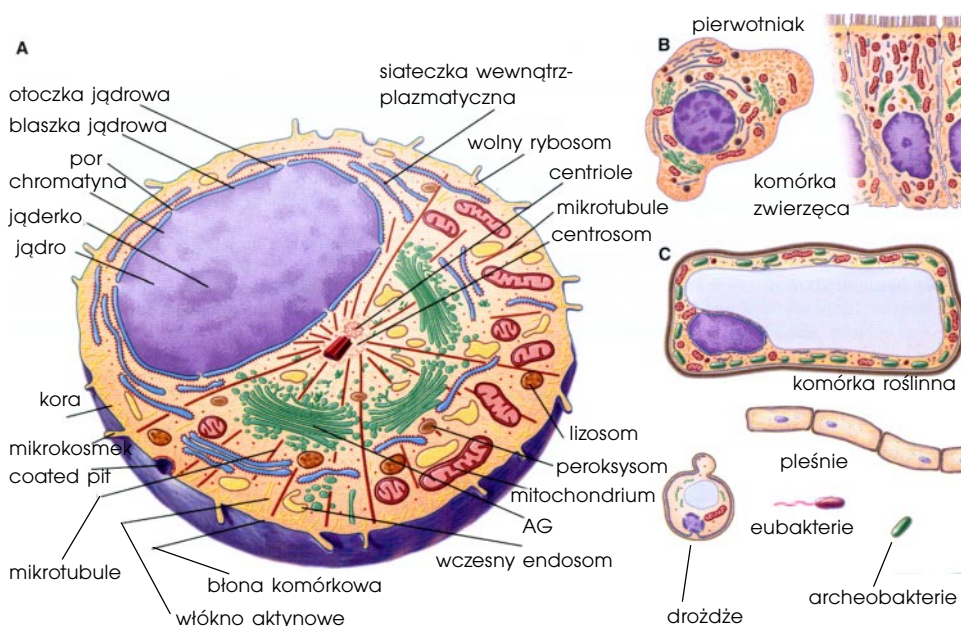
W sensie termodynamicznym jest **układem otwartym** tzn. może ona z otoczeniem wymieniać materię i energię. Natomiast w sensie cybernetycznym jest **homeostatem** ponieważ potrafi utrzymać homeostazę, czyli równowagę funkcjonalną nawet w niesprzyjających warunkach. Właściwości funkcjonalne komórki wynikają z jej struktury. Zasadniczym składnikiem każdej komórki, który zapewnia ww. cechy jest **błona komórkowa** oddzielająca wnętrze komórki – cytoplazmę od środowiska zewnętrznego. Zasadnicze składniki strukturalne pierwotnych organizmów jednokomórkowych to błona komórkowa i cytoplazma. Organizmy wyższe – wielokomórkowe, w tym ssaki, zbudowane są z komórek o bardziej skomplikowanej budowie. W przeciwieństwie do poprzednich posiadają one jądro komórkowe. Obecność lub brak jądra komórkowego decyduje o tym czy komórkę zaliczamy do prokariotycznych (brak) czy też do eukariotycznych (posiadanie jądra).

Eukariogeneza. Obecność lub brak jądra komórkowego jest zasadniczą ale nie jedyną różnicą pomiędzy komórkami *prokaryota* i *eukaryota*. Komórki prokariotyczne do których należą: bakterie pierwotne, bakterie właściwe i sinice, nie posiadają błon wewnątrzkomórkowych i mitochondriów, ich rybosomy są mniejsze (70S) a cząsteczki DNA są koliste. Mają one wysokie tempo metabolizmu oraz krótki czas życia osobników, który w znacznym stopniu uzależniony jest od warunków środowiska. Nie zostało ostatecznie ustalone, czy komórki eukariotyczne rozwinęły się (eukariogeneza) z wcześniej istniejących komórek prokariotycznych czy też ich rozwój z pierwotnych form życia (protobionty) był równoległy. Jednak przyjmuje się za bardzo prawdopodobne, że przynajmniej niektóre organella (mitochondria, chloroplasty) komórek eukariotycznych są efektem wniknięcia do nich komórek prokariotycznych, co doprowadziło do endosymbiozy. Przez to organella te można określać jako ksenosomy.

Wprawdzie zasadniczym, z punktu widzenia funkcji, składnikiem komórki jest jej błona (plazmolema), jednak inne struktury błoniaste, wewnątrzcytoplazmatyczne, odgrywają bardzo ważną rolę w funkcjonowaniu tych komórek. Obecność błon wewnątrzcytoplazmatycznych powoduje, że wnętrze komórki ulega podziałowi na przedziały – **kompartментy**. Różnią się one składem chemicznym, a przez to i przebiegiem procesów chemicznych, które w nich zachodzą. To zróżnicowanie wnętrza komórki, pozwalające

na bardziej efektywną regulację skomplikowanych procesów chemicznych możliwe jest właśnie dzięki obecności błon wewnątrzkomórkowych.

Ultrastruktura. Obserwacje czynione przy pomocy mikroskopu świetlnego (MŚ) dostarczyły dość ograniczonej ilości informacji jeśli chodzi o budowę komórek zwierzęcych, chociaż znacznie się przyczyniły do wyjaśnienia budowy tkanek i narządów. Dopiero rozwój techniki oglądania preparatów komórek w mikroskopie elektronowym (ME) pozwolił wyjaśnić budowę wewnętrzną, czyli ultrastrukturę komórek. Technika ta, oparta na oglądaniu ultracienkich skrawków w ME, wymaga wysokiej próżni, co powoduje, że przygotowanie materiału biologicznego przeprowadzane jest w specyficzny sposób. W rezultacie oglądamy struktury komórki, które uwidaczniają się dzięki osadzaniu się na nich osmu, ponieważ najczęściej do tzw. utrwalania i barwienia używa się OsO_4 . Chociaż początkowo istniały wątpliwości czy to co oglądamy w ME i na elektronogramach istnieje w żywej komórce, to później różnymi metodami m.in. techniką mrożenia-łamania (*freeze-etching*) udało się wykazać, że uzyskiwany obraz w dużym stopniu odpowiada temu co rzeczywiście istnieje *in vivo*. Oglądając elektronogramy należy pamiętać, że przedstawiają one przekrój poprzeczny przez komórkę, przez co błony widzimy jako linie, natomiast włókienka szczególnie cienkie, jako ziarenka. Tak więc np. ziarenko widoczne na elektronogramie może istotnie być obrazem ziarenka, ale także przekrojem przez włókienko.



Ryc. 1.1. Budowa komórek eukariotycznych.

Komórka eukariotyczna zawiera następujące przedziały:

1. **macierz cytoplazmy** (hialoplazma, *cytosol*)
2. **wnętrze cystern siateczki endoplazmatycznej** szorstkiej i gładkiej, wnętrze wakuoli, przestrzeń okołojądrowa (interfaza)
3. **wnętrze jądra komórkowego** (interfaza)
4. **przestrzenie mitochondrialne:** zewnętrzna (międzybłonowa) i wewnętrzna (macierz, *matrix*).

1.1. MACIERZ CYTOPLAZMY

Macierz cytoplazmy jest to faza wodna komórki. W niej zawieszone są różne podstawowe składniki: białka, tłuszcze, węglowodany, substancje drobnocząsteczkowe, jony oraz składniki cytoszkieletu. Wypełnia ona przestrzeń ograniczoną z jednej strony przez błonę komórkową (plazmolemę) a z drugiej przez błony wewnątrzcytoplazmatyczne, które to błony, tworząc ściany cystern, kanalików i wakuoli, stanowią barierę pomiędzy macierzą a przestrzenią zawartą wewnątrz tych struktur. Wyróżniamy w macierzy cytoplazmy: ektoplazmę i endoplazmę (bardziej płynna). Objętościowo stanowi ona największy składnik komórki. W MŚ i ME jest homogenna i amorficzna, a najistotniejsze informacje o jej składzie pochodzą z badań biochemicznych.

Zasadniczy organiczny składnik macierzy to białka:

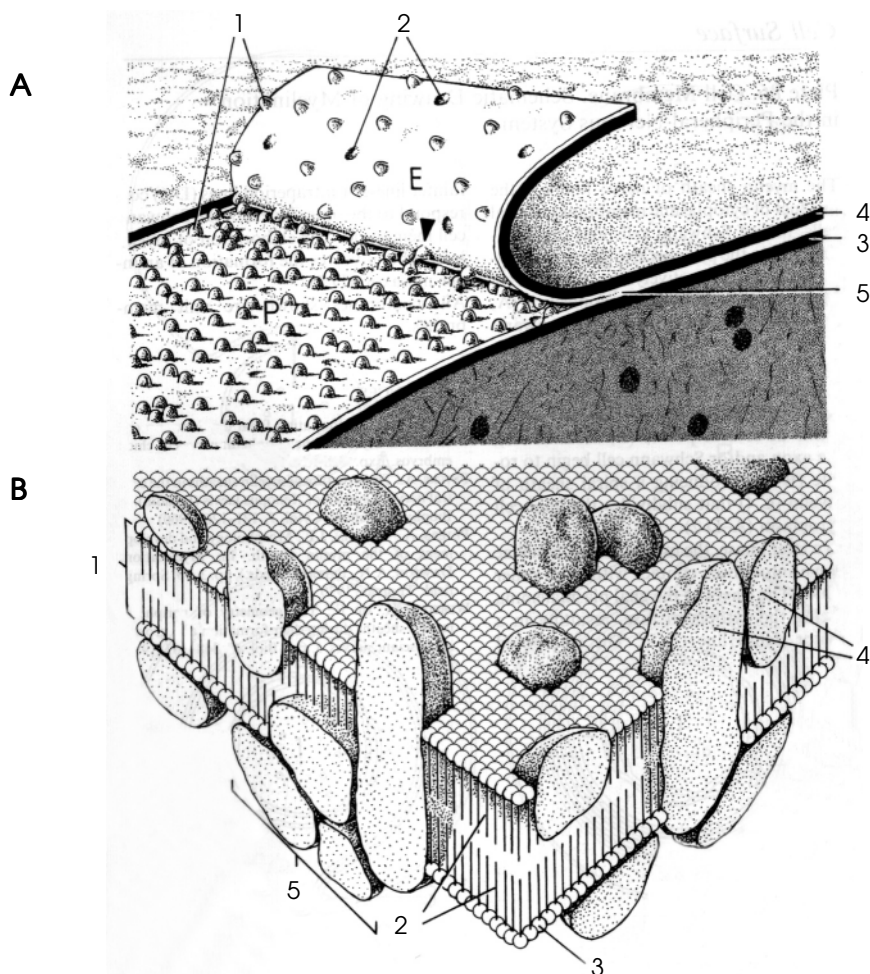
- **strukturalne**, z których powstać mogą różnego rodzaju mikrofilamenty i mikrotubule (cytoszkielet);
- **enzymatyczne** np. biorące udział w procesie glikolizy, beztlenowej przemiany węglowodanów, w wyniku której powstaje ATP.

Macierz cytoplazmy jest koloidem wielofazowym, a istotną rolę w utrzymaniu się cząsteczek w zawiesinie odgrywa ich ładunek elektryczny. Macierz cytoplazmatyczna może w sposób określony przechodzić z zolu w żel, można to wywołać czynnikami fizycznymi tj. zmiany ciśnienia, temperatury, odczynu środowiska. Jak wykazały badania, macierz cytoplazmatyczna, mimo amorficzności, jest skomplikowaną strukturalnie, na poziomie makromolekularnym, komponentą komórkową, w której przebiegają istotne procesy życiowe.

1.2. BŁONA KOMÓRKOWA

Macierz cytoplazmy od środowiska pozakomórkowego oddziela **błona komórkowa**. O istnieniu błony komórkowej, w początkowych okresach badań cytologicznych, sądzono nie tyle na podstawie obserwacji mikroskopowych (jej grubość jest poniżej zdolności rozdzielczej MŚ), ile wynikało to z badań cytofizjologicznych np. zachowania się komórki w roztworach soli o różnym stężeniu. Dopiero badania w ME z zastosowaniem utrwalania w OsO₄ potwierdziły istnienie błony komórkowej, jak i błon wewnątrzkomórkowych. Błony widoczne są na przekroju w ME, na dużych powiększeniach, w postaci dwóch ciemnych linii przedzielonych jasną, przy czym **grubość całej błony wynosi 7,5–10 nm**. Obraz taki potwierdza przyjmowaną już wcześniej strukturę wewnętrzną błony. W oparciu

o badania chemiczne i cytofizjologiczne, stwierdzono najpierw, że zasadniczym składnikiem błony są lipidy, a później, że towarzyszą im białka (ryc. 1.2). Powyższe badania potwierdziły, że zasadniczą strukturą decydującą o ciągłości błon komórkowych jest dwumolekularna błona lipidowa. **Lipidy błony** to: fosfolipidy, lipidy obojętne, glikolipidy. **Fosfolipidy mają charakter amfipatyczny**, ich cząstki mają biegun: hydrofilny – polarny, hydrofobowy – apolarny. Fosfolipidy mają naturalną zdolność do tworzenia błon. Cząsteczki lipidów w błonie



Ryc. 1.1. Błona komórkowa.

A – rysunek przedstawia obraz błony komórkowej uzyskany techniką mrożenia – rytowania (*freeze-etching*); 1 – cząsteczki białek błonowych, 2 – dołki na stronie E powstałe po odłączeniu blaszki zewnętrznej (4) od blaszki cytoplazmatycznej (3) błony komórkowej, 5 – dwuwarstwa lipidowa przez którą następuje pęknięcie błony komórkowej odsłaniające powierzchnię E i P.

B – model budowy błony komórkowej wg Singer'a i Nicolsona (1979); 1 – dwuwarstwa lipidowa, 2 – grupy hydrofobowe lipidów, 3 – grupy hydrofilowe lipidów, 4 – cząsteczki białek integralnych, 5 – cząsteczki białek powierzchniowych.

nie mogą ulegać dyfuzji bocznej, czyli przemieszczaniu w płaszczyźnie błony, natomiast przemieszczanie w poprzek błony jest znacznie utrudnione. Konsekwencją tego jest obserwowana asymetria warstw lipidowych w błonach, jeśli chodzi o skład lipidów.

Wiele informacji dotyczących błony komórkowej, a szczególnie jej białek, uzyskano badając błony erytrocytów, w postaci tzw. „cieni erytrocytów”. **Białka** nie tworzą, jak początkowo przypuszczano, ciągłej warstwy. Mogą one jedynie kontaktować się z lipidami błon – **białka powierzchniowe**, lub w mniejszym lub w większym stopniu zanurzać w lipidach błony – **białka integralne**. Przy tym mogą wiązać się z lipidami od strony zewnętrznej (ektobiałka) lub cytoplazmatycznej (endobiałka), mogą też przebiegać w poprzek błony kontaktując się z jednej strony z cytoplazmą, a z drugiej z otoczeniem komórki i określane są jako tzw. **białka poprzeczne** (ryc. 1.2B). **Białka integralne** mogą być tworzone przez jeden lub więcej łańcuchów polipeptydowych. Część łańcucha przenikająca dwuwartwą lipidową błony tworzona jest przez co najmniej 22 reszty aminokwasów hydrofobowych. Jeśli łańcuch polipeptydowy ma kilka takich sekwencji to może kilkakrotnie przenikać przez błonę. W ten sposób zbudowane są kanały oraz niektóre receptory błonowe.

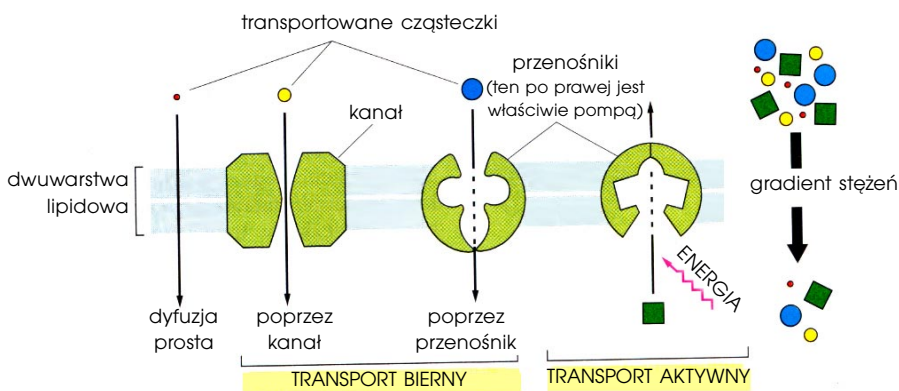
Białka mogą przemieszczać się w płaszczyźnie błon, jednak ruchy te mogą być utrudnione, szczególnie w odniesieniu do białek poprzecznych, gdyż białka te związane są zwykle z cytoszkieletem. Istnienie przemieszczania białek błonowych wykazano przez obserwacje żywych komórek, których powierzchnia została wyznakowana przy pomocy przeciwciał przeciw białkom błonowym. Obserwowano zmiany skupienia tych białek, tworzenie „plamek” i „czapeczek”.

Białka błonowe odgrywają bardzo istotną rolę w funkcjonowaniu błony a przez to i funkcji komórki. Biorą one udział w wymianie z otoczeniem komórki, poprzez transport w poprzek błony.

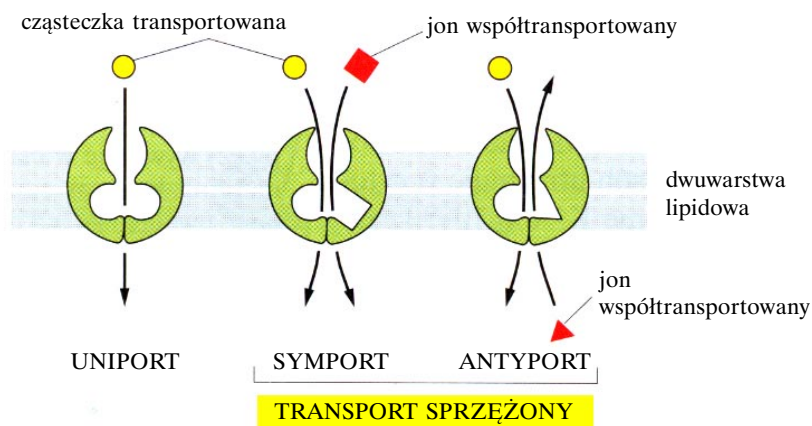
Rodzaje transportu przez błonę komórkową.

Transport:

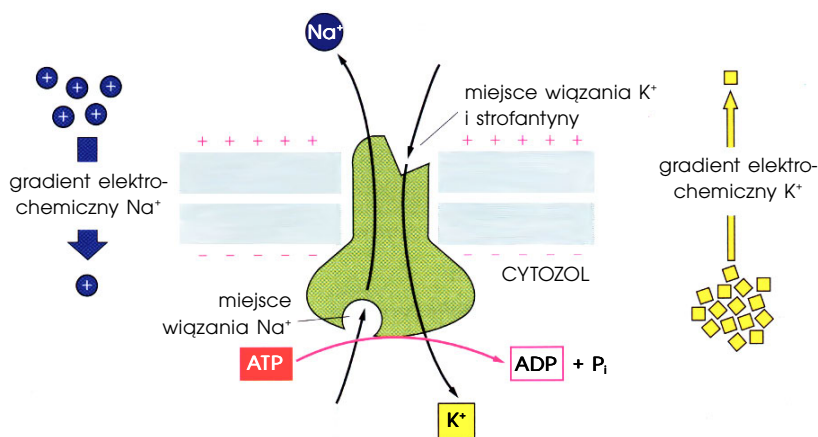
- **prosty** (dyfuzja);
- **ułatwiony** (nośnik – białko, bez wydatku energii metabolicznej) zgodnie z gradientem stężeń;
- **aktywny** (zużycie energii) wbrew gradientowi.



Ryc. 1.3. Porównanie transportu biernego i aktywnego



Ryc. 1.4. Trzy typy transportu prowadzonego przez przenośniki.

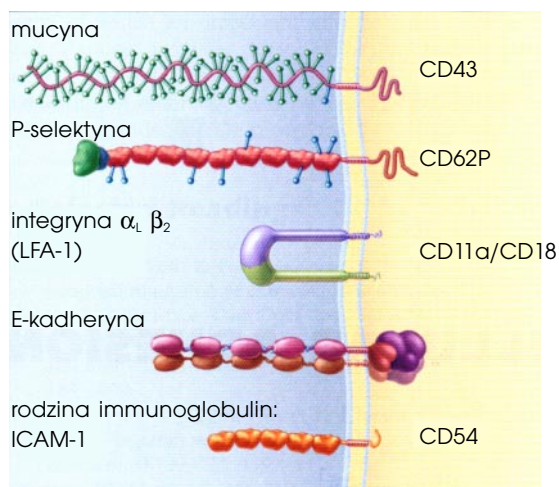
Ryc. 1.5. Pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+$.

Zasadnicze znaczenie czynnościowe ma transport aktywny. Przykładem jest tzw. **pompa sodowo-potasowa**. Rolę tej „pompy” pełni **enzymatyczne białko błonowe – ATP-aza zależna od Na^+ i K^+** , a „napędza” tę pompę energia zawarta w ATP. Transport aktywny jonów wraz z kanałami jonowymi decyduje o stężeniu jonów w cytoplazmie i bezpośrednim otoczeniu komórki – dlatego odgrywa on zasadniczą rolę w komórkowych zjawiskach bioelektrycznych.

Białka błonowe wchodzi w skład receptorów komórkowych (patrz rozdz. 3), które odbierają „sygnały” docierające do komórki ze środowiska w formie **ligandów** wiążących się z receptorami. Powstanie kompleksu „ligand–receptor” zapoczątkowuje cały szereg procesów komórkowych. Ligandami mogą być różne substancje, w tym hormony. Recep-

torowe białka błony odgrywają bardzo ważną rolę w zjawiskach immunologicznych oraz w kontaktach międzykomórkowych. Białka tworzące receptory najczęściej występują w związku z węglowodanami. Również w powiązaniu z węglowodanami białka błonowe decydują o tzw. antygenowości błony komórkowej, wyznaczają więc „swoistość” czynnościową i tkankową komórki. **Węglowodany błony** to najczęściej oligosacharydy związane kowalencyjnie z białkami (glikoproteidy) lub lipidami (glikolipidy) błony, przy czym większość białek błony jest związana z oligosacharydami, podczas gdy mniej niż 1/10 cząstek lipidów wiąże reszty cukrowe. Ponadto jeden glikoproteid może mieć kilka łańcuchów oligosacharydowych. Jak wspomniano warstwy lipidów tworzących błonę różnią się od siebie składem. Podobnie białka po stronie zewnętrznej różnią się od tych po stronie cytoplazmatycznej. Tak więc błona komórkowa jest asymetryczna, a jej asymetryczność jeszcze bardziej podkreśla obecność oligosacharydów jedynie na zewnętrznej stronie błony. Tworzą one na powierzchni komórki otoczkę nazywaną **glikokaliksem**. Oligosacharydy tworzące glikokaliks zawierają najczęściej następujące monosacharydy: galaktozę, mannozę, fruktozę, galaktozaminę, glikozaminę, glukozę i kwas sialowy, który zwykle znajduje się na końcu łańcucha oligosacharydu i przez to warunkuje ładunek ujemny powierzchni komórki.

Dla funkcji wielu rodzajów komórek zasadnicze znaczenie ma stały lub przejściowy kontakt z innymi komórkami, oraz składnikami substancji międzykomórkowej. Uczestniczą w tym obecne na powierzchni komórek cząsteczki zwane adhezyjnymi.



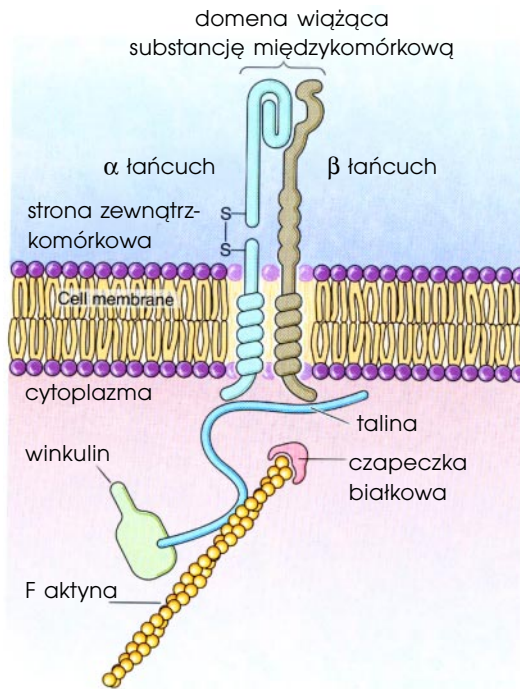
Ryc. 1.6. Budowa głównych rodzajów białek adhezyjnych.

Rodzaje cząsteczek adhezyjnych (tabela 1.1):

- kadheryny,
- integryny
- cząsteczki należące do nadrodziny immunoglobulin
- selektyny

Tabela 1.1. Cząsteczki adhezyjne

Rodzaj	Lokalizacja	Charakter chemiczny	Znaczenie czynnościowe
kadheryny L-CAM N-CAM	na powierzchni komórek nabłonkowych, nerwowych, m. sercowego	glikoproteina wiążąca Ca^{2+}	wiązanie komórek nabłonka (z. adherens), związane z procesem morfogenezy
integryny VLA LFA-1 VNR	na powierzchni leukocytów, płytek krwi, komórek śródbłonka	heterodimer – glikoproteina	wiązanie się komórek z glikoproteinami podłoża (fibronektyna, laminina), przyleganie leukocytów do powierzchni komórek śródbłonka; przechodzenie leukocyta przez ścianę naczyń; tworzenie przerzutów nowotworowych
cząsteczki należące do nadrodziny immunoglobulin ICAM	komórki nerwowe, limfocyty, komórki śródbłonka, monocyty, granulocyty	immunoglobulina, wiązanie uzależnione od obecności kationów dwuwartościowych (Ca^{2+} , Mg^{2+})	wiązanie się homotypowe i heterotypowe komórek; wiązanie wirusów z powierzchnią komórek; przechodzenie leukocytów przez ścianę naczyń
selektyny LECAM ELAM LAM-1	leukocyty, komórki śródbłonka HEV, płytki krwi	glikoproteina	recyrkulacja limfocytów: przechodzenie limfocytów przez ścianę naczyń (HEV); receptory zasiedlania na limfocytach, adresyny naczyniowe (HEV)



Ryc. 1.7. Receptor integrynowy dla substancji międzykomórkowej.

1.3. SIATECZKA ŚRÓDPLAZMATYCZNA

Siateczka śródplazmatyczna (endoplazmatyczne reticulum – ER) to system błon tworzących na terenie cytoplazmy spłaszczone cysterny i kanaliki. Błony ER oddzielają więc dwa kompartmenty (przedziały) komórkowe: macierz cytoplazmy i wnętrze ER, które to wnętrze stanowić może nawet ponad 10% objętości komórki. Na podstawie obserwacji w ME rozróżnia się:

- siateczkę śródplazmatyczną szorstką (RER) – ang. *rough endoplasmic reticulum*)
- siateczkę śródplazmatyczną gładką (SER) – ang. *smooth endoplasmic reticulum*)

Określenie „szorstka” pochodzi od widocznych w ME rybosomów na cytoplazmatycznej (od strony macierzy) powierzchni błon ER. W istocie są to zespoły rybosomów – **polisomy**, aktualnie zaangażowane w produkcję białek, które to białka jeszcze w trakcie syntezy trafiają do wnętrza cystern ER.

Wiązanie się polisomu z błoną RER odbywa się w ten sposób, że do początkowej sekwencji łańcucha polipeptydowego zwanej **sekwencją sygnałową** przyłącza się kompleks białkowo – rybonukleinowy (**SRP** – ang. *signal recognizing particle*). Związanie SRP powoduje zahamowanie wydłużania się łańcucha polipeptydowe-

go do momentu związania się tego kompleksu z receptorem na błonie RER. Obecność tego receptora zwanego **białkiem dokującym** odróżnia błony RER od innych błon ER. Błony te wyróżnia również obecność glikoprotein zwanych **ryboforyną** I i II, wiążących dużą podjednostkę. Związanie podjednostki rybosomu poprzez ryboforyny warunkuje dłuższy związek rybosomu z błoną gdyż SRP dość szybko odłącza się od białka dokującego. Sekwencja sygnałowa (hydrofobowa) wnika w błonę pociągając za sobą dalsze (hydrofilowe) części łańcucha. Następnie sekwencja sygnałowa ulega odcięciu (peptydaza sygnałowa) a wnikanie łańcucha polipeptydowego do wnętrza RER jest kontynuowane aż do zakończenia procesu translacji. W ten sposób mają być syntetyzowane białka, które zostają wydalone z komórki drogą sekrecji.

Białka przeznaczone dla macierzy cytoplazmatycznej mają być syntetyzowane przez polisomy nie związane z błonami. Tak więc obecność błon RER wskazuje, że komórka produkuje wydzielinę białkową, a szczególnie duże nagromadzenie tych błon widać w komórkach gruczołowych (wątroba, gruczoł zewnątrzwydzielniczy trzustki). Obszary cytoplazmy zawierające duże nagromadzenie błon RER nazwano **ergastoplazmą** (od greckiego słowa *ergon* – praca). O ile błony RER tworzą najczęściej spłaszczone cysterny to błony SER tworzą cewki, przy czym jedne i drugie często tworzą złożone układy przestrzenne. RER znacznie częściej występuje w komórkach niż SER, a ich funkcja w komórce jest zasadniczo różna, chociaż wszystkie błony ER (zarówno R jak i S) zawierają enzymy związane z syntezą trójglicerydów, fosfolipidów i cholesterolu, oraz enzymy (cytochrom P-450) powodujące utlenianie niektórych substratów, w tym leków. ER uczestniczy, szczególnie jako SER, w różnego rodzaju procesach detoksykacyjnych, a w warunkach nagromadzenia w organizmie substancji toksycznych może ulegać znacznemu rozbudowaniu. Na obszarze całej ER można wykazać obecność enzymu **glukoza-6-fosfa-**

Tabela 1.2. Enzymy markerowe organelli komórkowych

Organelum	Enzym
Błona komórkowa	Na ⁺ , K ⁺ -ATPaza
Błony siateczki śródplazmatycznej	glukoza-6-fosfataza
Macierz cytoplazmy	dehydrogenaza glukoza-6-fosforanowa
Zewnętrzna błona mitochondrium	oksydaza monoaminowa (MAO)
Przestrzeń międzybłonowa	kinaza adenylanowa
Wewnętrzna błona mitochondrium	oksydaza cytochromu c
Macierz mitochondrium	syntaza cytrynianowa
Lizosomy	kwaśna fosfataza
Aparat Golgiego	transferaza acetylglikozaminyłowa
Peroksisomy	oksydaza D-aminokwasowa

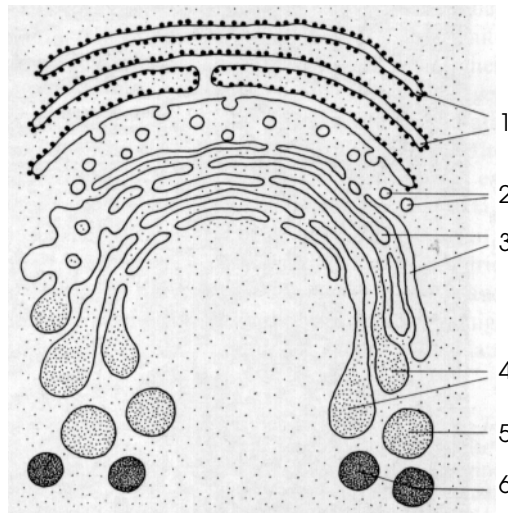
tazy, uczestniczącego w metabolizmie węglowodanów (**marker^{x)}**). W niektórych rodzajach komórek SER jest wyspecjalizowana, np. w komórkach mięśni szkieletowych specjalizacja ta dotyczy transportu i gromadzenia jonów wapnia a 80% białek enzymatycznych tej błony to ATP-aza związana z tym właśnie transportem. Natomiast w komórkach gruczołów wydzielających hormony steroidowe, rozbudowana SER zaangażowana jest w produkcję tych związków. RER i SER różnią się więc morfologicznie i czynnościowo, mają z sobą jednak ścisły związek „genetyczny” tzn. z RER powstaje SER, oraz czynnościowy, mogą one nawet wykazywać ciągłość błon i wewnętrznych przestrzeni (wątroba).

1.4. APARAT GOLGIEGO

Również z błon, określanych jako gładkie, zbudowany jest **aparat Golgiego (AG)**, którego elementem strukturalnym jest **diktiosom** (od sł. gr. *diktyon* – sieć). Złożony jest on z 5–8 spłaszczonych cystern (ryc. 1.8). Na przekroju w ME widoczny jest jako twór półksiężycowy, w którym wyróżnia się:

- po stronie wypukłej (dojądrowej) **biegun bliższy** czyli **powierzchnię formowania (cis)**
- po stronie wklęsłej, **biegun dalszy** czyli **powierzchnię dojrzewania (trans)**.

W pobliżu bieguna bliższego widać **pęcherzyki transportujące** (10–15 nm, z RER), a w pobliżu bieguna dalszego **wakuole zagęszczające** (śred. 500–3.000 nm) oraz **pęcherzyki okryte**.

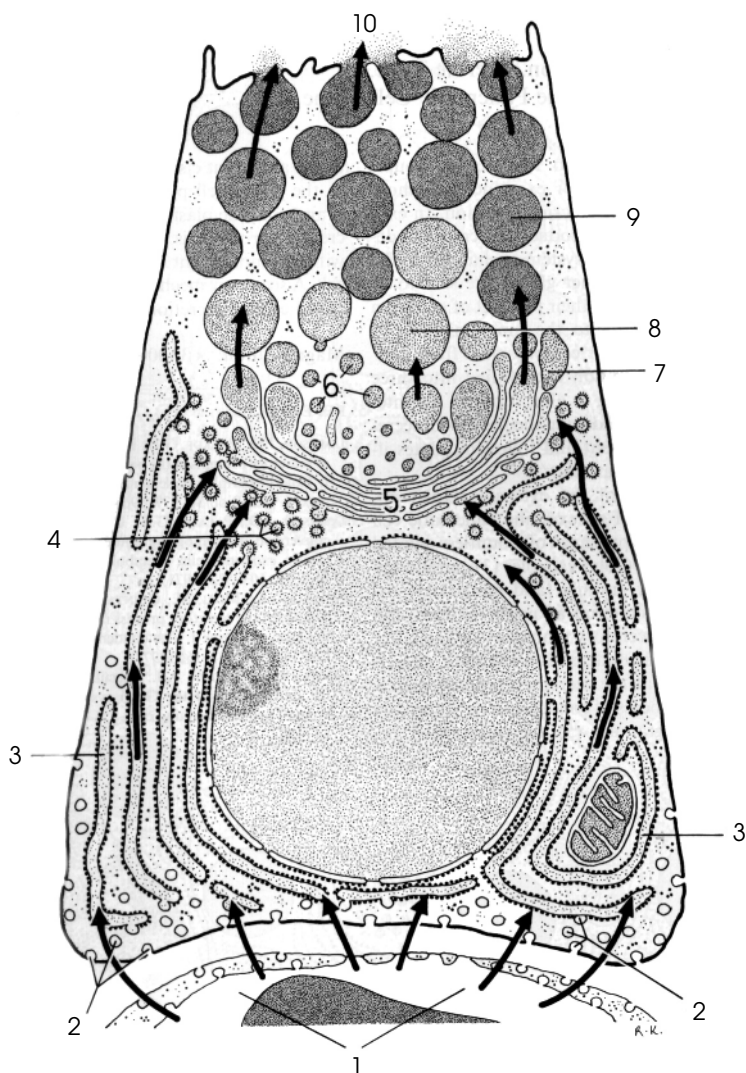


Ryc. 1.8. Aparat Golgiego.

1 – siateczka śródplazmatyczna szorstka, 2 – pęcherzyki transportujące, 3 – cysterny, 4, 5 – wakuole zagęszczające, 6 – ziarna wydzieliny.

^{x)} Markerem nazywamy taką substancję, najczęściej enzym, który jest charakterystyczny dla danej struktury, czy też funkcji komórkowej, np. markerem lizosomów jest fosfataza kwaśna.

Błony tworzące AG pod względem struktury i składu chemicznego stanowią formę pośrednią pomiędzy RER i błoną komórkową, przy czym na biegunie bliższym przypominają RER a na biegunie dalszym błonę komórkową. Podobnie aktywność enzymów związanych z błonami AG wykazuje podobne zróżnicowanie, od bieguna bliższego do dalszego (G-6-P-aza $\rightarrow$ TPP-aza $\rightarrow$ transferazy glikozylowe 5'-nukleotydaza). Obser-



Ryc. 1.9. Komórka wydzielnicza.

1 – naczynie włosowate, 2 – pęcherzyki pinocytarne, 3 – cysterna RER, 4 – pęcherzyki transportujące, 5 – aparat Golgiego, 6 – pęcherzyki wydzielnicze, 7 – wakuole wydzielnicze, 8 – pęcherzyki zagęszczające, 9 – ziarna wydzieliny, 10 – egzocytoza.

wacje te stanowiły podstawę do stwierdzenia zjawiska określanego jako **przepływ błon**, od bieguna bliższego do bieguna dalszego, szczególnie nasilonego w komórkach wydzielniczych. Zjawisko to jest na obszarze AG ściśle sprzężone z procesami przekształcania, **dojrzwania wydzieliny**, która powstała w RER (białko) a ostatecznie zostaje drogą egzocytozy wydaloną poza komórkę. Przekształcenie wydzieliny polega, mówiąc ogólnie, na dołączeniu do białek węglowodanów (transferazy glikozyłowe) oraz jej zagęszczeniu. Tak więc „dojrzała” wydzielina „opakowana” w błonę zbliżoną charakterem do błony komórkowej, zostaje wydzielona drogą egzocytozy, a błona otaczająca wydzielinę zostaje wbudowana w błonę komórkową.

1.4.1. EGZOCYTOZA

Egzocytoza to końcowy etap procesu produkcji (RER) i „dojrzwania” (AG) wydzieliny. Zachodzi ona w kilku etapach. Pierwszy to zbliżanie się wakuoli lub ziarna z wydzieliną do błony komórkowej. W procesie tym odgrywa rolę cytoszkielet i jony wapnia, konieczna jest energia (ATP). Następny etap to fuzja błony wakuoli z błoną komórkową w czym istotną rolę odgrywają również jony wapnia. Po złączeniu się obu błon (warstwy lipidowe) dochodzi niemal automatycznie, pod wpływem sił napięcia powierzchniowego, do otworzenia się wnętrza wakuoli do środowiska pozakomórkowego. Proces tworzenia się wydzieliny (w RER), jej „dojrzwania” (w AG) oraz wydzielania na zewnątrz komórki drogą egzocytozy nazywamy **sekrecją** (ryc. 1.9). Proces endocytozy i egzocytozy razem wchodzi w skład procesu **recyrkulacji błon** określanego również terminem **przepływu błon**. Błona otaczająca np. wakuolę wydzielniczą wbudowuje się w trakcie egzocytozy w błonę komórkową, aby następnie jako pęcherzyk endosomalny połączyć się z błoną organellum np. lizosomu, AG.

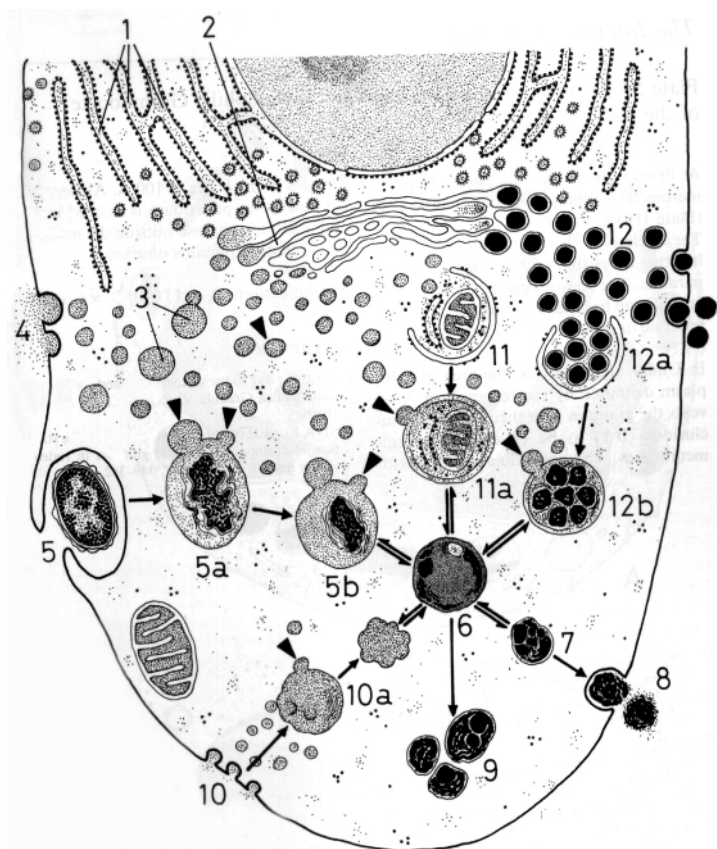
1.5. UKŁAD LIZOSOMALNY

Strukturą komórkową ściśle związaną z AG są **lizosomy**, będące zasadniczym składnikiem układu zwanego lizosomalnym (ryc. 1.10).

Związek lizosomów z AG ma charakter generatywny. AG wytwarza **lizosomy pierwotne**, przy czym enzymy zawarte w nich powstają w RER. Segregacja enzymów przeznaczonych dla lizosomów na terenie AG odbywa się poprzez ich „wyznakowanie” drogą fosforylacji reszt mannozowych oligosacharydów, które wcześniej zostały dołączone do tych białek enzymatycznych. Dokonuje się to po stronie „cis” AG, gdzie zlokalizowane są swoiste enzymy związane z procesem fosforylacji reszt mannozowych. Natomiast właściwa segregacja enzymów lizosomalnych odbywa się po stronie „trans” gdzie w błonach AG zlokalizowane są receptory dla wyznakowanych mannozo–6–fosforanem enzymów lizosomalnych i gdzie tworzone są pęcherzyki lizosomów pierwotnych.

Lizosomy to zwykle twory kuliste o średnicy około 0,5 μm , otoczone pojedynczą błoną, która obejmuje elektronowo gęsty rdzeń zawierający, jak wykazano, cały szereg enzymów hydrolitycznych (znanych jest około 40): proteazy, nukleazy, glikozydazy, lipazy, fosfolipazy, fosfatazy i sulfatazy. Wszystkie one są kwaśnymi hydrolazami, gdyż optymalna

aktywność osiągana jest przy $\text{pH} = 5$ (wewnątrz tego organellum). Niskie pH wewnątrz lizosomu osiągane jest dzięki kompleksowi enzymatycznemu określanemu jako pompa protonowa zależna od ATP, który to kompleks zlokalizowany jest w błonie lizosomu. Lizosomy wykazują dużą heterogenność pod względem wielkości i kształtu, szczególnie **lizosomy wtórne**, które w przeciwieństwie do pierwotnych zawierają nie tylko enzymy ale również substraty, na które te enzymy działają. Lizosomy wtórne powstają z lizosomów pierwotnych. Aby wyjaśnić jak do tego dochodzi, należy wyjaśnić proces **endocytozy**.



Ryc. 1.4. Układ lizosomalny komórki.

1 – cysterny RER, 2 – aparat Golgiego, 3 – lizosomy pierwotne, 4 – egzocytoza zawartości lizosomów, 5 – fagocytoza bakterii, 5a, b – fagolizosomy, 6 – lizosom wtórny, 7 – ciało reszkowe, 8 – egzocytoza zawartości ciała reszkowego, 9 – telolizosom (ziarno lipofuscynowe), 10 – pinocytoza, 10a – łączenie się lizosomów pierwotnych (►) z fagosomem utworzonym przez pęcherzyki pinocytarne, 11 – segregacja części cytoplazmy, 11a – autofagosom łączący się z lizosomem (►), 12 – pęcherzyki z wydzieliną, 12a – segregacja nadmiaru pęcherzyków wydzielniczych, 12b – lizosom wtórny trawiący wydzielinę.

1.5.1. ENDOCYTOZA

Endocytoza może zachodzić jako **endocytoza płynnej fazy (pinocytoza)**, mająca charakter nieselektywny; powstałe w jej trakcie **endosomy** łączą się z lizosomami pierwotnymi tworząc w ten sposób **lizosomy wtórne** (ryc. 1.10). **Endocytoza adsorbcyjna** ma natomiast charakter selektywny i biorą w niej udział obecne na powierzchni komórki swoiste receptory. Aby jednak kompleks substancji zaadsorbowanej i receptora mógł ulec endocytozie potrzebna jest po stronie cytoplazmatycznej błony komórkowej obecność białka **klatryny**. Jest to białko włókniste tworzące cząsteczkę mającą kształt trójdramiennej gwiazdy, cząsteczki te łącząc się ze sobą tworzą na cytoplazmatycznej powierzchni endosomu jakby siateczkę. Aby jednak klatryna mogła połączyć się w błoną komórkową potrzebna jest obecność **białek adaptorowych** wiążących cząsteczki klatryny z błoną. W ME takie endosomy widoczne są jako pęcherzyki okryte. Jak wykazano klatryna odgrywa rolę w większości procesów odpączkowania od błon pęcherzyków, tak jak np. tworzenie lizosomów pierwotnych z cystern AG. Po odpączkowaniu pęcherzyka klatryna zwykle odłącza się od niego.

1.5.2. FUNKCJA UKŁADU LIZOSOMALNEGO

Obecność enzymów hydrolitycznych w lizosomach wskazuje, że biorą one udział w procesach trawienia różnych substancji chemicznych takich jak białka, węglowodany, lipidy i kwasy nukleinowe. Są więc one w stanie strawić wszystkie składniki komórki. Gdy trawienie to zachodzi w lizosomach wtórnych powstających przez połączenie się lizosomów pierwotnych z endosomami, mówimy o tzw. **heterofagii**, trawieniu substancji pozakomórkowych. Jeśli lizosomy wtórne trawią własne składniki komórki mówimy o **auto-**



Ryc. 1.11. Proces autofagii.

fagii. Głównie celem heterofagii jak i autofagii jest usuwanie zbędnych, czy nawet szkodliwych dla organizmu substancji. W niektórych rodzajach komórek układ lizosomalny jest szczególnie rozbudowany. Należą do nich makrofagi, komórki należące do układu immunologicznego. Wprawdzie w czasie trawienia powstają proste związki chemiczne, które mogą być wykorzystywane przez komórkę, jednak celem trawienia przez układ lizosomalny w komórkach organizmów wyższych, w przeciwieństwie do pierwotniaków, nie jest odżywianie komórki. Jeśli trawione substancje zostaną całkowicie strawione, a powstałe związki proste przejdą przez błonę lizosomalną do macierzy cytoplazmy, lizosom może ponownie połączyć się z endosomem. Natomiast, jeśli trawienie nie jest kompletne dochodzi do gromadzenia się w lizosomie wtórnym niestrawionych substancji i powstaje **ciałko resztkowe**. Zawartość takiego ciała może być wydalona poza komórkę lub pozostać wewnątrzkomórkowo. Formą ciałek resztkowych są **ziarna lipofuscynowe**, których liczba wzrasta wraz z wiekiem organizmu, szczególnie w takich komórkach jak nerwowe i mięśnia sercowego. Zawartość ziaren lipofuscynowych to głównie niestrawione fragmenty błon komórkowych (nieskuteczna autofagia). Gromadzenie się niestrawionego materiału wewnątrz komórki może być też wynikiem defektów genetycznych, gdy lizosomy nie są w stanie trawić z powodu nieprawidłowych enzymów lub innych nieprawidłowości lizosomów. Dochodzi wtedy do stanów chorobowych (spichrzeniowych), spowodowanych gromadzeniem np. glikogenu (choroba de Pompe) lub sfingomieliny (choroba Nieman-Picka).

Podsumowując, **układ lizosomalny tworzą:**

I. powstałe w AG **lizosomy pierwotne**, które łącząc się z:

- endosomami
- pęcherzykami autofagalnymi
- ziarnami wydzieliny

II. tworzą **lizosomy wtórne**, zwane również wakuolami trawiennymi, które albo wchodzą w nowy cykl trawienny, albo tworzą

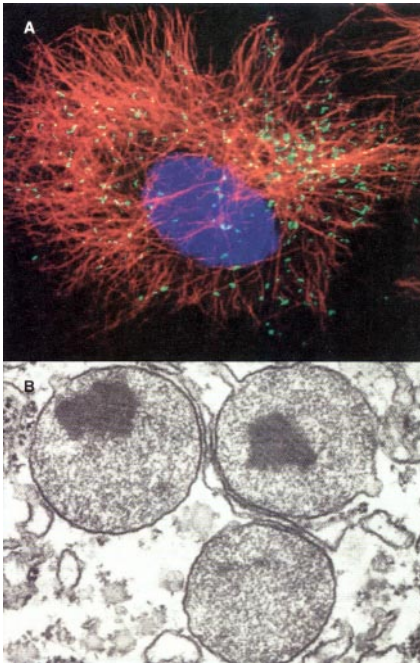
III. **ciała resztkowe**.

Pinocytoza i fagocytoza

Pinocytoza (picie komórkowe) zachodzi w większości komórek i obejmuje zarówno endocytozę płynnej fazy jak i adsorbcyjną, natomiast fagocytoza zachodzi jedynie w wyspecjalizowanych komórkach (układ fagocytów jednojądrzastych) i dotyczy dużych obiektów: bakterie, fragmenty komórek lub całe komórki. Odpowiada endocytozie adsorbcyjnej.

1.6. PEROKSYSOMY

Strukturami, które wielkością i kształtem zbliżone są do lizosomów są **peroksysomy** (mikrociałka), są one okrągłe o średnicy 0,5 μm , czasami (wątroba) do 1 μm . Charakteryzują się obecnością w nich **katalazy**, enzymu katalizującego rozpad nadtlenu wodoru na wodę i tlen, oraz **oksydaz**: moczanowej oraz D- i L-aminokwasów, a także L-alfa-



A. Zielona fluorescencja peroksyzomów wyznakowanych fluoryzującym białkiem.

B. Elektronogram peroksyzomów. Dwa zawierają kryształy oksydazy moczanowej.

Ryc. 1.12. Budowa peroksyzomów.

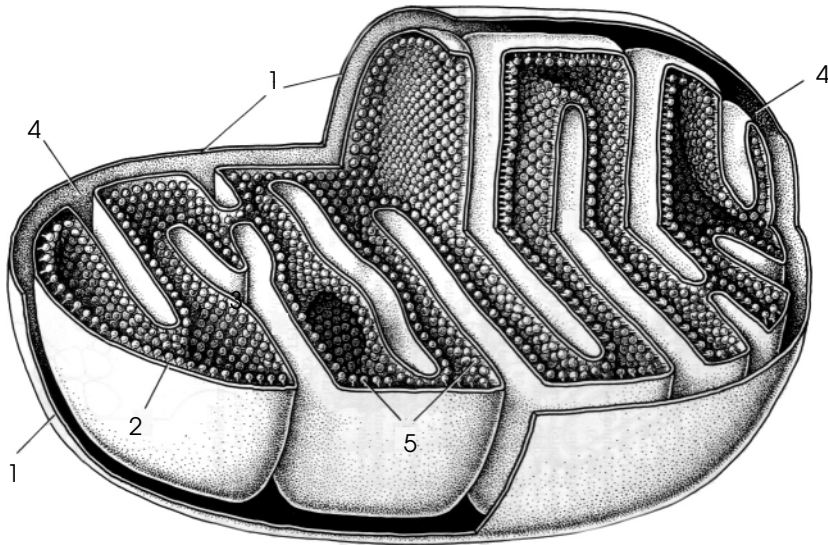
hydroksykwasów. W części centralnej mogą zawierać krystaliczny „rdzeń” tzw. **nukleoid**. Tworzone są przez ER. Peroksysomy zużywają znaczną część tlenu w komórce. Odgrywają istotną rolę w procesach detoksykacyjnych.

1.7. MITOCHONDRIA

Organelum komórkowym, które odgrywa zasadniczą rolę w komórkowych procesach utleniania są mitochondria. Stanowią one jedną z zasadniczych organelli wszystkich komórek eukariotycznych (niektóre zawierają ich szczególnie dużo, komórki wątrobowe ponad 1.000). Wprawdzie widziano je już w MŚ, ale wiedza o ich ultrastrukturze powstała w oparciu o ME. Mają one najczęściej kształt walca, mniej lub bardziej wydłużonego, o śred. 0,5–1,0 μm . Obserwacje żywych komórek w MŚ kontrastującym fazy w połączeniu z fotografią poklatkową wykazały, że mogą zmieniać kształt i przemieszczać się w komórce, oraz dzielić. Ścianę mitochondrium tworzą dwie **błony: zewnętrzną i wewnętrzną**. Pomiędzy nimi znajduje się **przestrzeń** określana jako **międzybłonowa** lub zewnętrzną (ryc. 1.13). Błona wewnętrzna obejmuje przestrzeń określaną jako wewnętrzną lub **macierz** (matrix) mitochondrialna. Błony mitochondrialne, zewnętrzną i wewnętrzną, różnią się od siebie budową, właściwościami i funkcją (tabela 1.3). **Błona zewnętrzną** zawiera dużo białek transportowych i jest jak sito przepuszczalna dla cząstek (< 5.000 daltonów). Zawiera enzym **oksydazę monoaminową (MAO)**, która jest dla niej enzymem

Tabela 1.3. Istotne składniki oraz funkcje błon i przestrzeni mitochondrialnych

Błona zewnętrzna	Przestrzeń międzybłonowa	Błona wewnętrzna	Macierz
monoaminoooksydaza (MAO) miejsca kontaktowe; receptory importu białek, poryna funkcje: – elongacja kwasów tłuszczowych, - synteza fosfolipidów – transport białek z cytosolu (miejsca kontaktowe)	kinazy nukleotydowe tj. adenilanaowa, kreatynowa	składniki łańcucha oddechowego syntetaza ATP funkcje: – generacja gradientu protonowego – fosforylacja oksydacyjna – transport kwasów tłuszczowych	kompleks dehydrogenazy pirogromianowej; cykl kwasów trójkarboksylowych; enzymy importu białek mtDNA (genom) mtRNA rybosom (70S) funkcje: – utleniania kwasów tłuszczowych – cykl moczniowy – replikacja, transkrypcja, translacja



Ryc. 1.13. Mitochondrium z grzebieniami.

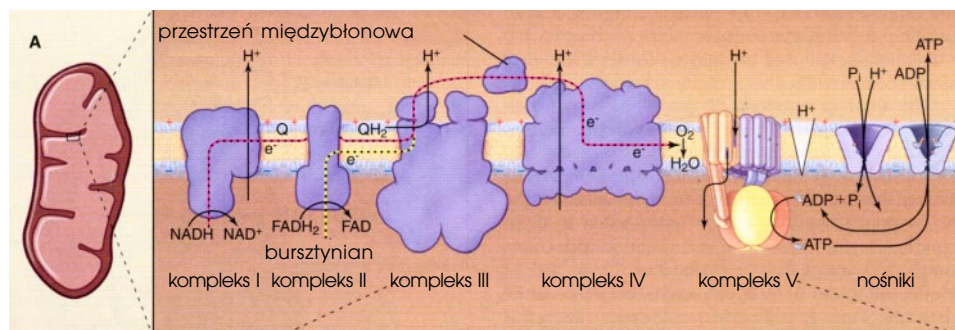
1 – błona zewnętrzna, 2 – błona wewnętrzna, 3 – grzebień, 4 – przestrzeń międzybłonowa, 5 – grzybki.

markerowym. Natomiast enzymem markerowym przestrzeni międzybłonowej jest **kinaza adenilanova**. Ze względu na znaczną przepuszczalność błony zewnętrznej dla substancji drobnocząsteczkowych, przestrzeń międzybłonowa przypomina macierz cytoplazmy (cytosol), jeśli chodzi o zawartość tych substancji. Oddziela ją od macierzy mitochondrialnej **błona wewnętrzna**, która różni się znacznie przepuszczalnością od błony zewnętrznej. Błona wewnętrzna jest nieprzepuszczalna dla większości cząstek hydrofilnych, przechodzenie ich przez błonę wymaga specjalnych nośników i kanałów. Przechodzą przez nią swobodnie gazy O_2 , CO_2 , NH_3 , natomiast jest nieprzepuszczalna dla K , Na , Cl , glukozy, różnych nukleotydów. Jednak mogą wnikać do macierzy mitochondrialnej, w sposób selektywny, także większe cząsteczki np. białka, RNA i lipidy. Uważa się, że jest to możliwe dzięki istnieniu tzw. **miejsc kontaktowych**. Są to miejsca kontaktu błony zewnętrznej i wewnętrznej, w których zlokalizowane są kompleksy enzymatyczne przyjmujące postać kanałów błonowych. Wśród białek tworzących te kompleksy jest **poryna**. Miejsca kontaktowe obserwować można w ME. Zajmują one 7–15% powierzchni błony zewnętrznej i są strukturalnie stabilne, bowiem ich ilość (100–1500 na mitochondrium) nie zmienia się mimo zmian stanu energetycznego mitochondrium.

Białka towarzyszące (chaperony). Wnikanie białek do wnętrza mitochondriów, mimo istnienia kanałów błonowych w miejscach kontaktowych byłoby bardzo utrudnione lub nawet niemożliwe bez udziału w tym procesie białek zwanych towarzyszącymi. Rola tych białek polega na tym, że wiążąc się z łańcuchem polipeptydowym białka wpływają na jego konformację. W tym wypadku białko Hsp70

powoduje rozciągnięcie się łańcucha polipeptydowego a przez to zmniejszenie średnicy cząsteczki białka co ułatwia jego przejście przez kanał błonowy. Natomiast białko Hsp60, już w macierzy, powoduje przyjęcie przez polipeptyd właściwej dla niego konformacji. Białka towarzyszące odgrywają istotną rolę w wielu procesach komórkowych m.in. w transporcie białek przez pory otoczki jądrowej (patrz niżej).

Błona wewnętrzna, w przeciwieństwie do zewnętrznej może tworzyć fałdy w formie poprzecznych przegród, co daje na przekroju obraz zbliżony do **grzebienia**, przegród podłużnych oraz cewek. Te ostatnie spotyka się w komórkach syntetyzujących sterydy. W błonie wewnętrznej zawarte są enzymy „łańcucha oddechowego”, złożonego systemu enzymatycznego przenoszącego elektrony, który wrażliwy jest na działanie różnych inhibitorów takich jak cyjanki, amytal, rotenon. Energia wyzwolana podczas przenoszenia elektronów z substratów na tlen, przez sprzężenie tego procesu z procesem nazywanym **fosforylacją oksydacyjną** magazynowana jest w postaci wiązań wysokoenergetycznych ATP. Wykazano, że proces fosforylacji oksydacyjnej związany jest ze strukturami, które w postaci „grzybków” związane są, od strony matrix, z błoną wewnętrzną. Mają one średnicę ok 9 nm i można je uwidocznic po rozfragmentowaniu błony wewnętrznej i barwieniu negatywowym.



Ryc. 1.14. Przebieg procesu fosforylacji oksydacyjnej.

Biochemicy wyróżniają pięć tzw. stanów energetycznych mitochondriów. Na **stan energetyczny mitochondrium** ma wpływ stężenie:

- substratu (podlegającego utlenieniu)
- ADP (z którego tworzony jest ATP)
- O_2

Natomiast morfologicznie wyróżnia się dwie formy mitochondriów – **skondensowaną**, którą przybiera mitochondrium w III stanie energetycznym (wysokie stężenie: substratu, ADP i O_2), oraz **ortodoksyjną** reprezentującą pozostałe stany energetyczne.

Forma skondensowana mitochondrium charakteryzuje się: poszerzoną przestrzenią międzybłonową, silnie pofałdowaną błoną wewnętrzną oraz zagęszczoną macierzą.

Forma ortodoksyjna: wąska przestrzeń międzybłonowa i elektronoworządka macierz. Jest to forma najczęściej oglądana na elektronogramach.

Jak wspomniano, proces przenoszenia elektronów w łańcuchu oddechowym, w którym wyzwala się energia, jest sprzężony z fosforylacją ADP (fosforylacja oksydacyjna) co umożliwia magazynowanie energii (w ATP). Mechanizm tego sprzężenia tłumaczy przyjęta obecnie **teoria chemiosmotyczna** zaproponowana przez Mitchell'a. Zakłada ona, że sprzężenie tych procesów zachodzi przez wytworzenie stanu wysokoenergetycznego w błonie mitochondrialnej. Podstawą tego stanu jest gradient elektrochemiczny istniejący w poprzek błony wewnętrznej. Powstaje on przez jednokierunkowe, czynne przemieszczanie protonów z matrix na zewnątrz przy udziale „pompy protonowej”, która czerpie energię z transportu elektronów. Energia zmagazynowana w postaci gradientu protonów może być wykorzystana do syntezy ATP z ADP i fosforanu przy udziale **kompleksu syntazy ATP**. Kompleks ten, mający strukturalną postać „grzybków” związanych z błoną wewnętrzną, składa się z **dwóch segmentów: kanałowego F_0 i katalitycznego F_1** . Segment kanałowy (F_0) zbudowany jest kilku podjednostek umieszczonych w poprzek błony wewnętrznej, pełniących rolę kanału dla protonów. Przechodzenie protonów przez kanał, zgodnie z gradientem stężeń, z przestrzeni międzybłonowej do macierzy mitochondrialnej umożliwia przekazywanie energii, zawartej w tym gradnicie, potrzebnej dla syntezy ATP. Synteza ta zachodzi z udziałem segmentu katalitycznego (F_1). Segment ten nazywany jest także czynnikiem sprzęgającym gdyż sprzęga on funkcję łańcucha oddechowego z procesem syntezy ATP.

Macierz (matrix) mitochondrialna zawiera enzymy cyklu kwasów trójkarboksylowych (Krebsa), enzymy czynne w procesie beta-oksydacji kwasów tłuszczowych oraz enzymy biorące udział w syntezie białek i kwasów nukleinowych. Synteza białek i kwasów nukleinowych może zachodzić wewnątrz matrix ponieważ znajduje się tam zarówno DNA jak i rybosomy. DNA (jedyna lokalizacja poza jądrem w komórkach zwierzęcych) występuje w postaci cząsteczek kolistych, co przypomina DNA u prokariota (bakterie), a rybosomy także przypominają te u prokariota, różnią się więc od tych, które są w macierzy cytoplazmy. Dlatego też określa się mitochondria jako ksenosomy, co ma wskazywać na ich pochodzenie. Uważa się bowiem iż w trakcie eukariogenezy, jako komórki prokaryotyczne wniknęły one do cytoplazmy pierwotnych komórek eukariotycznych i weszły z nimi w endosymbiozę. Zarówno DNA jak i rybosomy mitochondrialne biorą udział w syntezie białek tworzących mitochondria, jednak większość białek tego organellum jest tworzona w oparciu o DNA jądra i rybosomy cytoplazmy. Nowe mitochondria powstają przez podział już istniejących, co obserwowano w żywych komórkach. Prawdopodobnie przy tworzeniu błony zewnętrznej biorą udział błony ER.

Genom mitochondrialny tworzą dwuniciowe, koliste cząsteczki DNA, zwykle kilka w pojedynczym mitochondrium. Cząsteczka DNA mitochondrialnego ma około 16.500 par zasad. Jest więc bardzo mała w porównaniu z cząsteczkami jądrowego DNA. Zawiera niewiele genów, jednak 13 genów kodujących podjednostki łańcucha oddechowego i syntazy ATP ma zasadnicze znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania tego organellum. Mutacje genów mitochondrialnych kodujących te właśnie podjednostki, szczególnie w komórkach tkanek o dużym metabolizmie tlenowym (układ nerwowy, mięśnie poprzecznie prążkowane) mogą

prowadzić do ciężkich schorzeń, nazywanych degeneracyjnymi chorobami mitochondrialnymi. Schorzenie nazywane chorobą Lebera a objawiające się ślepotą jest efektem mutacji punktowej w genie kodującym podjednostkę w kompleksie I łańcucha oddechowego.